

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ОБЩЕЙ ХИМИИ
КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ

Сборник материалов Международной научной конференции,
посвященной 80-летию со дня рождения
профессора Е. В. Барковского

(Минск, 22 мая 2026 года)



Под редакцией Н. Н. Ковганко, А. Д. Тагановича



Минск БГМУ 2026

ISBN 978-985-21-2255-9

Об издании — [1](#), [2](#), [3](#)

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2026

УДК 61:577.1(06)
ББК 28.072
С23

Редакционная коллегия: канд. хим. наук, доц., зав. каф. общей химии Н. Н. Ковганко; д-р мед. наук, проф., зав. каф. биологической химии А. Д. Таганович

Рецензенты: д-р мед. наук, проф. А. Д. Таганович; канд. хим. наук, доц. Н. Н. Ковганко; канд. хим. наук, доц. Т. В. Латушко, канд. мед. наук, доц. Ж. А. Рутковская

Современные проблемы медицинской химии : сборник материалов Международной научной конференции, посвященной 80-летию со дня рождения профессора Е. В. Барковского, Республика Беларусь, г. Минск, 22 мая 2026 г. / под ред. Н. Н. Ковганко, А. Д. Тагановича. – Минск : БГМУ, 2026. – 332 с. ; 1 файл (7,37 Мбайт). – Режим доступа: свободный.

ISBN 978-985-21-2255-9.

Представленные результаты исследований относятся к области медицинской химии. Предназначен для широкого круга научных работников.

Ответственность за содержание публикаций и допущенные ошибки несут авторы.

Издание реализовано в программной оболочке Adobe Acrobat и оснащено интерактивным оглавлением. Минимальные системные требования: электронная версия приложения Adobe Acrobat Reader (формат PDF), наличие сетевого доступа (интернет-браузер Google Chrome, Mozilla Firefox и др.).

УДК 61:577.1(06)
ББК 28.072

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2026

СОДЕРЖАНИЕ

Профессор Евгений Викторович Барковский — педагог, ученый, человек <i>Романовский И.В.</i>	8
Структурированная история кафедры общей химии <i>Бубенько Т.А., Петрушенко Л.Г., Ковганко Н.Н.</i>	11
Оценка состояния клеток гепатопанкреаса под влиянием факторов среды с помощью многофакторного анализа <i>Балаева-Тихомирова О.М., Чиркин А.А.</i>	17
Ородиспергируемые пленки как новая форма трансмукозальной доставки биологически активных ингредиентов с реализацией синергии синтетических и растительных компонентов <i>Безносик Т.В., Гринишпан Д.Д., Савицкая Т.А., Кимленко И.М.</i>	24
Содержание фтора в стенках и дне кариозных полостей при применении фторида диамминсеребра <i>Бутвиловский А.В., Терехова Т.Н.</i>	31
Роль профессора Е.В. Барковского в создании факультативного курса «Молекулярная эволюция» <i>Бутвиловский В.Э., Бутвиловский А.В.</i>	34
Сравнение методов жидкость-жидкостной и твердофазной экстракции при изолировании токсических веществ из биологического материала <i>Вергун О.М.</i>	38
Дизайн, синтез и биологические испытания 4,5- дигидротиазоло[5',4':5,6]бензизоксазол-2-амидов в качестве потенциальных двойных ингибиторов HSP90/HER2 <i>Воробьева А.О., Щербаков А.М., Сорокин Д.В., Михайлова А.Л., Богданов Ф.Б., Шафрановская Е.В., Лахвич Ф.А., Пивень Ю.А.</i>	46
Биоцидные пленки-пластыри, функционализированные антисептическими препаратами, с пролонгированным действием активных веществ <i>Гунович М.А., Гринишпан Д.Д., Савицкая Т.А., Кимленко И.М.</i>	53
Прогностическая ценность изменений показателей в биохимическом анализе крови у реципиентов в течение 1 месяца после трансплантации легких <i>Дикун Д.А., Мурашко Д.И.</i>	60
Антимикробная активность солей металлов и фармакофорных карбоновых кислот <i>Дикусар Е.А., Маргун Е.Н., Ахламенок Т.П., Филиппович Л.Н., Стёпин С.Г., Богданова Н.В.</i>	64
Модуляция этаноламидами жирных кислот биохимических показателей сыворотки крови крыс с экспериментальным сахарным диабетом <i>Жаворонок И.П., Басалай А.А., Михальчук А.Л.</i>	70

Синтез и оценка антиагрегантной активности новых 3-(нитрофенил)-2-изоксазолин-5-карбоксамидов <i>Ковганко Н.Н., Пархач М.Е., Борисевич С.Н., Глинник С.В., Латушко Т.В., Галюк Е.Н., Прохоревич К.Н.</i>	77
Динамика уровня рецептора CD44v6 для прогнозирования рецидива заболевания у пациентов с плоскоклеточным раком легкого <i>Ковганко Н.Н., Таганович А.Д., Галуза А.А.</i>	85
Оценка влияния аминокислотных замен на стабильность эпидермального фактора роста человека и его сродство к рецептору с целью разработки нового препарата для лечения синдрома диабетической стопы <i>Козел В. А., Побойнев В. В., Козел А. Р.</i>	90
Синтез спиро-оксиндольных производных 4 <i>H</i> -хроменов методом мультикомпонентных реакций и исследование их антибактериальных свойств <i>Колесников А. А., Мисюля Д. И., Минеева И. В.</i>	97
Показатели нейрохимической дисрегуляции при злоупотреблении алкоголем <i>Абдул А. К., Казачок А. В.</i>	104
Структурные аналоги ресвератрола как эффективные активаторы сиртуина первого типа <i>in silico</i> <i>Краецкая О.Ф., Фандо Г.П.</i>	111
Оценка биологической активности новых гидроксibenзальдегидных производных алкалоидов анабазина и цитизина <i>Маргун Е.Н., Дикусар Е.А., Мукушева Г.К., Сейдахметова Р.Б., Поткин В.И.</i>	117
Кальцийфосфатные биоматериалы в форме ваты <i>Крутько В.К., Мусская О.Н., Кулак А.И.</i>	123
Определение минеральных компонентов в борщевике сосновского и борщевике сибирском (<i>Heracleum Sosnowskyi</i> и <i>Heracleum Sibiricum</i>) методом рентгеновской флуоресцентной спектроскопии <i>Лукашов Р.И., Беляцкий В.Н., Гапанькова Е.И., Матвейчук С.В., Лавровский А.В., Бартош В.А.</i>	129
Способность лигандизованного полисульфона связывать липополисахарид и его гемосовместимость для разработки специфического гемосорбента <i>Макаревич Д.А., Рябцева Т.В., Дусь Д.Д., Лобачева Г.А., Куликова П.Л.</i>	134
Исследование <i>in silico</i> биологических свойств новых гидразонов 3,4-дигидропиримидин-2-онов <i>Матвейков В.А., Гордунов Г.А., Минеева И.В.</i>	141
Применение ионных жидкостей на основе <i>clabso</i> в синтезе 2-амино-4 <i>H</i> -хроменов с индольным фрагментом и исследование их антибактериальных свойств <i>Моложасвая А.А., Мисюля Д.И., Кузьмин К.А., Минеева И.В.</i>	148

Синтез производных 2-амино-3-циано-4H-хромена мультикомпонентными реакциями и характеристика их антибактериального действия в условиях <i>in vitro</i> <i>Мисюля Д.И., Минеева И.В.</i>	155
Применение белков лактоферринов для коррекции метаболических нарушений в ткани мозга самцов и самок крыс при высококалорийной диете <i>Митюкова Т.А., Басалай А.А., Полулях О.Е., Бартош А.Е.</i>	162
Резорбируемые пленочные полимерные материалы на основе натрийкарбоксиметилцеллюлозы и поливинилового спирта <i>Мусская О.Н., Крутько Е.Н., Крутько В.К., Глазов И.Е., Кулак А.И.</i>	168
Перспективы использования растительных полифенолов как кардиопротекторов <i>Надольник Л.И., Полубок В.Ч., Белоновская Е.Б., Борох Н.В., Бородина Т.А.</i>	174
Экспериментальные исследования по изучению гемостатических свойств и биodeградируемости изделия медицинского назначения «Окисленная целлюлоза» с образцом в контроле «Сургитамп» <i>Ославский А.И., Колоцей В.Н., Бычковский П.М., Юркитовч Т.Л., Дрепаков Е.Г., Кузич А.А., Юркевич С.В., Глизнуца А.С., Рутко А.А.</i>	181
Исследование показателей феррокинетики и антиоксидантного статуса при дефиците железа <i>Пашкова О.Л., Кабаева Е.Н., Гармаза Ю.М.</i>	188
Биоактивные азотилипиридины и металлокомплексы с изотиазольными и пиридиновыми лигандами <i>Поткин В.И., Колесник И.А., Акишина Е.А., Хадарович А.А., Дубойская А.В.</i>	195
Оценка возможности использования технологий искусственного интеллекта в подготовке провизоров <i>Прохорова Т.В., Побойнев В.В., Юзефович О.Н.</i>	202
Становление и совершенствование преподавания дисциплины «Биоорганическая химия» в БГМУ <i>Ринейская О.Н., Романовский И.В.</i>	206
Роль мочевины и креатинина в прогнозировании исхода лечения пациентов с тяжелой закрытой черепно-мозговой травмой <i>Рутковская Ж.А., Решетов К.Д., Возьмитель Л.Г.</i>	206
Динамика изменения содержания белков в плазме крови у пациентов с закрытой черепно-мозговой травмой в зависимости от исхода заболевания <i>Рутковская Ж.А., Решетов К.Д., Возьмитель Л.Г.</i>	218
Динамика клеточных соотношений крови при ХОБЛ у пациентов с частыми и редкими обострениями <i>Рябцева Т.В., Таганович А.Д., Колб А.В., Богуш Л.С., Давидовская Е.И.</i>	223

Прогнозирование рецидива плоскоклеточного рака легкого на основании динамики уровня CXCR2 в лимфоцитах крови <i>Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Галуза А.А.</i>	231
Ответ показателей гемограммы на использование системных глюкокортикостероидов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких <i>Таганович А.Д., Рябцева Т.В., Ковганко Н.Н.</i>	237
Иод как катализатор михаэлевского присоединения индола к α,β -ненасыщенным карбонильным соединениям. Исследование биологических свойств полученных 3-индолилкетонов <i>Сехина К.И., Мисюля Д.И., Минеева И.В.</i>	244
Взаимодействие глюкозы с гемоглобином в условиях гипоксии <i>Скоростецкая Л.А., Смиян П.И., Литвинко Н.М.</i>	251
Исследование <i>in silico</i> биологических свойств новых 2-пиразолинов, содержащих циклопропановые фрагменты <i>Франтов Д.И., Минеева И.В.</i>	258
Азиридинсодержащее производное 1,3,5-триазина с олиго(этиленгликолевым) азидным линкером: оценка ДНК-тропности и цитотоксичности <i>Чернов И.С., Протас А.В., Попова Е.А., Шемчук О.С.</i>	265
Совершенствование высшего образования на последипломном этапе — углубленное высшее образование <i>Чиркин А.А., Данченко Е.О.</i>	272
Синтез серебряных наночастиц в биополимерной матрице на основе диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы/серицина <i>Йулдошов Ш.А., Юнусов Х.Э., Шарибов И.И., Гойибназаров И.Ш., Норбоева Ж.С., Сарымсаков А.А.</i>	277
Серицин натурального шелка: влияние условий гидротермического извлечения на физико-химические свойства <i>Юлдошов Ш.А., Ярматов С.С., Гойибназаров И.Ш., Сарымсаков А.А.</i>	286
Особенности строения активного центра карбапенемазы ОХА-23: предпосылки к разработке новых антибактериальных препаратов <i>Байроченко Д.С., Мацко М.И.</i>	293
Синтез фторсодержащих халконов и пиразолинов на их основе <i>Ковганко В.Н., Дорожук Д.С., Соботович М.И.</i>	300
Дизайн <i>in silico</i> и оценка аффинности новых производных 6-тиодезоксигуанозина к активному центру теломеразы <i>Красная М.С., Ринейская О.Н., Грязнов С.М.</i>	307

Молекулярное и цифровое моделирование в современной медицинской пропедевтике на примере преподавания химических дисциплин на кафедре общей химии БГМУ <i>Лахвич Ф.Ф., Ринейская О.Н., Романовский И.В.</i>	314
Молекулярный докинг и прогноз биофармацевтических свойств производных 2-азетидинона <i>Ринейская О.Н.</i>	319
Современные подходы к получению, функционализации и адсорбционным свойствам мезопористого кремнезема для биомедицинских применений <i>Кузнецова Т.Ф., Копыш Е.А.</i>	326

**ПРОФЕССОР ЕВГЕНИЙ ВИКТОРОВИЧ БАРКОВСКИЙ —
ПЕДАГОГ, УЧЕНЫЙ, ЧЕЛОВЕК**
Романовский И.В.

Романовский И.В.

*Кандидат медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь*

Представлена научная и педагогическая биография профессора Е.В. Барковского.

Ключевые слова: биография; биоинформатика; Барковский Е.В.

BARKOVSKY EVGENY VIKTOROVICH — TEACHER, SCIENTIST, MAN

Romanovsky I.V.

*Ph.D. (Candidate of Medical Sciences), Professor, Professor of the Department of
General Chemistry
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus*

The scientific and pedagogical biography of Professor E.V. Barkovsky is presented.

Key words: biography; bioinformatics; E.V. Barkovsky

Евгений Викторович Барковский родился 18 мая 1946 года в г. Минске. В 1969 году он окончил Минский государственный медицинский институт. Еще во время учебы в институте проявился его интерес к научной деятельности — он начал проводить исследования в студенческом научном кружке кафедры общей химии под руководством доцента В.А. Бандарина. В.А. Бандарин, который сам был учеником академика Н.Ф. Ермоленко, оказал огромное влияние на становление Е.В. Барковского не только как будущего ученого и педагога, но и как личности. Он привил молодому исследователю любовь к науке, искусству и литературе, помог сформировать тот широкий кругозор, который впоследствии отличал профессора Барковского [1,2].

Сразу после окончания института, с 1969 года, Е.В. Барковский начал работать на кафедре общей химии Минского медицинского института в должности ассистента. В 1975 году он успешно защитил кандидатскую диссертацию, а в 1981 году был назначен на должность доцента кафедры. Эти годы стали периодом интенсивного научного роста и формирования собственного научного направления.

В 1987 году произошла реорганизация кафедры, и Е.В. Барковский был избран заведующим кафедрой общей и биоорганической химии. Уже в 1988 году он защитил докторскую диссертацию на тему «Структурные основы специфичности альфа-тромбина и механизмы его лимфоцит-опосредованных эффектов», а в 1989 году ему было присвоено ученое звание профессора. С 1990 года и до последних дней жизни Евгений Викторович заведовал кафедрой общей химии.

Научные интересы профессора Е.В. Барковского были широки и многогранны. Основные направления его исследований включали проблемы вторичной структуры белка, информационной энтропии, возрастной катаракты, но главное место в его научном творчестве занимали вопросы молекулярной эволюции генетических макромолекул и теория мутационного давления.

Начало 2000-х годов ознаменовалось на кафедре общей химии новым этапом научных исследований. По инициативе и под научным руководством профессора Е.В. Барковского начались систематические исследования в области молекулярной эволюции, эволюционной биохимии и биоинформатики. Под его руководством были разработаны оригинальные методы анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, основанные на теории нейтральной эволюции М. Кимуры и теории мутационного давления Н. Сусеки.

Важным практическим результатом этих исследований стала разработка метода выделения наименее мутабельных фрагментов белков для создания иммунологических диагностикумов и компонентов синтетических вакцин. Это открытие положило начало практическому применению теории мутационного давления в иммунологии и вакцинологии.

Профессор Е.В. Барковский активно занимался созданием компьютерных алгоритмов для биоинформатических исследований. Разработанные под его руководством алгоритмы и методология были изложены в монографиях «Биохимические механизмы мутационного давления в методологии вычислительной биологии» (2010) и «Репликация, транскрипция, мутационное давление» (2011).

С 2013 года большое внимание на кафедре уделялось проблемам фолдинга белков. На основе применения оригинальных биоинформатических методов, химического синтеза модельного пептида и результатов его спектрального анализа были раскрыты неизвестные аспекты перехода альфа-спиральной формы прионного белка в бета-структурную.

Перу профессора Е.В. Барковского принадлежит более 350 научных работ, включая 8 монографий. Среди наиболее значимых изданий — монография «Мембраносвязанные аденилатциклазы» (2005), «Основные методы молекулярной эволюции» (2009), а также многочисленные учебные пособия для студентов медицинских вузов. Совместно с учениками им были опубликованы «Химия элементов для провизоров» (2016, 2018), «Введение в общую химию», «Лабораторные работы и домашние задания по общей химии» и другие учебные издания.

Под научным руководством профессора Е.В. Барковского были защищены 7 кандидатских диссертаций, а также он являлся научным консультантом двух докторских исследований.

За выдающиеся научные достижения в 2000 году Евгений Викторович Барковский был удостоен Государственной премии Республики Беларусь в области науки и техники. Он также награжден Почетными грамотами Верховного Совета Республики Беларусь, Министерства образования Республики Беларусь и другими наградами. В 2021 году, в год 75-летия со дня рождения профессора, в рамках 27-ой Международной специализированной выставки «Здравоохранение Беларуси 2021» БГМУ была проведена Международная научная конференция

«Физико-химическая биология как основа современной медицины», посвященная памяти Е.В. Барковского.

Евгения Викторовича Барковского отличали необычайная широта научного кругозора, глубокая эрудиция и преданность своему делу. Он был не только выдающимся ученым, но и замечательным педагогом, воспитавшим несколько поколений учеников, многие из которых стали профессорами, докторами и кандидатами наук, заведующими кафедрами и руководителями научных подразделений. Его ученики продолжают развивать заложенные им научные направления, приумножая и развивая его творческие традиции.

Как признание научных достижений профессора Е.В. Барковского, его имя навсегда вписано в историю белорусской химической науки. Созданная им научная школа в области молекулярной эволюции и биоинформатики продолжает активно развиваться, внося вклад в мировую науку и подготовку высококвалифицированных медицинских кадров Республики Беларусь.

Евгений Викторович ушел из жизни 26 декабря 2015 года, но память о нем — выдающемся ученом, талантливом педагоге и замечательном человеке — навсегда сохранится в сердцах его коллег, учеников и всех, кто имел счастье знать его и работать рядом с ним.

Список литературы

1. Бутвиловский, В. Э. Е. В. Барковский — основатель научной школы молекулярной эволюции и филогенетики в Республике Беларусь / В. Э. Бутвиловский, А. В. Бутвиловский // Физико-химическая биология как основа современной медицины : тез. докл. Междунар. науч. конф., посвящ. 75-летию со дня рождения проф. Е. В. Барковского, Минск, 21 мая 2021 г. — Минск : БГМУ, 2021. — С. 6–8.
2. Ткачёв, С. В. История кафедры общей химии / С. В. Ткачёв // Медицинский журнал. — 2021. — № 1. — С. 143–155.

СТРУКТУРИРОВАННАЯ ИСТОРИЯ КАФЕДРЫ ОБЩЕЙ ХИМИИ

Бубенько Т.А., Петрушенко Л.Г., Ковганко Н.Н.

Бубенько Т.А.

Лаборант кафедры общей химии

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Беларусь

Петрушенко Л.Г.

Кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры общей химии

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Беларусь

Ковганко Н.Н.

Кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой общей химии

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Беларусь

KauhankaMM@bsmu.by

В статье представлена хронология развития кафедры общей химии Белорусского государственного медицинского университета (БГМУ) с момента основания медицинского факультета в 1921 году до 2026 года. Показано, что табличная форма подачи исторических данных позволяет систематизировать информацию о смене заведующих кафедрой, реорганизациях, изменениях в преподаваемых дисциплинах и внешних событиях, влиявших на работу кафедры. Структурированный подход облегчает восприятие длительной истории, выявление закономерностей и связей между событиями. Статья может быть полезна для преподавателей, научных сотрудников и студентов, интересующихся историей медицинского образования в Беларуси.

Ключевые слова: *кафедра общей химии, БГМУ, историческая хронология, таблица, заведующие кафедрой, медицинское образование.*

STRUCTURED HISTORY OF THE DEPARTMENT OF GENERAL CHEMISTRY

Bubenko T.A.

Laboratory Assistant of the Department of General Chemistry, Educational Institution "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus

Petrushenko L.G.

Candidate of Chemical Sciences (Ph.D.), Associate Professor, Associate Professor of the Department of General Chemistry, Educational Institution "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus

Kauhanka M.M.

*PhD (Chemistry), Associate Professor, Head of the Department of General Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
KauhankaMM@bsmu.by*

The article presents the chronology of the development of the Department of General Chemistry of the Belarusian State Medical University (BSMU) from the founding of the Medical Faculty in 1921 to 2026. It is shown that the tabular form of presenting historical data makes it possible to systematize information about the succession of department heads, reorganizations, changes in taught disciplines, and external events that influenced the work of the department. The structured approach facilitates the perception of the long history, the identification of patterns and relationships between events. The article may be useful for teachers, researchers, and students interested in the history of medical education in Belarus.

Key words: *Department of General Chemistry, BSMU, historical chronology, table, department heads, medical education.*

История любой университетской кафедры, длящейся десятилетия, представляет собой сложное переплетение событий: смена руководителей, реорганизации структуры, изменение учебных планов, внедрение новых дисциплин, внешние обстоятельства (войны, эвакуации, общественно-политические изменения) [1-3]. Восприятие такого объёма информации значительно облегчается, когда данные представлены в структурированном (табличном) виде. Хронологическая таблица позволяет:

- наглядно сопоставлять периоды руководства разных заведующих;
- прослеживать преемственность научных школ;
- фиксировать моменты реорганизаций и перехода дисциплин между кафедрами;
- быстро находить интересующий временной отрезок.

Цель настоящей работы — представить историю кафедры общей химии БГМУ (в прошлом — Минского медицинского института) в виде структурированной хронологической таблицы, охватывающей период с 1921 года (открытие медицинского факультета в БГУ) по 2026 год с учётом текущей структуры и планируемых изменений. Для удобства идентификации и соблюдения академических стандартов в таблице приведены полные имена, отчества и годы жизни (где

они установлены) каждого заведующего кафедрой. Для заведующей раннего периода — А.П. Иваницкой — полные годы жизни в доступных источниках не обнаружены; её активная деятельность датируется 1906–1927 гг. Информация о Б.М. Беркенгейме уточнена по архивным и энциклопедическим данным. В таблице также отражены руководители смежных структур (курс биоорганической химии, кафедра радиационной гигиены и экологии), игравшие важную роль в истории кафедры общей химии.

При создании таблицы использовались следующие принципы:

1. Хронологическая последовательность — каждый год или период представлен отдельной строкой.
2. Четыре ключевых параметра:
 - год (период);
 - фамилия, имя, отчество заведующего кафедрой (с годами жизни);
 - официальное название кафедры в данный период;
 - дополнительная информация (реорганизации, новые дисциплины, внешние события).
3. Фиксация переходных периодов — отражены моменты, когда кафедра временно функционировала в эвакуации (Ярославль).
4. Преемственность — показана связь с кафедрой общей химии БГУ до создания самостоятельного медицинского института.

Хронологическая таблица истории кафедры общей химии БГМУ (1921–2026)

Год	Фамилия, имя, отчество заведующего (годы жизни)	Название кафедры в этот период	Дополнительная информация
1921	Беркенгейм Борис Моисеевич (1885–1959)	Кафедра общей химии БГУ	Преподавание химии студентам-медикам на базе БГУ (открытие медицинского факультета). Доктор химических наук, профессор. Заслуженный деятель науки и техники РСФСР.
1927	Иваницкая Агния Петровна (годы жизни не установлены; активная деятельность в 1906–1927 гг.)	Кафедра общей химии БГУ	Преподавание химии студентам-медикам на базе БГУ. Инженер-химик. Одна из первых выпускниц Петербургских женских политехнических курсов (1912). Занималась вопросами коллоидной химии. Автор пяти научных работ.
1929	Прилежаев Николай Александрович (1877–1944) — вёл курс органической химии	Кафедра общей химии БГУ	Ведение курса органической химии для медицинского факультета. Член-корреспондент АН СССР, академик АН БССР.
1930	Ермоленко Николай Фёдорович (1900–1972)	Кафедра общей химии Минского медицинского института	Создание самостоятельной кафедры общей химии в ММИ (неорганическая, аналитическая, физическая, коллоидная химия)

1932	Ермоленко Николай Фёдорович (1900–1972)	Кафедра общей химии ММИ	Чтение лекций на химическом и биологическом факультетах БГУ (по совместительству)
1939	Новикова Евгения Николаевна (1905–1988)	Кафедра общей химии ММИ (эвакуация)	Институт эвакуирован в РСФСР
1943	Бандарин Вадим Александрович (1909–1985)	Кафедра общей химии (в г. Ярославль)	Восстановление работы института в Ярославле (с 01.10.1943)
1944	Бандарин Вадим Александрович (1909–1985)	Кафедра общей химии ММИ	Возвращение в освобождённый Минск
1954	Бандарин Вадим Александрович (1909–1985)	Кафедра общей химии ММИ	Курс физической и коллоидной химии передан на кафедру органической химии
1966	Новикова Евгения Николаевна (1905–1988)	Кафедра органической, физической и коллоидной химии	Е.Н. Новикова заведует смежной кафедрой (органической химии)
1976	Кириленко Дмитрий Васильевич (1933–1992)	Кафедра общей химии ММИ	Ученик Бандарина В.А.
1982	Кириленко Дмитрий Васильевич (1933–1992)	Кафедра бионеорганической и биофизической химии	Реорганизация: возвращение курса физической и коллоидной химии. Трансформация органической химии и выделение курса биоорганической химии при кафедре биологической химии (Романовский И.В. — заведующий курсом)
1987	Барковский Евгений Викторович (1946–2015)	Кафедра общей и биоорганической химии	Объединение: присоединение курса биоорганической химии
1990	Барковский Евгений Викторович (1946–2015)	Кафедра общей химии	Организация кафедры радиационной гигиены и экологии (Стожаров А.Н. — заведующий кафедрой) — отсоединение курса биоорганической химии
2016	Хрусталёв Владислав Викторович (род. 1985)	Кафедра общей химии	Ученик Е.В.Барковского
2021	Хрусталёв Владислав Викторович (род. 1985)	Кафедра общей химии	Внедрение дисциплины «Медицинская химия» (молекулярный докинг и дизайн лекарственных средств)
2024	Хрусталёв Владислав Викторович (род. 1985)	Кафедра общей химии	Присоединение кафедры биоорганической химии. Добавлены дисциплины: «Биоорганическая химия» и «Органическая химия»
2024	Ковганко Николай Николаевич (род. 1979) (с 04.11.2024 по настоящее время)	Кафедра общей химии	Преподавание: общая и неорганическая, физическая и коллоидная химия, биоорганическая, органическая химия, биологическая химия и медицинская химия для студентов и курса химии для слушателей подготовительного отделения и абитуриентов

Основные этапы развития кафедры (анализ таблицы). Из представленной таблицы можно выделить несколько ключевых периодов в истории кафедры общей химии БГМУ:

1. **Предыстория (1921–1930)** — преподавание химии на медицинском факультете осуществлялось силами кафедры общей химии БГУ. В этот период у истоков стояли профессора Б.М. Беркенгейм и А.П. Иваницкая — представители школы выдающегося русского физико-химика Н.А. Шилова, а курс органической химии читал академик Н.А. Прилежаев. Этот период заложил традиции фундаментальной химической подготовки будущих врачей.

2. **Становление самостоятельной кафедры (1930–1941)** — создание кафедры в структуре Минского медицинского института под руководством профессора Н.Ф. Ермоленко (впоследствии академика АН БССР), а затем Е.Н. Новиковой. Кафедра охватывала широкий спектр химических дисциплин.

3. **Военные и послевоенные годы (1941–1954)** — эвакуация, работа в Ярославле, возвращение в Минск. Руководство В.А. Бандарина, который возглавлял кафедру 33 года и стал ключевой фигурой в её восстановлении и развитии.

4. **Период реорганизаций (1954–1990)** — передача и возвращение курса физической и коллоидной химии, трансформация органической химии в биоорганическую, создание кафедры бионеорганической и биофизической химии. Этот этап характеризуется активным поиском оптимальной структуры преподавания химических дисциплин.

5. **Эпоха профессора Е.В. Барковского (1987–2015)** — под его руководством кафедра стала центром биоинформатических и эволюционных исследований, сам заведующий кафедрой был удостоен Государственной премии Республики Беларусь.

6. **Современный этап (2016–2026)** — руководство В.В. Хрусталёва (ученика Е.В. Барковского), внедрение медицинской химии, оптимизация 2024 года с присоединением кафедры биоорганической химии. После перехода В.В. Хрусталёва на должность декана биологического факультета БГУ кафедрой с ноября 2024 года руководит Н.Н. Ковганко.

Заключение. Структурированное представление истории кафедры общей химии БГМУ в виде хронологической таблицы позволило:

- наглядно отразить периоды реорганизаций и изменения названий кафедры;
- зафиксировать ключевые события, влиявшие на учебный процесс (эвакуация, возвращение, внедрение новых дисциплин);
- проследить взаимосвязь с другими кафедрами и курсами (органической, биологической, биоорганической химии).

Табличная форма подачи материала облегчает восприятие длительной (более чем вековой) истории и может служить основой для дальнейших исследований по истории медицинского образования в Беларуси.

Список литературы

1. Бутвиловский, В. Э. Е.В. Барковский — основатель научной школы молекулярной эволюции и филогенетики в Республике Беларусь / В. Э. Бутвиловский, А. В. Бутвиловский // Физико-химическая биология как основа современной медицины : тез. докл. Междунар. науч. конф., посвящ. 75-летию со дня рождения проф. Е. В. Барковского, Минск, 21 мая 2021 г. – Минск : БГМУ, 2021. – С. 6–8.
2. Романовский, И. В. История становления и развития кафедры биоорганической химии БГМУ / И. В. Романовский, О. Н. Ринейская, Р. П. Морозова // Медицинский журнал. – 2020. – № 1. – С. 143–155.
3. Ткачёв, С. В. История кафедры общей химии / С. В. Ткачёв // Медицинский журнал. – 2021. – № 1. – С. 143–155.

**ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК ГЕПАТОПАНКРЕАСА
ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАКТОРОВ СРЕДЫ С ПОМОЩЬЮ
МНОГОФАКТОРНОГО АНАЛИЗА**

Балаева-Тихомирова О.М., Чиркин А.А.

Балаева-Тихомирова О.М.

*Кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры химии
и естественнонаучного образования*

*УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»,
г. Витебск, Беларусь
olgabal.tih@gmail.com*

Чиркин А.А.

*Доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры химии
и естественнонаучного образования*

*УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»,
г. Витебск, Беларусь
alexchir43@gmail.com*

В данной статье с помощью многофакторного анализа произведена оценка влияния факторов среды обитания на активность ферментов аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы, как биохимических маркеров состояние клеток гепатопанкреаса легочных пресноводных моллюсков. Авторами исследования показана эффективность использования более простых организмов для изучения функциональных особенностей печени при внешнем воздействии. В ходе исследования выявлен положительный эффект ионов цинка на активность аланинаминотрансферазы и отрицательный эффект ионов железа и pH на активность аспаратаминотрансферазы у обоих видов моллюсков, отличающихся разными механизмами транспорта кислорода.

Ключевые слова: факторов среды; легочные моллюски; аланинаминотрансфераза; аспаратаминотрансфераза

ASSESSMENT OF THE CONDITION OF HEPATOPANCREAL CELLS UNDER THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL FACTORS USING MULTIFACTORIAL ANALYSIS

Balaeva-Tikhomirova O.M.

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Chemistry and Natural Science Education of the Educational institution «Vitebsk State University named after P.M. Masherov», Vitebsk, Belarus
olgabal.tih@gmail.com*

Chirkin A.A.

*Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of Chemistry and Natural Science Education of the Educational institution «Vitebsk State University named after P.M. Masherov», Vitebsk, Belarus
alexchir43@gmail.com*

In this article, using multifactorial analysis, the influence of environmental factors on the activity of the enzymes alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase, as biochemical markers of the state of the cells of the hepatopancreas of pulmonary freshwater mollusks, was evaluated. The authors of the study have shown the effectiveness of using simpler organisms to study the functional features of the liver under external influence. The study revealed a positive effect of zinc ions on the activity of alanine aminotransferase and a negative effect of iron and pH ions on the activity of aspartate aminotransferase in both types of mollusks, which differ in different mechanisms of oxygen transport.

Key words: *environmental factors; pulmonary mollusks; alanineaminotransferase; aspartateaminotransferase*

Изучение биохимических изменений в организме животных и человека, происходящих под воздействием внешних факторов среды, является актуальной проблемой. Одним из органов наиболее подверженных данному влиянию является печень, в которой происходит обезвреживание чужеродных веществ, избытка гормонов, медиаторов, витаминов, а также токсичных промежуточных и конечных продуктов обмена веществ синхронно с регуляцией обмена веществ [1]. Ранее была установлена возможность использования для оценки влияния факторов различной природы на биохимические процессы в организмах более простых животных — легочных пресноводных моллюсков (катушка роговая и прудовик обыкновенный), что подтверждено исследованиями молекулярно-структурной гомологии ряда ферментов [2, 3]. У легочных пресноводных моллюсков печень представлена гепатопанкреасом (пищеварительной железой), который содержит клетки, выполняющие функции внутриклеточного переваривания, всасывания и хранения питательных веществ. Гепатопанкреас участвует в защитных реакциях организма и противодействует развитию окислительного стресса. При выполнении своей основной функции печень у млекопитающих и гепатопанкреас у беспозвоночных подвергаются функциональным нарушениям, что часто регистрируется изменениями количества и активности ферментов ала-

нинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ). Поэтому активности АЛТ и АСТ относятся к маркерам функционального состояния печени, нарушений проницаемости мембран гепатоцитов и нарушений метаболических процессов, связанных с развитием окислительного стресса [4].

Цель работы — оценить влияние факторов среды обитания на активность ферментов аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, как биохимических маркеров состояние клеток гепатопанкреаса легочных пресноводных моллюсков.

Материал и методы исследования. В работе использовались два представителя легочных пресноводных моллюсков — 216 особей прудовика обыкновенного (*Lymnaea stagnalis*) и 216 особей катушки роговой (*Planorbarius corneus*). Материалом для исследования были гемолимфа и гепатопанкреас половозрелых моллюсков. Легочные пресноводные моллюски были отловлены в 5 водоемах Витебской области (р. Витьба г. Витебск; оз. Вордовье д. Ляды; оз. Дубровское д. Дубровка; оз. Будовесьть а/г Башни; оз. Селявское д. Селявщина) и 3 водоемах Гомельской области (оз. Любенское г. Гомель; р. Припять д. Красная Горка; р. Друть г. Рогачёв), отличающихся различными климатическими и антропогенными характеристиками.

Физико-химические показатели среды обитания были определены спектрофотометрическими, титрометрическими и электрохимическими методами. Было установлено содержание в воде ионов Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , NH_4^+ , Ca^{2+} , SO_4^{2-} , карбонатная и общая жесткости, pH; в прибрежной почве водоемов содержание ионов Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и активности ферментов — каталазы, протеазы и уреазы. У моллюсков спектрофотометрическим методом была определена активность в гемолимфе и гепатопанкреасе аланинаминотрансферазы (АЛТ, $n = 216$), аспартатаминотрансферазы (АСТ, $n = 216$).

Анализы выполнены в статистической среде R (пакеты *vegan*, *labdsv* и *car*) [5]. Для оценки влияния измеренных показателей среды на основные показатели метаболизма, выражено значение индекса Шеннона, применен регрессионный анализ, перед которым переменные, выраженные в процентах, были подвержены преобразованию (*arcsine*). Модель наилучшим образом, описывающую выявленные зависимости, была выбрана методом пошагового исключения переменных, основываясь на значении информационного критерия Акаике (*Akaike information criterion* — *AIC*). Мультиколлинеарность отдельных независимых переменных среды обусловило выбор обобщенной модели множественной регрессии (*Generalized Linear Models* — *GLM*) с распределением Пуассона (*Poisson distribution*). Предварительно была выполнена проверка на избыточную дисперсию (*overdispersion*), которая может исказить ход анализа. Если таковая была обнаружена, стандартная ошибка корректировалась выбором распределения квази-Пуассона (*quasi-Poisson*) [6].

Результаты и их обсуждение. По результатам исследования активность ферментов АСТ и АЛТ изменялась в широком диапазоне как в гемолимфе, так и гепатопанкреасе двух видов моллюсков. В гепатопанкреасе зафиксировано колебание показателей у катушки роговой от 53,8 до 698,5 Ед/л (АСТ), от 44,2 до 535,5 Ед/л (АЛТ), у прудовика обыкновенного от 43,9 до 694,6 Ед/л (АСТ), от 32,6 до

378,5 Ед/л (АЛТ). Сходные изменения активности ферментов выявлены в гемолимфе и составили у катушки роговой от 22,51 до 67,456 Ед/л (АСТ), от 11,87 до 72,25 Ед/л (АЛТ), у прудовика обыкновенного от 25,93 до 75,32 Ед/л (АСТ), от 10,71 до 62,21 Ед/л (АЛТ). Активность ферментов подвержена сезонным изменениям и связана с активностью метаболизма, выходом и входом моллюсков в состояние анабиоза. Также на активность ферментов влияют антропогенные и климатические факторы. Соотношение АЛТ/АСТ у пресноводных легочных моллюсков позволяет определить степень адаптации или патологии организма при воздействии неблагоприятных условий.

Оценка влияния переменных среды обитания на активность ферментов в тканях легочных пресноводных моллюсков представлены в таблицах 1, 2.

Таблица 1

Влияние переменных среды на активность ферментов в тканях прудовика обыкновенного

Переменная среды	Коэффициент	Стандартная ошибка	Значения критериев Вальда (z) и Стьюдента (t)	Р-уровень
Влияние на активность АЛТ в гепатопанкреасе				
Свободный член (Intercept)	-3.514	1.951	-1.801	н.з.
Fe ³⁺ мг/г (почва)	0.621	0.493	1.259	н.з.
Zn ²⁺ мг/г (почва)	0.753	0.307	2.455	*
Активность каталазы (см ³ О ₂ /г за 1 мин (почва))	-0.766	0.508	-1.508	н.з.
Активность протеазы (мг альбумина/10 г за 24 ч (почва))	0.040	0.284	0.141	н.з.
Fe ³⁺ мг/л (вода)	-0.065	0.327	-0.198	н.з.
Общая жесткость воды (мг-экв/л)	-0.193	0.479	-0.403	н.з.
Карбонатная жесткость воды (мг-экв/л)	0.454	0.437	1.039	н.з.
pH	3.269	1.895	1.725	н.з.
Влияние на активность АСТ в гепатопанкреасе				
Свободный член (Intercept)	0.0004	0.0001	3.350	***
Fe ³⁺ мг/г (почва)	0.0001	0.0003	0.453	н.з.
Zn ²⁺ мг/г (почва)	0.0009	0.0001	0.516	н.з.
Активность каталазы (см ³ О ₂ /г за 1 мин (почва))	0.0004	0.0003	0.0001	н.з.
Активность протеазы (мг альбумина/10 г за 24 ч (почва))	0.0001	0.0001	0.827	н.з.
Fe ³⁺ мг/л (вода)	-0.0004	0.0002	-2.216	*
Общая жесткость воды (мг-экв/л)	-0.0002	0.0003	-0.895	н.з.
Карбонатная жесткость воды (мг-экв/л)	0.0002	0.0002	1.009	н.з.
pH	0.0004	0.0001	-3.708	***

Примечание. Уровень значимости (p): *** p < 0,001; ** p < 0,01; * p < 0,05; н.з. — нет значимого влияния (p > 0,05)

Из таблицы 1 следует, что на активность АЛТ в гепатопанкреасе прудовика обыкновенного значимо ($p < 0,05$) влияло содержание ионов цинка в почве прибрежной зоны водоема (положительный эффект). Все остальные переменные среды не оказывали значимого влияния ($p > 0,05$). Обобщенные модели множественной регрессии для прудовика обыкновенного показали достоверное влияние ($p < 0,05$) на активность АСТ содержания ионов железа в воде и pH (отрицательный эффект), всех остальных переменных среды значимого влияния на данный показатель не оказывали ($p < 0,05$).

Таблица 2

Влияние переменных среды на активность ферментов в тканях катушки роговой

Переменная среды	Коэффициент	Стандартная ошибка	Значения критериев Вальда (z) и Стьюдента (t)	р-уровень
Активность АЛТ в гепатопанкреасе				
Свободный член (Intercept)	-1.612	1.393	-1.157	н.з.
Cu ²⁺ мг/г (почва)	0.112	0.322	0.348	н.з.
Zn ²⁺ мг/г (почва)	0.524	0.190	2.761	**
Активность каталазы (см ³ O ₂ /г за 1 мин (почва))	-0.074	0.342	-0.216	н.з.
Активность протеазы (мг альбумина/10 г за 24 ч (почва))	-0.046	0.214	-0.214	н.з.
Cu ²⁺ мг/л (вода)	0.138	0.271	0.511	н.з.
Общая жесткость воды (мг-экв/л)	-0.261	0.458	-0.569	н.з.
Карбонатная жесткость воды (мг-экв/л)	0.261	0.359	0.727	н.з.
Влияние на активность АСТ в гепатопанкреасе				
Свободный член (Intercept)	0.0003	0.0001	1.514	н.з.
Fe ³⁺ мг/г (почва)	0.0001	0.0002	0.251	н.з.
Zn ²⁺ мг/г (почва)	0.0008	0.0001	0.312	н.з.
Активность каталазы (см ³ O ₂ /г за 1 мин (почва))	0.0003	0.0002	0.0001	н.з.
Активность протеазы (мг альбумина/10 г за 24 ч (почва))	0.0001	0.0001	0.625	н.з.
Fe ³⁺ мг/л (вода)	-0.0003	0.0002	-2.145	*
Общая жесткость воды (мг-экв/л)	-0.0001	0.0002	-0.793	н.з.
pH	0.0004	0.0001	-2.204	***

Примечание. Уровень значимости (р): *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; н.з. — нет значимого влияния ($p > 0,05$)

Из таблицы 2 видно, что обобщенные модели множественной регрессии для катушки роговой показали отсутствие достоверного влияния ($p > 0,05$) всех измеренных переменных на активность АЛТ в гепатопанкреасе, за исключением одной переменной — содержания цинка в почве (положительный эффект; $p < 0,05$). На активность АСТ оказывали влияние две переменные среды — содержания ионов железа в воде и pH (отрицательный эффект), всех остальных переменных среды значимого влияния на данный показатель не оказывали ($p < 0,05$).

Таким образом, выявлены сходные изменения активности ферментов в гепатопанкреасе двух видов моллюсков. Также в эксперименте установлено, что ионы цинка содержатся в большом количестве в прибрежной почве (от 29,3 до 144,5 мг/г) водоемов Республики Беларусь, и посредством диффузии попадают в природную воду. Многофакторный анализ и построенные обобщенные модели множественной регрессии установили положительный эффект ($p < 0,05$) концентрации ионов цинка в почве на активность АЛТ у обоих видов моллюсков. Такого эффекта на активность АСТ не зафиксировано. Цинк играет важную роль в метаболических процессах и регулирует структурную целостность клеток печени. Низкая концентрация цинка может снижать активность АЛТ, а также его уровень коррелирует с патологическими процессами и нарушением гомеостаза. Механизм влияния цинка на активность АЛТ основан на аллостерической регуляции и стабилизации структуры белка. Цинк выступает кофактором, участвуя в метаболизме белков и стабилизируя структуру клеточных мембран гепатоцитов, что предотвращает увеличение активности АЛТ в гемолимфе. Цинк участвует в обеспечении активности витамина В6, который является кофактором реакции трансминирования, регулируемой АЛТ.

На активность АСТ выявлено влияние ионов железа в воде и величины рН. Такое действие ионов железа связано с возможностью их функционирования как кофакторов, которые меняют структуру активного центра, его конформацию и влияют на скорость переноса аминок групп. Также железо, как тяжелый металл, способно изменять третичную структуру АСТ, что меняет её способность катализировать реакции. Высокая концентрация ионов железа в воде влияет на рН и как следствие на стабильность фермента. Водородный показатель, в свою очередь, изменяет ионизацию фермента в его активном центре и значения рН оптимальные для функционирования в нейтральной области. Выявлено, что значение рН в исследуемых водных экосистемах изменяется в пределах 6,5–8,5 и подвержено сезонным колебаниям, что, вероятно, отражается на активности фермента АСТ.

Заключение. С помощью многофакторного анализа проведена оценка влияния факторов среды обитания на активность ферментов аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, как биохимических маркеров состояние клеток гепатопанкреаса легочных пресноводных моллюсков. Установлена эффективность использования двух видов гидробионтов для изучения функциональных особенностей гепатопанкреаса (печени) при внешнем воздействии. Выявлено, что статистически значимое влияние на активность аланинаминотрансферазы оказывает, только концентрация ионов цинка в прибрежной зоне водоемов. Данное влияние основано на возможностях цинка связываться с регуляторными центрами АЛТ изменять конформацию и каталитическую активность фермента. Определено, что на активность фермента АСТ у обоих видов моллюсков отрицательный эффект оказывает содержание ионов железа в воде и рН среды. Это обусловлено влиянием ионов железа как кофактора или тяжелого металла меняющего структуру фермента и способности к ионизации при сдвиге рН из нейтральной области. Таким образом, по результатам построения обобщен-

ных моделей множественной регрессии факторами, влияющими на функциональное состояние клеток гепатопанкреаса (печени) являются содержание ионов цинка, железа и pH среды.

Список литературы

1. Функциональные особенности печени / А.В. Синдирева [и др.] // Вестник КрасГАУ. – 2024. – № 9. – С. 121–127.
2. Использование легочных пресноводных моллюсков для изучения нарушений обмена веществ / А.А. Чиркин [и др.] // Новости медико-биологических наук. – 2024. – Т. 24, № 2. – С. 90–97.
3. Молекулярно-структурная гомология протеолитических ферментов в изучении механизма протеолиза и его регуляции / А.А. Чиркин [и др.] // Весці НАН Беларусі. Серыя хімі. навук. – 2021. – Т. 57 – №. 2. – С. 206–2017.
4. Морфология, физиология и патология органов кровообращения и дыхания животных / К.А. Сидорова [и др.]. Тюмень: ГАУ Северного Зауралья, 2021. – 289 с.
5. Zuur A.F., Ieno E.N., Elphick C.S. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems // Methods. Ecol. Evol. – 2010. – Vol. 1. – P. 3–14.
6. Сушко Г. Г. Дисперсионный анализ с использованием программного обеспечения PAST 4.04 // Веснік ВДУ імя П.М. Машэрава. – 2021. – № 1. – С. 64–73.

**ОРОДИСПЕРГИРУЕМЫЕ ПЛЕНКИ КАК НОВАЯ ФОРМА
ТРАНСМУКОЗАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
ИНГРЕДИЕНТОВ С РЕАЛИЗАЦИЕЙ СИНЕРГИИ СИНТЕТИЧЕСКИХ
И РАСТИТЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ**

Безносик Т.В., Гриншпан Д.Д., Савицкая Т.А., Кимленко И.М.

Безносик Т.В.

Аспирант химического факультета
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
tbeznosik02@mail.ru

Гриншпан Д.Д.

Доктор химических наук, профессор
УО «Белорусский государственный университет»
г. Минск, Беларусь
grinshpan@bsu.by

Савицкая Т.А.

Доктор химических наук, профессор
УО «Белорусский государственный университет»
г. Минск, Беларусь
savitskayata@bsu.by

Кимленко И.М.

Кандидат химических наук, заведующий кафедрой радиационной химии
и химико-фармацевтических технологий, химический факультет
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
kimlenka@bsu.by

Разработаны ородиспергируемые пленки на основе природных полисахаридов для трансмукозальной доставки биологически активных веществ и лекарственных средств. Предложена универсальная полимерная матрица, позволяющая комбинировать синтетические препараты (антигистаминные, кофеин, противодиарейные, бронходилататоры) с растительными экстрактами для реализации синергетического эффекта. Новая форма доставки обеспечивает быстрое высвобождение активных ингредиентов, эффективную маскировку горечи, оптимизацию дозирования, не требует запивания водой, подходит пациентам с дисфагией и повышает приверженность лечению.

Ключевые слова: трансмукозальная доставка; природные полисахариды; синергия компонентов; маскировка горечи; контролируемое высвобождение; биодоступность

ORODISPERSIBLE FILMS AS A NEW FORM OF TRANSMUCOSALS DELIVERY OF BIOLOGICALLY ACTIVE INGREDIENTS WITH THE REALIZATION OF SYNERGY OF SYNTHETIC AND PLANT COMPONENTS

Beznosik T.V.

*Postgraduate Student, Faculty of Chemistry, Belarusian State University,
Minsk, Belarus
tbeznosik02@mail.ru*

Grinshpan D.D.

*Doctor of Chemical Sciences, Professor, Belarusian State University, Minsk, Belarus
grinshpan@bsu.by*

Savitskaya T.A.

*Doctor of Chemical Sciences, Professor, Belarusian State University, Minsk, Belarus
savitskayata@bsu.by*

Kimlenka I.M.

*Candidate of Chemical Sciences, Head of the Department of Radiation Chemistry and
Chemical-Pharmaceutical Technologies, Faculty of Chemistry, Belarusian State Uni-
versity, Minsk, Belarus
kimlenka@bsu.by*

Orally dispersible films based on natural polysaccharides have been developed for the transmucosal delivery of biologically active substances and drugs. A universal polymer matrix has been proposed that allows for the combination of synthetic drugs (antihistamines, caffeine, antidiarrheals, bronchodilators) with plant extracts to achieve a synergistic effect. This new delivery method ensures rapid release of active ingredients, effectively masks bitterness, optimizes dosing, eliminates the need for water, is suitable for patients with dysphagia, and improves treatment adherence.

Key words: *transmucosal delivery; polysaccharides; component synergy; bitterness masking; controlled release; bioavailability*

Традиционные пероральные лекарственные формы имеют ряд ограничений в современной фармакотерапии. К ним относятся: низкая приверженность лечению у пациентов с дисфагией, необходимость запивания водой, потеря биодоступности из-за прохождения через желудочно-кишечный тракт и эффекта первого прохождения через печень, а также сложность комбинирования синтетических активных веществ и растительных компонентов.

Решением являются ородиспергируемые пленки (*oral strips*) — инновационная система трансмукозальной доставки активных ингредиентов, обеспечивающая быстрое растворение полимерной матрицы в слюне и всасывание активных веществ через слизистую полости рта. Данная лекарственная форма исключает попадание в желудочно-кишечный тракт, обеспечивает ускоренное терапевтическое действие, что критически важно для препаратов неотложной помощи: коронародилататоров, бронходилататоров и антигистаминных средств. Также *oral*

strips минимизируют раздражающее действие на слизистую желудочно-кишечного тракта, что актуально для противодиарейных препаратов.

Пленочная форма позволяет интегрировать в полимерную матрицу одновременно синтетические субстанции и растительные экстракты. Такая комбинация обеспечивает синергетический эффект, позволяя снизить дозировку основных лекарственных веществ и уменьшить риск побочных эффектов при сохранении высокой терапевтической эффективности [1].

Целью работы явилась разработка составов формовочных композиций на основе биоразлагаемых синтетических и природных полимеров, а также методов получения ородиспергируемых пленок для доставки широкого спектра активных ингредиентов с реализацией синергетического действия активных веществ и растительных компонентов. Комплексное изучение их физико-химических характеристик, органолептических свойств и релиза целевых ингредиентов.

Материалы и методы. Ородиспергируемые пленки получали на основе биосовместимых полимеров (кукурузный крахмал (КК), альгинат натрия (АН), пектин, ПВС) методом полива растворов на подложку *Mylar* с использованием автоматической установки *MSK-AFA-L800-H*.

В состав композиций вводили активные субстанции (кофеин-бензоат натрия, лоперамида гидрохлорид, препараты групп бронходилатирующих — Беродуал, антигистаминных — Фенистил Нью и др.) в сочетании с растительными экстрактами лонгана (*Dimocarpus longan*), кумквата (*Fortunella*), граната (*Punica granatum L.*), мяты перечной (*Mentha piperita*), чая (*Camellia sinensis L.*), эфирными маслами цитрусовых (*Citrus reticulate*, *Citrus sinensis*) и натуральными вкусомаскирующими горечь агентами.

Количественное определение действующих веществ осуществляли с помощью ВЭЖХ и УФ-спектроскопии. Исследование профиля высвобождения проводили в жидкостях, имитирующих физиологические среды.

Результаты и их обсуждение. Ородиспергируемые пленки-полоски с биологически активными добавками. Получены ородиспергируемые пленки, включающие как индивидуальные вещества: рутин, биодигидрокверцетин, так и комплексные коммерческие растительные препараты: «БиоЧага», «Терафлекс», «Черника Форте», «Железа хелат» и проведена оценка их свойств [2].

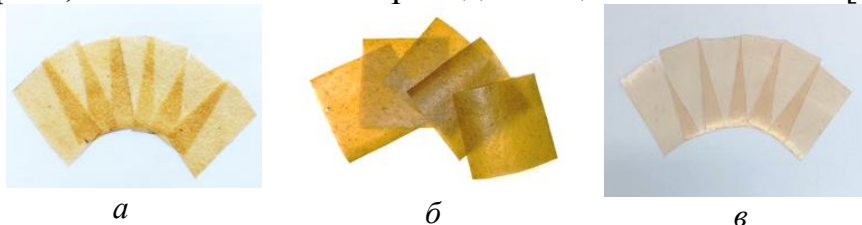


Рис. 1. Ородиспергируемые пленки-полоски состава КК-АН с БАДами: а — «Терафлекс», б — «Черника Форте», в — «Железа хелат»

Установлено, что пленки с хондропротекторным комплексом «Терафлекс» обладают высокой прочностью на разрыв и умеренно выраженным кислым вкусовым профилем, однако вследствие значительной мукоадгезии характеризуются дискомфортом применения. В отличие от них композиции с витаминно-мине-

ральным комплексом «Черника Форте» и аскорбиновой кислотой характеризовались оптимальными потребительскими свойствами: высокой пластичностью, нейтральным вкусом и отсутствием адгезивного взаимодействия с мукозальной поверхностью.

Оптимизация дозирования позволила ввести в пленку стандартного размера 2×4 см одновременно два активных компонента. При этом не только повышается биологическая активность, но и решается проблема полипрагмазии. Например, в комбинированной формуле с соотношением рутина и «Биочаги» 1:1 терапевтическая доза достигается при приеме всего одной пленки в сутки вместо двух-четырех при раздельном применении. Такой синергетический подход не только усиливает биологическую активность препарата, но и повышает комплаентность за счет упрощения режима дозирования.

Отдельное внимание было уделено перспективам применения **кофеинсо-держающих ородиспергируемых пленок-полосок**.

Высокая социальная и медицинская значимость разработки новых форм доставки кофеина связана с его двойной функцией. Этот алкалоид выступает повседневным стимулятором центральной нервной системы, улучшает настроение и когнитивные способности обычных потребителей. Помимо этого, кофеин является официальным эргогенным средством для спортсменов.

Введение кофеина (1,3,7-триметилпурин-2,6-диона) в полимерную матрицу сопряжено с решением двух взаимосвязанных технологических задач. Необходимо обеспечить высокую концентрацию активного вещества в пленке площадью 3,5×5,5 см² без риска его кристаллизации и миграции на поверхность пленки-полоски. А также эффективно нейтрализовать горький вкус, обусловленный взаимодействием кофеина с высокочувствительными рецепторами TAS2R43 и TAS2R46, находящимися в слизистой оболочке полости рта.

Были разработаны две стратегии, основанные на синергии компонентов. Первая обеспечивает создание сложного кисло-сладкого вкуса с использованием натуральных соков, растительных экстрактов в комбинации с поверхностно-активными веществами или циклическими олигосахаридами. При этом вспомогательные компоненты усиливают маскировку горечи, выступая как солюбилизаторы, повышая растворимость кофеина. Вторая реализует принцип физиологической модуляции восприятия через активацию холодовых рецепторов TRPM8 с помощью ментола. Ощущение прохлады создает отвлекающий сигнал, который в сочетании с пищевыми ароматизаторами эффективно маскирует горький вкус, обеспечивая при этом хорошую органолептику.

Оценка кинетики высвобождения кофеина из различных лекарственных форм показала, что разработанные *oral strips* демонстрируют более высокую скорость выхода действующего вещества. В среде искусственной слюны (*Simulated Saliva*) при значении водородного показателя 6,8 и температуре 37 °С по данным УФ-спектроскопии за 10 минут высвобождается 98 % кофеина, причем 95 % высвобождается уже в первые 5 минут, что отражено на рисунке 2. Для сравнения, высвобождение кофеина из таблеток в среду желудочного сока при водородном показателе 3,0 составило лишь 69 % за аналогичный промежуток времени.

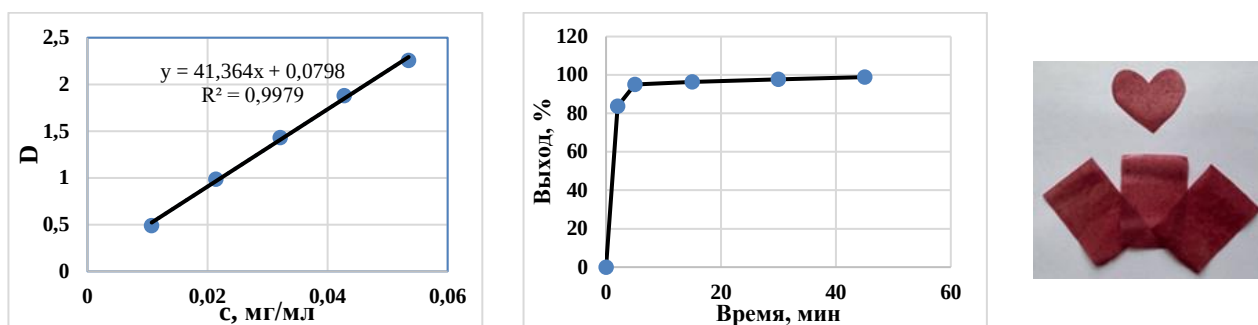


Рис. 2. Внешний вид и кинетика высвобождения кофеина в имитированную слюнную жидкость *Simulated Saliva*, pH 6,8 при 37 °C

Ородиспергируемые пленки-полоски с эффективным противодиарейным действием для пациентов с целиакией. Ключевая особенность полученной лекарственной формы — использование кукурузного крахмала в качестве полимерной основы, что исключает риск попадания в организм пациента глютена — белка, вызывающего аутоиммунное воспаление тонкого кишечника. Лекарственным препаратом для введения в полимерную матрицу был выбран лоперамида гидрохлорид — агонист μ -опиоидных рецепторов кишечной стенки. Этот препарат эффективно снижает моторику гладкой мускулатуры, усиливает реабсорбцию воды и электролитов для быстрого купирования диарейного синдрома. Однако монотерапия лоперамидом ограничена только «маскировкой» симптомов, но не лечением заболевания и защитой клеток кишечника от повреждений.

Для расширения терапевтического профиля в состав *oral strips* были включены экстракты растительного сырья, реализующие синергетический эффект.

Экстракт кожуры граната *Punica granatum L.*, богатый элаготанинами и эллаговой кислотой, обеспечивает выраженный антиоксидантный эффект. Данные соединения адсорбируются на поврежденном эпителии, стабилизируя барьерную функцию слизистой оболочки. Помимо этого, биологически активные вещества проявляют умеренную антимикробную активность, что важно при инфекционной диарее.

Основным действующим агентом экстракта мяты перечной *Mentha piperita* выступает розмариновая кислота, идентифицированная спектрофотометрически при длине волны 318 нм (рис. 3). Данный полифенол обладает высокой антиоксидантной активностью и подавляет механизмы воспаления. В комбинации с лоперамидом это создает условия не только для остановки диареи, но и для регенерации слизистой оболочки кишечника путем регуляции иммунного ответа.

Экстракт мякоти лонгана *Dimocarpus longan*, содержащий галловую кислоту, с максимумом поглощения при длине волны 296 нм (рис. 3). Проантоцианидины и биоактивные полисахариды, способствует повышению общей резистентности организма, поддержке энергетический обмен клеток кишечника и оказывает мягкое иммуномодулирующее действие, что особенно значимо при хронических расстройствах желудочно-кишечного тракта.

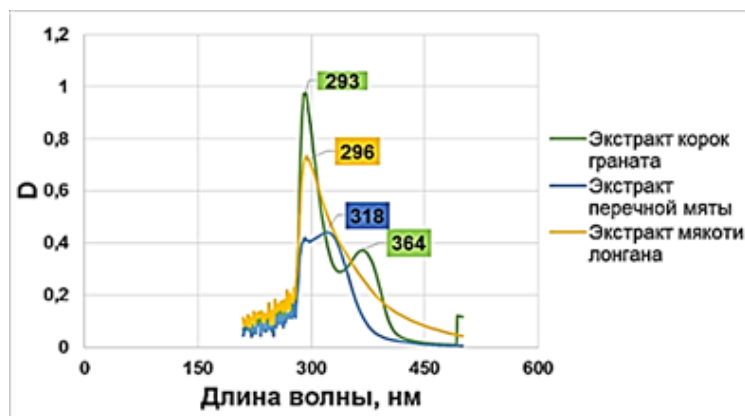


Рис. 3. УФ-спектры использованных водных растительных экстрактов

Дополнительное введение мезопористого активированного угля, синтезированного в НИИ физико-химических проблем БГУ, обеспечило тройной терапевтический эффект. Структурный анализ подтвердил наличие развитой системы микро- и мезопор, обуславливающей высокую сорбционную емкость в отношении токсинов, бактериальных клеток и газов. Являясь эффективным энтеросорбентом, уголь не абсорбируется в системный кровоток и выводится из организма в неизменном виде, обеспечивая детоксикацию кишечника без дополнительной нагрузки на организм.

Ородиспергируемые пленки-полоски с антигистаминными препаратами. Диметиндена малеат, входящий в состав препарата «Фенистил Нью» (капли для приёма внутрь, 0,1% раствор), характеризуется системной биодоступностью ~70%, началом действия через 30 минут и достижением максимальной плазменной концентрации через 2 ч после перорального приёма. С учётом этих параметров была обоснована целесообразность перехода к твёрдой быстрорастворимой в полости рта форме. Одна плёнка-полоска размером 2×4 см эквивалентна разовой дозе в 30 капель исходного препарата.

Релиз действующего вещества из экспериментальных плёнок оценивали *in vitro* методом ИК-спектроскопии (рис. 4).

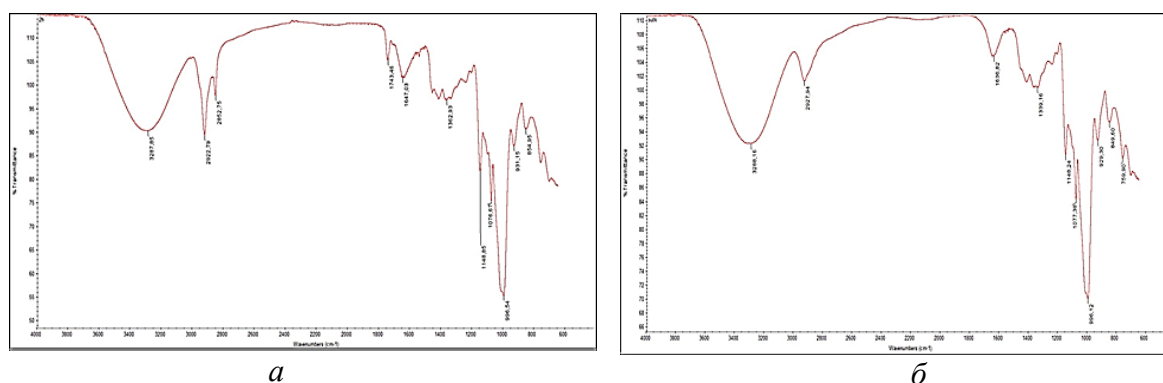


Рис. 4. ИК-спектр бислойной плёнки, содержащей диметиндена малеат, после выдерживания в фосфатном буфере:

а — в течение 2-х часов; б — в течение 24-х часов

Анализ спектральных характеристик позволил идентифицировать характеристическую полосу поглощения диметиндена малеата при 1743 см^{-1} , соответствующую валентным колебаниям карбонильной группы. Наличие данной полосы в спектрах плёнок, полученных как из водных растворов, так и из растворов на основе яблочного сока, подтверждает сохранение химической структуры активного компонента в процессе формования. Исследования кинетики высвобождения в фосфатном буфере (рис. 4 а, б) продемонстрировали стабильность спектральных характеристик в течение 24 ч, что свидетельствует о контролируемом профиле релиза и отсутствии деградации вещества в модельной среде.

Ородиспергируемые пленки-полоски с бронходилатирующими препаратами. Фармакокинетический анализ подтвердил, что трансмукозальный путь введения повышает эффективность всасывания фенотерола минимум в 1,87 раза. Объем $2,5\text{ см}^3$ препарата, введенный в состав пленки, обеспечивает эффект, сопоставимый с 1 см^3 ингаляционного раствора, что подтверждено расчетами для ипратропия бромиды. Стандартизирована разовая доза в пленке размером $4\times 4\text{ см}$. Для маскировки выраженной горечи разработан многокомпонентный вкусовой профиль на основе растительных агентов и подсластителей, не искажающий фармакологических свойств.

Разработанная форма лишена недостатков традиционных ингаляционных методов: не требует специализированного оборудования, электроэнергии и воды. Предварительные испытания показали сопоставимую с ингаляторами скорость наступления эффекта при купировании приступов астмы, при этом отмечен пролонгированный эффект благодаря контролируемому высвобождению веществ из полимерной матрицы.

Вывод. В работе показана технологическая целесообразность создания ородиспергируемых плёнок на основе природных полисахаридов как универсальной платформы для трансмукозальной доставки биологически активных веществ и лекарственных средств. Разработанные композиции для четырех фармакотерапевтических групп обеспечивают быстрое высвобождение активных веществ, эффективную маскировку горького вкуса и возможность синергетического сочетания синтетических препаратов с растительными экстрактами.

Работа выполнена в рамках ГПНИ «Междисциплинарные и синергетические исследования» («Конвергенция-2030»). НИР «Биоразлагаемые интеллектуальные нанокомпозитные пленки и покрытия с иммобилизованными растительными экстрактами и наночастицами неорганической природы для увеличения срока хранения и мониторинга качества упакованных продуктов»

Список литературы

1. A Short Review on «A Novel Approach in Fast Dissolving Film & their Evaluation Studies» / P. Gupta [et al.] // International Journal of Current Research and Review. – 2022. – Vol. 14, № 18. – P. 29–34. – doi: 10.31782/IJCRR.2022.141806
2. Получение ородиспергируемых композиционных пленок, содержащих биологически активные ингредиенты — Сборник материалов международной научно-практической конференции: Фундаментальные и прикладные исследования в области химии и экологии // М. А. Гунович [и др]. – 2023. – Россия, г. Курск: ЮЗГУ, 11 октября 2023. – С. 139–142.

СОДЕРЖАНИЕ ФТОРА В СТЕНКАХ И ДНЕ КАРИОЗНЫХ ПОЛОСТЕЙ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ФТОРИДА ДИАММИНСЕРЕБРА

Бутвиловский А.В., Терехова Т.Н.

Бутвиловский А.В.

Доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры эндодонтии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
alexbutv@rambler.ru

Терехова Т.Н.

Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стома-
тологии детского возраста
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
tsetam@mail.ru

Статья посвящена анализу содержания фтора в стенках и дне кариозных полостей во временных зубах при применении 38% раствора фторида диаммин-серебра. Доказано, что аппликации этого вещества отдельно и в сочетании с повидон-йодом приводит к статистически значимому увеличению (по сравнению с контрольной группой) содержания фтора в стенках и дне кариозных полостей временных зубов. В группе 1 наблюдалось преимущественное накопление фтора в стенках кариозных полостей, а в группе 2 — равномерная аккумуляция этого химического элемента в стенках и дне кариозных полостей.

Ключевые слова: фторид диамминсеребра, приостановление кариеса, содержание фтора.

FLUORINE CONTENT IN THE WALLS AND BOTTOM OF CARIOUS CAVITIES AFTER USAGE OF SILVER DIAMMINE FLUORIDE

Butvilovsky A.V.

MD, PhD, DMSc, Professor, Professor of Department of Endodon-
tics, Belarusian State Medical University,
Minsk, Belarus
alexbutv@rambler.ru

Tserahava T.N.

MD, PhD, Professor, Chief of Pediatric Dentistry Department, Bel-
arusian State Medical University,
Minsk, Belarus

This article analyzes fluorine levels in the walls and bottoms of carious cavities in primary teeth treated with 38% solution of silver diammine fluoride. It has been proven that the application of this substance separately and in combination with povidone-iodine leads to a statistically significant increase (compared to the control group) in the fluorine content in the walls and bottoms of carious cavities of primary

teeth. Group 1 showed predominant fluorine accumulation in the walls of carious cavities, while Group 2 showed uniform accumulation of this chemical element in the walls and bottoms of carious cavities.

Key words: *silver diammine fluoride, arresting caries treatment, fluorine content.*

Применение фторида диаминсеребра (ФДС) является высокоэффективным методом приостановления кариеса временных зубов [1-4]. Однако процессы аккумуляции фтора при нанесении на пораженные кариесом твердые ткани зуба изучены недостаточно, что и определяет актуальность проведения исследований в этом направлении.

Цель исследования: оценить содержание фтора в стенках и дне кариозных полостей во временных зубах при применении фторида диаминсеребра отдельно и в сочетании с повидон-йодом.

Материалы и методы. Исследование проведено на 15 временных зубах, удаленных из-за физиологической смены. После очищения, промывания и высушивания зубы разделили на 3 группы.

В группе 1 на стенки и дно кариозных полостей в течение минуты наносили 38 % раствор ФДС («Аргенат однокомпонентный», «ВладМиВа»), в группе 2 — дополнительно (по сравнению с группой №1) апплицировали 10 % раствор повидон-йода («Бетадин», «EGIS»). В группе 3 (контроль) обработка кариозных полостей не проводилась.

Через сутки изготавливали (путем распиливания зубов в сагиттальном направлении) образцы для анализа содержания фтора на рентгеновском энергодисперсионном спектрометре «INCA 350» («Oxford Instruments», Великобритания) при области возбуждения рентгеновского излучения 0,5 мкм и ускоряющем напряжении при съемке 20 кВ (всего изучено 211 точек).

Полученные результаты обработаны методами непараметрической описательной статистики, достоверность различий определена по критериям U (Манна-Уитни), H (Краскела-Уоллиса) и z с поправкой Бонферрони.

Результаты и обсуждение. Установлено, что содержание фтора в стенках кариозных полостей является наименьшим в группе 3 (1,10 % (0,58-1,67)), больше — в группе 2 (2,11 % (1,17-4,11)), а наибольшим — в группе 1 (7,40 % (5,09-11,26)). Множественное сравнение по этому показателю подтвердило наличие статистически значимых различий между всеми группами (H=44,47; $p<0,001$).

Содержание фтора в области дна кариозных полостей в группе 1 составило 3,10 % (1,78-8,04), в группе 2 — 2,48 % (1,51-3,49) и в группе 3 — 0,47 % (0,001-1,04). При апостериорных сравнениях обнаружены статистически значимые отличия ($p<0,001$) изучаемого показателя между контрольной группой и группами 1 ($z=7,50$) и 2 ($z=5,33$).

Интерес представляет сравнение содержания фтора в области стенок и дна кариозных полостей в каждой из групп наблюдения, что позволяет определить равномерность или неравномерность его аккумуляции. Так, в группе 1 между содержанием фтора в области дна и стенок обнаружены статистически значимые

различия ($U=446$; $p<0,01$), что свидетельствует о преимущественном накоплении фтора в стенках. В группе 2 содержание фтора в стенках и дне было статистически сходным ($U=495$; $p>0,05$), что говорит о равномерной аккумуляции этого химического элемента.

Выводы:

- 1) Содержание фтора в стенках и дне кариозных полостей временных зубов в группах 1 и 2 статистически значимо больше по сравнению с контролем.
- 2) В группе 1 наблюдалось преимущественное накопление фтора в стенках кариозных полостей, а в группе 2 — равномерная аккумуляция этого химического элемента в стенках и дне кариозных полостей.

Список литературы

1. Оценка клинической эффективности приостановления кариеса временных зубов / Т.Н. Терехова [и др.] // Современная стоматология. – 2020. № 3. – С. 60–64.
2. Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first permanent molars of schoolchildren: 36-month clinical trial / J.C. Llodra [et al.] // J. Dent. Res. – 2005. Vol. 84 (8). – P. 721–724.
3. Lo, E.C.M. A community-based caries control program for pre-school children using topical fluorides: 18-month results / E.C.M. Lo, C.H. Chu, H.C. Lin // J. Dent. Res. – 2001. Vol. 80 (12). – P. 2071–2074.
4. Silver diamine fluoride: A review and current applications / S. Shah [et al.] // JoAOR. – 2014. – Vol. 5(1). – P. 25–35.

РОЛЬ ПРОФЕССОРА Е.В. БАРКОВСКОГО В СОЗДАНИИ ФАКУЛЬТАТИВНОГО КУРСА «МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ»

Бутвиловский В.Э., Бутвиловский А.В.

Бутвиловский В.Э.

*Кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры биологии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,*

г. Минск, Беларусь

Бутвиловский А.В.

*Доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры эндодонтии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,*

г. Минск, Беларусь

alexbutv@rambler.ru

Статья посвящена анализу вклада профессора Е.В. Барковского в организацию факультативного курса «Молекулярная эволюция» в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет». Для организации курса объемом 20 учебных часов были подготовлены и изданы 7 учебно-методических пособий. Проведение данного курса способствовало углублению знаний слушателей по поиску и анализу последовательностей белков и нуклеиновых кислот, а также проведению ими теоретических и прикладных исследований в этом направлении.

Ключевые слова: факультативный курс; молекулярная эволюция; профессор Е.В. Барковский.

THE ROLE OF PROFESSOR E.V. BARKOVSKY IN THE CREATION OF THE ELECTIVE COURSE «MOLECULAR EVOLUTION»

Butvilovsky V.E.

*MD, PhD, Associate Professor, Associate Professor of Department
of Biology, Belarusian State Medical University,
Minsk, Belarus*

Butvilovsky A.V.

*MD, PhD, DMSc, Associate Professor, Professor of Department of
Endodontics, Belarusian State Medical University,
Minsk, Belarus
alexbutv@rambler.ru*

This article analyzes Professor E.V. Barkovsky's contribution to the organization of the elective course «Molecular Evolution» at the Belarusian State Medical University. Seven teaching aids were developed and published to organize the 20-hour course. This course deepened the students' knowledge about protein and nucleic acid sequence analysis and enabled them to conduct theoretical and applied research in this area.

Key words: elective course; molecular evolution; Professor E.V. Barkovsky.

В 2007/2008 учебном году в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» был впервые проведен факультативный курс «Молекулярная эволюция» для углубления знаний слушателей в области биоинформатики, молекулярной биологии и генетики [1, 3]. Первыми слушателями курса были не только студенты (лечебного и медико-профилактического факультетов), но и преподаватели кафедр биологии, общей химии и биорганической химии, которые планировали проведение научных исследований с применением методов молекулярной эволюции.

Создание данного факультативного курса стала возможной благодаря научным наработкам кафедр общей химии и биологии университета в данной области.

Заведующий кафедрой общей химии, профессор **Евгений Викторович Барковский** (1946–2015) сыграл роль научного идеолога и основателя научного направления по исследованию молекулярной эволюции генетических макромолекул (нуклеиновых кислот и белков) в Республике Беларусь. Благодаря его таланту и проведенным исследованиям, молекулярная эволюция была признана академическим сообществом Беларуси как перспективная научная тематика для биологии, биотехнологии и медицины.

Профессор Е.В. Барковский руководил работами по анализу семейств белков (таких как, аденилатциклазы, G-белки, инсулин, алкогольдегидрогеназы и др.) и кодирующих их последовательностей мРНК для понимания их изменчивости. С использованием компьютерных методов Евгений Викторович адаптировал сложные алгоритмы поиска и выравнивания последовательностей (MEGA, ClustalW) для обучения студентов, что позволило им анализировать базы данных белков и нуклеиновых кислот.

Основными разработчиками факультативного курса выступили ученики профессора Е.В. Барковского — заведующий кафедрой биологии В.Э. Бутвиловский и ассистент А.В. Бутвиловский.

В 2006 году проект получил финансовую поддержку Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант №Б06М-060). Это позволило оснастить учебный процесс необходимым оборудованием и программным обеспечением (MEGA, Clustal W) для компьютерного анализа макромолекул.

Учебная программа факультативного курса «Молекулярная эволюция» была утверждена 29.06.2007 г. в объеме 20 академических часов (лекции — 10 часов, практические занятия — 10 часов). Курс включал 2 раздела:

- «Молекулярная эволюция как наука. Термины и теории молекулярной эволюции»,
- «Основные методы молекулярной эволюции».

Первый раздел включал вопросы по истории развития молекулярной эволюции как научного направления, ее задачи, объекты изучения, термины и теории. Второй раздел был посвящен методам молекулярной эволюции и их применению для решения конкретных прикладных задач, что реализовывалось в ходе практических занятий [2].

Основная цель курса — это обеспечение современного уровня знаний терминов, теорий и методов молекулярной биологии, а также приобретение навыков анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей.

Основные задачи курса — это изучение:

- терминов, теорий и методов молекулярной эволюции;
- возможностей компьютерного анализа аминокислотных и нуклеотидных последовательностей.

По окончании курса слушатели приобретали практические навыки:

- поиска аминокислотных и нуклеотидных последовательностей в базах данных;
- BLAST-анализа и выравнивания последовательностей;
- определения гомогенной или гетерогенной картины замен в последовательностях мРНК;
- вычисления эволюционных дистанций и скоростей молекулярной эволюции;
- определения частоты синонимичных и несинонимичных замен в нуклеотидных последовательностях;
- определения вида отбора;
- анализа использования кодонов в последовательностях мРНК;
- построения дендрограмм и определения времени дивергенции различных таксономических групп по одному белку и гену.

Слушатели факультативного курса в полной мере были обеспечены необходимой учебно-методической литературой — под руководством профессора Е.В. Барковского подготовлены и изданы 7 учебно-методических пособий:

- «Методы молекулярной эволюции и филогенетики» (2005, 63 с.);
- «Базисные методы молекулярной эволюции» (2006, 36 с.);
- «Справочник терминов молекулярной эволюции и филогенетики» (2006, 40 с.);
- «Молекулярная эволюция: сборник задач» (2007, 24 с.);
- «Методы изучения характера аминокислотных замен» (2008, 28 с.);
- «Молекулярная эволюция: материалы к факультативному курсу: курс лекций» (2009, 72 с.);
- «Руководство к практическим занятиям по факультативному курсу «Молекулярная эволюция»: практикум» (2010, 32 с.).

Разработанный факультативный курс «Молекулярная эволюция» способствовал углублению знаний слушателей по молекулярной эволюции и проведению ими исследований прикладного характера (более половины слушателей первого года занялись выполнением самостоятельных исследований в этом направлении).

Курс был интегрирован с инициативными НИР кафедр общей химии и биологии, преподаватели и студенты выполнили в их рамках большое количество совместных исследований.

За разработку методов вычислительной биологии и создание учебного комплекса по молекулярной эволюции коллективу ученых БГМУ (Е.В. Барковский,

А.В. Бутвиловский, В.Э. Бутвиловский) в 2011 году присуждена премия НАН Республики Беларусь.

Сотрудниками БГМУ по данной тематике издано 5 монографий:

– «Мембраносвязанные аденилатциклазы (Е.В. Барковский, О.В. Ачинович) (2006);

– «Алкогольдегидрогеназы хордовых животных» (А.В. Бутвиловский, Е.В. Барковский, В.Э. Бутвиловский) (2007);

– «Основные методы молекулярной эволюции» (А.В. Бутвиловский, Е.В. Барковский, В.Э. Бутвиловский, В.В. Давыдов, Е.А. Черноус, В.В. Хрусталёв.) (2009);

– «Биохимические механизмы мутационного давления в методологии вычислительной биологии» (В.В. Хрусталёв) (2010);

– «Репликация, транскрипция, мутационное давление» (В.В. Хрусталёв) (2011).

Профессор Е.В. Барковский создал научную школу «Вычислительной биохимии» и плеяду своих учеников и последователей. Под руководством профессора Е.В. Барковского по данной тематике защищены 4 кандидатские диссертации (О.В. Ачинович, А.В. Бутвиловский, В.В. Хрусталёв, Т.А. Хрусталёва).

К сожалению, несмотря на указанные достижения, факультативный курс «Молекулярная эволюция» просуществовал только 5 лет. С нашей точки зрения, его актуальность возрастает из-за необходимости применения методов анализа последовательностей генетических макромолекул в прикладных исследованиях.

Список литературы

1. О создании факультативного курса «Молекулярная эволюция» кафедр биологии и общей химии БГМУ / А.В. Бутвиловский [и др.] // Университетское образование: опыт тысячелетия, проблемы, перспективы развития: тезисы докладов II Международного конгресса, 14–16 мая 2008 г.: в 2 т. Т.2/ отв. ред. Р.С. Пионова. – Минск: МГЛУ, 2008. – С. 123–125.

2. Опыт проведения факультативного курса «Молекулярная эволюция» на кафедре биологии БГМУ/ В.Э. Бутвиловский [и др.] // Военная медицина. – 2009. №2. – С. 17–18.

3. Перспективы внедрения раздела «Молекулярная эволюция и филогенетика» в программу подготовки студентов I курса / В.Э. Бутвиловский [и др.] // Медицинский журнал. – 2006. №2. – С. 120-121.

**СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ЖИДКОСТЬ-ЖИДКОСТНОЙ
И ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ПРИ ИЗОЛИРОВАНИИ
ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА**
Вергун О.М.

Вергун О.М.

*Кандидат биологических наук, доцент
Доцент кафедры фармацевтической химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минска, Беларусь
Государственный комитет судебных экспертиз по г.Минску,
государственный медицинский судебный эксперт-химик,
г. Минск, Беларусь
vom_v@tut.by*

Аннотация: Судебная медицинская химическая экспертиза является важнейшей отраслью судебной экспертизы и требует постоянного обновления и изучения новых данных, относящихся к методам подготовки проб, идентификации и обнаружения тех или иных токсичных веществ.

В судебной химии одним из важнейших этапов проведения исследования является этап изолирования (извлечения) веществ, повлекших отравление или смерть человека, из биологического объекта, либо биологических жидкостей, иными словами — пробоподготовка. Наиболее часто применяемыми и воспроизводимыми методами является жидкость-жидкостная экстракция и более современный метод — твердофазная экстракция. Благодаря данным методам подготовки проб происходит наиболее полное изолирование токсических веществ из объектов биологического характера для эффективного проведения дальнейшего исследования.

Ключевые слова: жидкость-жидкостная экстракция; твердофазная экстракция; изолирование; биологические объекты; газовая хроматография с масс-селективным детектированием.

COMPARISON OF LIQUID-LIQUID AND SOLID-PHASE EXTRACTION METHODS FOR ISOLATION OF TOXIC SUBSTANCES FROM BIOLOGICAL MATERIAL

Viarhun O.M.

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor,
Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry,
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus; State Medical Forensic Expert
Chemist, State Committee of Forensic Examinations of Minsk,
Minsk, Belarus
vom_v@tut.by*

Abstract. *Forensic chemical examination is the most important branch of forensic science and requires constant updating and study of new data related to methods of sample preparation, identification and detection of certain substances.*

In forensic chemistry, one of the most important stages of research is the isolation (extraction) of substances from a biological sample or biological fluid—in other words, sample preparation. The most commonly used and reproducible methods are liquid-liquid extraction and the more modern method of solid-phase extraction. These sample preparation methods ensure the most complete isolation of toxic substances from biological samples for effective further analysis.

Key words: *liquid-liquid extraction; solid-phase extraction; isolation; biological objects; gas chromatography with mass-selective detection.*

В химико-токсикологическом и судебно-химическом анализе метод экстракции является базовым для изолирования токсических веществ из объектов биологического происхождения, а также для очистки вытяжек от примесей, для выделения токсических веществ из предварительно очищенных извлечений.

Экстракция — процесс выделения одного или нескольких токсичных веществ из различных биологических объектов с помощью растворителя, называемого экстрагентом. Объекты, из которых извлекают токсические соединения, могут быть твердыми субстанциями (например органы трупа) или жидкостями. Поэтому процессы извлечения подразделяют на экстракцию в системе: жидкость – жидкость и (или) твердое тело – жидкость.

Процесс экстракции целевых компонентов является многостадийным. Основными стадиями этого процесса могут быть: проникновение экстрагента в объекты, в которых находится исследуемое токсическое вещество; растворение целевого компонента в экстрагенте или взаимодействие целевого компонента с экстрагентом; далее очистка или освобождение от соэкстрактивных веществ; концентрирование экстракта. Каким бы не было высокотехнологичное оборудование для обнаружения и идентификации токсического вещества, если нарушен процесс пробоподготовки (извлечения) токсикант(ы) так и останутся в объекте, соответственно исследование будет осуществлено в пустую и результат окажется ложноотрицательным. Степень изолирования исследуемых веществ из биологического материала является важным элементом и зависит от многих

факторов: физико-химических свойств самого токсиканта; от растворимости извлекаемых веществ в экстрагенте, при этом необходим подбор растворителя либо системы растворителей; структуры (пористости) биологического материала; проникающей способности экстрагентов в клетки и ткани биологического материала; степени его измельчения, интенсивности перемешивания смеси измельченного биологического материала и экстрагента; кратности настаивания биологического материала с экстрагентом, температуры и pH среды и многих других факторов [1].

Целью данного исследования явилось проведение сравнительных исследований по изолированию веществ разных фармацевтических групп из крови различными способами и выявить более эффективный метод подготовки проб.

Материалы и методы. Материалом явились биологический материал (трупная кровь). Методами: жидкость-жидкостная экстракция с использованием различных систем экстрагентов и твердофазная экстракция с использованием картриджей для твердофазной экстракции (Bond Elut Certify 300 mg/6 ml, Agilent Technologies, Part No: 12102082 (США)).

Исследования подготовленных образцов проводились с помощью метода газовой хроматографии — масс-спектрометрии (далее ГХ-МС). Условия хроматографирования: газовый хроматограф Agilent 8890; колонка капиллярная: HP-5MS UI, 30м x 0,25мм, $\Delta F=0,25$ мкм; газ-носитель — гелий скорость потока 1,5 мл/мин; температура колонки: 90 °С, 1,3 мин, 11 град/мин, 315 °С, 8,0 мин; температура инжектора — 280 °С; режим инжектора при вводе пробы — Splitless; детектор масс-селективный — моноквадруполь: MSD 5977B; интервал сканируемых масс: 40-570 m/z; температуры детектора: MS Source — 230 °С, MS Quad — 150 °С; настройки умножителя и источника ионов: Gain — 1 °С. Программное обеспечение MassHunter Workstation GC/MS Vers. 10.1.49.

Идентификацию веществ проводили по характерным масс-спектрам и индексам удерживания (RI) по базам данных библиотек NIST v3.0, DRUGS_SP1, MPW2011. С учетом относительной интенсивности сигналов зарегистрированных ионов принадлежность полученных масс-спектров обнаруженных веществ подтверждали наличием в них соответствующих молекулярных и характеристичных ионов, образующихся в соответствии с основными направлениями фрагментации молекул в процессе электронной ионизации.

По литературным данным, экстрагируемость химических соединений зависит от растворимости их в воде и в несмешивающихся с водой органических растворителях, применяемых для экстракции. В зависимости от состава и свойств экстрагентов экстракционные системы делятся на две группы. К первой группе относятся экстракционные системы с «физическим» распределением компонентов. В этих системах отсутствует химическое взаимодействие между экстрагентом и экстрагируемыми веществами. Различная растворимость некоторых веществ, а, следовательно, и неодинаковая экстрагируемость их объясняются физическими свойствами этих веществ и экстрагентов. Ко второй группе относятся экстракционные системы, в которых экстракция

осуществляется за счет химического взаимодействия извлекаемых веществ с экстрагентами. Эффективность разделения веществ в таких системах зависит от прочности образующихся соединений или комплексов. Эти экстракционные системы используются для извлечения неорганических веществ. Экстракция с помощью экстрагентов, взаимодействующих с экстрагируемыми веществами, является более сложным процессом, чем экстракция, основанная на физическом распределении. При использовании экстрагентов, взаимодействующих с экстрагируемыми веществами, процессы экстракции могут осложняться побочными реакциями. В ряде случаев одновременно может происходить экстракция нескольких различных соединений [1].

Метод твердофазной экстракции базируется на специфических взаимодействиях выделяемых компонентов с сорбентом (ионообменником) при пропускании раствора через патрон со сравнительно малым количеством твердой фазы, что в свою очередь влечет меньший расход растворителя для последующей десорбции сконцентрированных соединений и устраняет необходимость упаривания.

ТФЭ имеет много общего с хроматографией. Для концентрирования и извлечения неполярных соединений наиболее удобен метод обращенно-фазовой экстракции, когда сорбент имеет меньшую полярность, чем анализируемый раствор [2].

Ход работы. Сравнение методик изолирования наркотических средств, психотропных и лекарственных веществ из биологических жидкостей (в частности трупной крови) проводится на основе экспериментальных данных, полученных в результате проведения изолирования методом ЖЖЭ и ТФЭ с последующей оценкой полученных результатов путем получения спектров газовой хроматографией с масс-селективным детектированием.

Для проведения эксперимента подготавливали образцы биологических жидкостей (кровь) с известным количеством изолируемых веществ. Концентрации, затравленные в биологические жидкости, соответствуют токсическим концентрациям веществ в крови согласно литературным данным [3]. Расчет производился на 7,0 мл биологической жидкости.

Для расчета и контроля во все экспериментальные образцы вводили внутренний стандарт (ВС). Для веществ кислого характера ВС — гексенал (100 мкг/мл л — 50 мкл на 1 мл биологической жидкости), для веществ основного характера ВС — этилморфин (100 мкг/мл — 50 мкл на 1 мл биологической жидкости). В таблице 1 представлены численные характеристики изолируемых веществ.

Таблица 1

Характеристики изолируемых веществ

Изолируемое вещество	Токсическая концентрация в крови, мкг/мл	Концентрация раствора изолируемого вещества, мкг/мл	Объем, затравленный в 7 мл биожидкости, мкл
d,l-амфетамин гидрохлорид	0,2	1	1400
d,l-МДМА гидрохлорид	0,5	100	35
d,l-метадон гидрохлорид	0,2	100	14
α -PVP	10	100	700
Амитриптилина гидрохлорид	0,5	30	120
Доксиламин сукцинат	1	100	70
Карбамазепин	10	80	875
Лидокаина гидрохлорида	6	50	840
Натрий этаминал	10	100	700
Прегабалин	2400	150	112000
Прокаин	20	500	280
Промедол	0,2	100	14
Тиопентал	5	100	350
Трамадол	1	100	70
Фенобарбитал	30	100	2100

Методика проведения жидкость-жидкостной экстракции

Экстракция веществ кислого и нейтрального характера проводилась следующим образом: к 1 мл биологической жидкости (крови) прибавляли 2,0 мл 0,3 М фосфатного буфера с pH 2,5 для создания кислой среды. Перемешивали и проводили экстракцию 3,0 мл хлороформа в течение 10 минут. Смесь центрифугировали при 3000 об/мин 10 минут. Органический слой переносили в другой флакон и выпаривали досуха в токе теплого воздуха, избегая перегрева остатка. К остатку во флаконе добавляли 0,4 мл ацетонитрила и 3,0 мл гексана. Флакон закрывали, сильно встряхивали 30 секунд, центрифугировали при 5000 об/мин 10 минут. Слой гексана отбрасывали. Ацетонитрильный раствор переносили в емкость для дериватизации и выпаривали досуха в токе теплого воздуха, избегая перегрева остатка. **Метилирование:** к сухому остатку прибавляли 25 мг безводного карбоната калия, 500 мкл безводного ацетона и 40 мкл йодметана, герметично закрывали и термостатировали при 60 °C в течение 60 минут. После охлаждения емкость открывали, всю жидкость (без соли) переносили в вialу емкостью 2,0 мл и выпаривали досуха. Далее для получения пригодных для инструментальной оценки полученных растворов сухой остаток реконструировали — в вialу добавлением 100 мкл этилацетата, тщательно перемешивали — (раствор № 1). Далее раствор № 1 исследовали методом ГХ-МС.

Экстракция веществ щелочного характера: к 1,0 мл биологической жидкости (объекта) прибавляли 2,0 мл насыщенного боратного буфера (для создания pH около 12). Перемешивали и проводили экстракцию 8,0 мл 1-хлорбутана в течение 10 минут. Смесь центрифугировали при 3000 об/мин 10 минут. Для реэкстракции органический слой переносили в другой флакон,

добавляли 3,0 мл 0,1 М раствора серной кислоты, встряхивали 5 минут, центрифугировали при 4000-5000 об/мин 5 минут. Водный слой отбирали в третий флакон, прибавляли 0,3 мл 2 М раствора гидроксида натрия (устанавливая pH раствора в интервале 10-11), добавляли 3,0 мл 1-хлорбутана, встряхивали 10 минут и далее смесь центрифугировали при 4000-5000 об/мин 10 минут. Органическое извлечение переносили в выпарительную емкость, добавляли 100 мкл 10 г/дм³ раствора уксусной кислоты в этаноле и выпаривали досуха. Полученный сухой остаток реконструировали — добавлением 100 мкл этилацетата, тщательно перемешивали — (раствор № 2). Далее раствор № 2 исследовали методом ГХ-МС. *Дериватизация:* раствор № 2 (после инструментального исследования) выпаривали досуха, к остатку добавляли 100 мкл трифторуксусного ангидрида и герметично закрывали. Емкость выдерживали 30 минут при 60 °С. После нагрева емкость охлаждали до комнатной температуры, затем содержимое испаряли в токе воздуха при комнатной температуре до сухого остатка. Сухой остаток реконструировали в 100 мкл этилацетата, тщательно перемешивали — (раствор № 2/1). Далее раствор № 2/1 исследовали методом ГХ-МС.

Методика проведения твердофазной экстракции. Выделение веществ приведенных в таблице 2 из исследуемых образцов проводили следующим образом: к 1,0 мл подготовленного образца во флаконе прибавляли 4 мл 1/15 М фосфатного буфера pH 4,8. Флакон плотно закупоривали, помещали в ультразвуковую баню на 5 минут. Далее содержимое флакона центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут (5000 об/мин — 5 мин). 4 мл центрифугата отделяли от осадка и проводили твердофазную экстракцию, по схеме:

Кондиционирование сорбента: последовательно пропускали через картридж 3,0 мл 95 % этанола и 3,0 мл 1/15 М фосфатного буфера pH 4,8.

Загрузка анализируемого объекта: 4,0 мл подготовленного, как описано выше, образца крови (плазмы, сыворотки) загружали в картридж и пропускали через него со скоростью 1 мл/мин.

Промывка: через сорбент последовательно пропускали 1,5 мл 1/15 М фосфатного буфера с pH 4,8 и 1,5 мл 10 % этанола со скоростью 3-4 мл/мин [2].

Сушка сорбента: сушку проводили под вакуумом в течение 20 минут.

Элюирование веществ кислого и нейтрального характера (элюат I): элюат I получали двукратным пропусканием через картридж смеси н-гексан-этилацетат (2:1) по 3,0 мл со скоростью 1 мл/мин.

Элюирование веществ щелочного характера (элюат II): элюат II получали двукратным пропусканием через картридж смеси: дихлорметан - изопропанол — гидроксид аммония 250 г/л (2:1:0,1) по 3,0 мл со скоростью 1 мл/мин.

Элюат I испаряли в токе воздуха при комнатной температуре в емкости для дериватизации. *Метилирование* проводили как описано выше при описании жидкость-жидкостной экстракции. Полученный сухой остаток реконструировали 100 мкл этилацетата, тщательно перемешивали (раствор № 3). Далее раствор № 3

исследовали методом ГХ-МС. К элюату II в выпарительной емкости добавляли 100 мкл 10 г/дм³ раствора уксусной кислоты в этаноле и выпаривали досуха. Полученный сухой остаток реконструировали 100 мкл этилацетата, тщательно перемешивали — раствор № 4). Далее раствор № 4 исследовали методом ГХ-МС. *Дериватизация* проводилась, как описано выше, с получением раствора № 4/1, который тоже исследовали методом ГХ-МС [2].

Обсуждение результатов. После проведения инструментального исследования полученных извлечений из подготовленных объектов методом ГХ-МС были рассчитаны приведенные площади для каждого вещества. Под приведенной площадью подразумевается отношение площади пика внутреннего стандарта (ВС) к площади пика искомого вещества. В таблице 2 представлены опытные данные. При отсутствии данных о веществе на хроматограмме в таблице указывался знак «-».

Таблица 2

Результаты ГХМС исследования биологических жидкостей

Вещество	Изолирование из крови, приведенная площадь	
	ТФЭ	ЖЖЭ
Амфетамин-ТФА	—	0,0712
MDMA-ТФА	0,3432	0,2415
Метадон	0,1195	—
α-PVP	1,285	9,080
Амитриптилин	0,8186	0,3735
Доксиламин	50,00	9,069
Карбамазепин	3,471	0,953
Лидокаин	0,7668	2,334
Натрий этаминал	1,190	0,6254
Прегабалин-H ₂ O	1,087	0,0651
Прокаин-ТФА	4,926	—
Промедол	0,0953	0,1894
Тиопентал	0,1946	0,1169
Грамадол	5,127	2,128
Фенобарбитал	25,78	3,942

Выводы. На основании опытных данных можно сделать вывод, что методы твердофазной экстракции и метод жидкость-жидкостной экстракции дают достаточно воспроизводимые результаты, нельзя однозначно определить, какой метод дает лучшие результаты, так как для каждой группы веществ и каждого вещества отдельно существуют свои условия для наилучшего изолирования из биологических жидкостей, поэтому выбор метода производится экспертом в индивидуальном порядке, учитывая все свойства выделяемого вещества.

1. Метод твердофазной экстракции в большинстве случаев дает большую эффективность извлечения по сравнению с жидкость-жидкостной экстракцией.

2. Процесс проведения твердофазной экстракции более автоматизирован, затрачивает меньшее количество растворителей, меньше зависит от изменений рН среды и процесс является более экологически чистым.

3. Процесс жидкость-жидкостной экстракции является более рентабельным, простым в исполнении и позволяет извлечь максимальное количество токсикантов и их метаболитов в относительно чистом виде.

4. Несмотря на преимущества твердофазной экстракции, этот метод является более дорогим, существует ограниченная емкость загрузки объектов и существует проблема ввиду разницы между партиями материала для проведения изолирования, что влияет на выход аналита. В свою очередь метод жидкость-жидкостной экстракции длителен, трудоемок и имеет низкий выход при работе с очень полярными аналитами.

Список литературы

1. Карпов, Ю. А., Савостин, А.П. Методы пробоподготовки и пробоотбора. – М. : Бином; Лаборатория знаний, 2003. – 243 с.
2. Мелентьев, А. Б. Дизайнерские наркотики. Метаболизм и подходы к анализу в биологических средах. – М. : Издательство «Перо», 2016. – 326 с.
3. Winek's Drugs and Chemical blood-level data 2001.

**ДИЗАЙН, СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ
4,5-ДИГИДРОТИАЗОЛО[5',4':5,6]БЕНЗИЗОКСАЗОЛ-2-АМИДОВ
В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДВОЙНЫХ ИНГИБИТОРОВ
HSP90/HER2**

**Воробьева А.О., Щербаков А.М., Сорокин Д.В., Михайлова А.Л.,
Богданов Ф.Б., Шафрановская Е.В., Лахвич Ф.А., Пивень Ю.А.**

Воробьева А.О.

*Научный сотрудник, Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси,
г. Минск, Беларусь
na.varabyeva@gmail.com*

Щербаков А.М.

*Кандидат биологических наук, заведующий лабораторией онкопротеомики, Отдел экспериментальной биологии опухолей, Национальный медицинский научно-исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина,
г. Москва, Российская Федерация
a.sherbakov@rnc.ru*

Сорокин Д.В.

*Научный сотрудник, Отдел экспериментальной биологии опухолей, Национальный медицинский научно-исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина,
г. Москва, Российская Федерация
d.sorokin@rnc.ru*

Михайлова А.Л.

*Лаборант-исследователь, Отдел экспериментальной биологии опухолей, Национальный медицинский научно-исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина,
г. Москва, Российская Федерация
alexandra.mivl92@gmail.com*

Богданов Ф.Б.

*Лаборант-исследователь, Отдел экспериментальной биологии опухолей, Национальный медицинский научно-исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина,
г. Москва, Российская Федерация*

Шафрановская Е.В.

*Кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси,
г. Минск, Беларусь*

Лахвич Ф.А.

*Академик, Институт биоорганической химии, Национальная академия наук Беларуси,
г. Минск, Беларусь
lakhvich@iboch.by*

Пивень Ю.А.

*Кандидат химических наук, заведующий лабораторией химии проста-
гландинов, Институт биоорганической химии,
Национальная академия наук Беларуси,
г. Минск, Беларусь
piven.ya@gmail.com*

*В данном исследовании представлены новые изоксазол-тиазольные соеди-
нения, которые действуют как двойные ингибиторы HSP90/HER2, demonстри-
руя высокую активность и селективность против HER2-положительных кле-
ток рака молочной железы. Соединение-лидер, **ATF-2**, продемонстрировало
эффективность, аналогичную лапатинибу, и эффективно снижало активность
HER2, EGFR и CDK6, что указывает на его потенциал в качестве многоцелевого
противоопухолевого средства.*

Ключевые слова: *таргетная терапия; рак молочной железы; белок тепло-
вого шока 90 (HSP90); рецептор эпидермального фактора роста человека 2
(HER2); двойные ингибиторы*

**DESIGN, SYNTHESIS, AND BIOLOGICAL EVALUATION
OF 4,5-DIHYDROTHIAZOLO [5',4':5,6]BENZISOXAZOL-2-
AMIDES AS POTENTIAL DUAL HSP90/HER2 INHIBITORS**

Varabyeva N.A.

*Researcher, Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of
Belarus, Minsk, Belarus
na.varabyeva@gmail.com*

Scherbakov A.M.

*Candidate of Biology, Head of the Oncoproteomics Laboratory, Department of
Experimental Tumor Biology, Blokhin N.N. National Medical Research Center of On-
cology, Moscow, Russian Federation
a.sherbakov@ronc.ru*

Sorokin D.V.

*Researcher, Department of Experimental Tumor Biology, Blokhin N.N. Na-
tional Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation
d.sorokin@ronc.ru*

Mikhaylova A.L.

*Laboratory Research Assistant, Department of Experimental Tumor Biology,
Blokhin N.N. National Medical Research Center of Oncology,
Moscow, Russian Federation
alexandra.mivl92@gmail.com*

Bogdanov F.B.

*Laboratory Research Assistant, Department of Experimental Tumor Biology,
Blokhin N.N. National Medical Research Center of Oncology,
Moscow, Russian Federation*

Shafranovskaya E.V.

*Candidate of Biology, Leading researcher, Institute of Bioorganic Chemistry,
National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

Lakhvich F.A.

*Academician, Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences
of Belarus, Minsk, Belarus*

lakhvich@iboch.by

Piven Y.A.

*Candidate of Chemistry, Head of the Laboratory of Prostaglandin Chemistry,
Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus,*

Minsk, Belarus

piven.ya@gmail.com

*The study presents newly designed isoxazole–thiazole compounds that act as dual HSP90/HER2 inhibitors, showing strong activity and selectivity against HER2-positive breast cancer cells. The lead molecule, **ATF-2**, demonstrated potency similar to lapatinib and effectively reduced the activity of HER2, EGFR, and CDK6, indicating its potential as a multi-target anticancer agent.*

Key words: *targeted therapy; breast cancer; heat shock protein 90 (HSP90); human epidermal growth factor receptor 2 (HER2); dual inhibitors*

Введение. Рак молочной железы является наиболее часто диагностируемым злокачественным новообразованием у женщин и второй ведущей причиной смерти от рака среди женщин во всем мире. Белок теплового шока 90 (HSP90) играет ключевую роль в созревании и поддержании стабильности широкого спектра онкопротеинов-мишеней [1]. Рецептор эпидермального фактора роста человека 2 (HER2) является молекулярным маркером для формирования группы пациентов с HER2-положительными новообразованиями. Это мембранный рецептор, который способствует быстрому делению злокачественных клеток. Моноклональные антитела (например, трастузумаб, пертузумаб, маргетуксимаб) и ингибиторы тирозинкиназы (например, лапатиниб, тукатиниб), нацеленные на HER2, показали эффективность при HER2-положительных видах рака [2]. Однако остаются проблемы, такие как лекарственная устойчивость, высокие производственные затраты и побочные эффекты. В настоящее время альтернативные терапевтические стратегии представляют большой интерес, особенно разработка двойных ингибиторов.

Целью данного исследования было разработать новые потенциальные двойные ингибиторы HSP90/HER2 на основе 4,5-дигидротиазоло[5',4':5,6]бензизоксазол-2-аминов и оценить их антипролиферативную активность.

Результаты и обсуждение. В нашей предыдущей работе, посвященной поиску новых ингибиторов HSP90, мы синтезировали ряд *O*-ацилированных (*E*)-3-арил-6,7-дигидробензизоксазол-4(5*H*)-он оксимов **isfp** [3] (рис. 1), некоторые из которых продемонстрировали умеренную антипролиферативную активность в

клетках рака молочной железы в низкой микромолярной концентрации. Все активные соединения содержали 3-(3-фторбензамидо)бензоат в качестве общего фрагмента — фармакофора, ингибирующего тирозинкиназы. Для ведущего соединения с Ar = 4-гидрокси-3-метоксифенил, известного как фармакофор, ингибирующий HSP90, мы показали, что антипролиферативный эффект в основном обусловлен ингибированием HSP90.

В другой нашей работе [4] мы разработали схему синтеза полициклических соединений, содержащих изоксазольные и тиазольные кольца, и применили ее для синтеза потенциального ингибитора HSP90 **actzl-11** (рис. 1), который продемонстрировал антипролиферативную активность против гормонозависимых клеток MCF-7 со значением концентрации полумаксимального ингибирования IC_{50} 9.5 μ M. На основе данных, полученных в этих двух работах, и наших предположений возникла идея, что гибридизация упомянутых молекул может стать возможной возможностью получения двойного ингибитора HSP90/HER2.

Мы предложили два изомерных соединения, **ATF-1** и **ATF-2** (рис. 1), которые потенциально могут ингибировать как HSP90, так и HER2. Для проверки гипотезы мы провели докинг этих соединений в АТФ-связывающий карман N-терминального домена (NTD) HSP90 α (PDB 6LTI) и АТФ-связывающий карман киназного домена HER2 (PDB 3PP0), выполнили моделирование молекулярной динамики в течение 200 нс для полученных комплексов, а затем рассчитали энтальпии связывания методом MM/GBSA. Аналогичные расчеты были проведены для известного ингибитора HSP90 люминеспиба и ингибитора HER2 лапатиниба. В результате получились характеристики, сопоставимые с известными ингибиторами, что говорит о перспективности предложенных соединений.

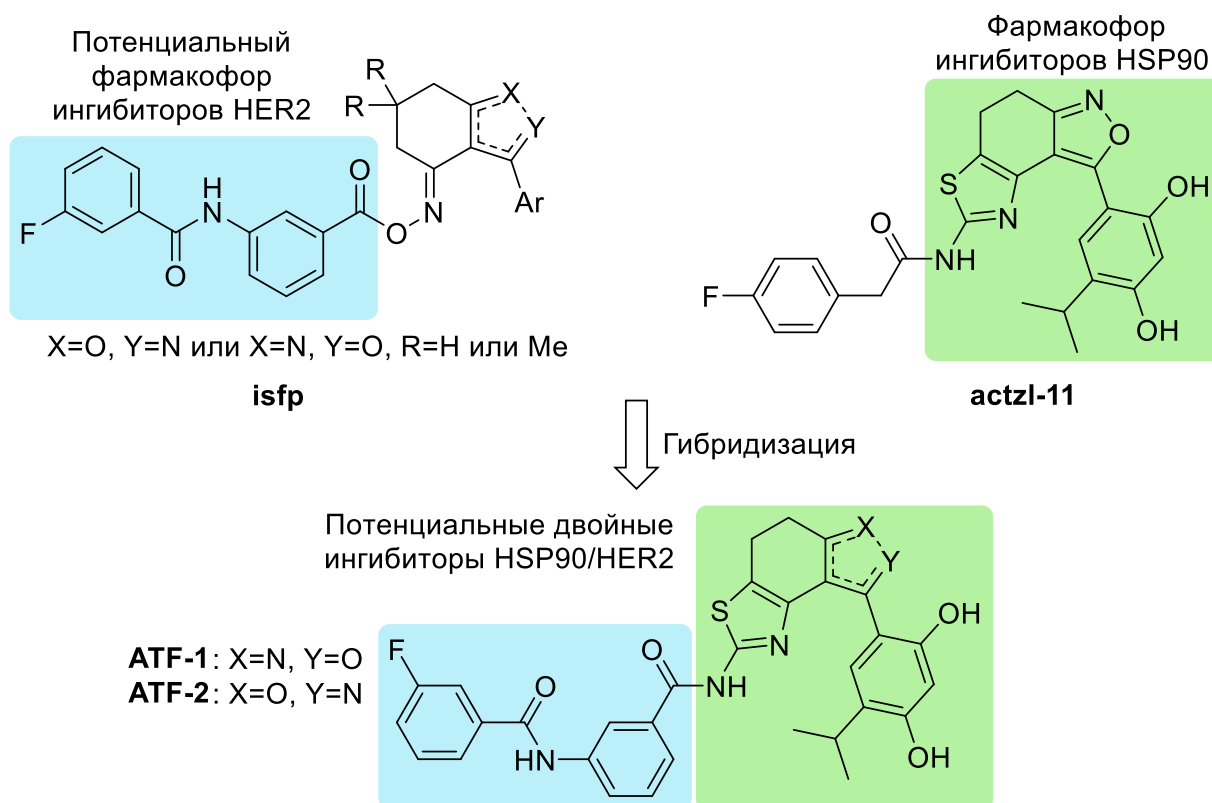


Рис. 1. Дизайн двойных ингибиторов HSP90/HER2

Для синтеза обоих целевых соединений был использован подход, разработанный ранее в нашей исследовательской группе [4]. На первом этапе региоизомерные бромиды **1** конденсировали с тиомочевина в ацетонитриле при кипячении в течение 8 ч. В этих условиях аминотиазолы **2a** и **2b** были получены с хорошими выходами 76 и 98 % соответственно. Затем проводили ацилирование аминотиазолов **2** ацилхлоридом **3** в присутствии триэтиламина и DMAP в CHCl_3 . Продукты **4a** и **4b** были получены с выходами 27 и 54 % соответственно. На последнем этапе метильные защитные группы снимали с соединений **4a** и **4b** с использованием избытка BBr_3 в качестве кислоты Льюиса в сухом DCM, что дало целевые соединения **ATF-1** и **ATF-2** с выходами 38 и 26 % соответственно (схема 1).

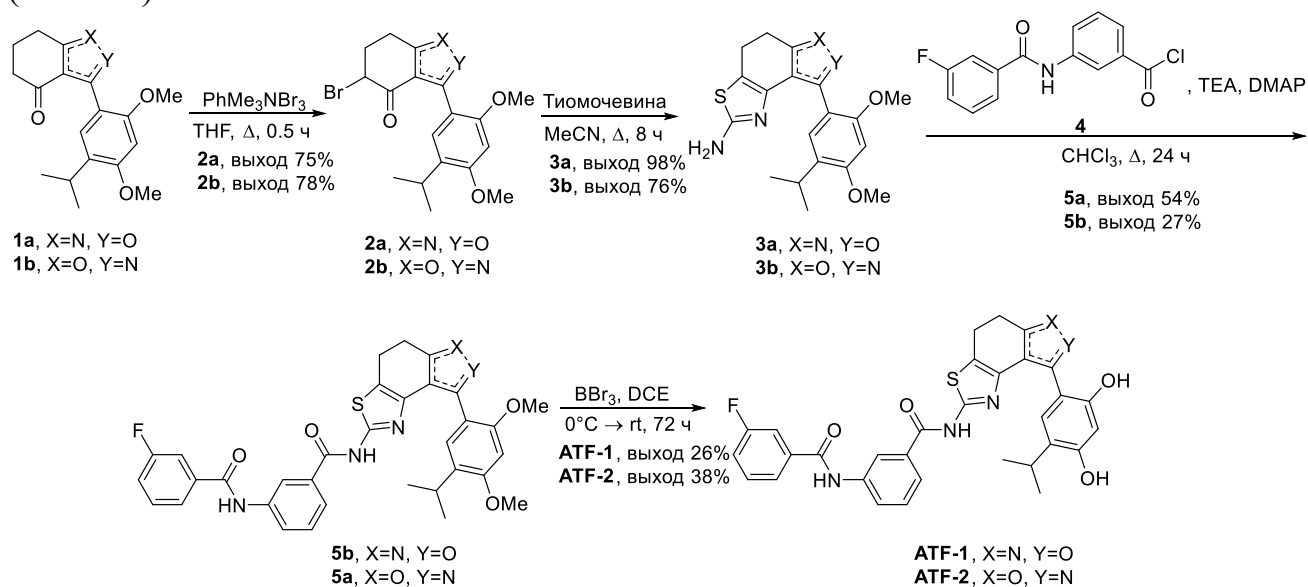


Схема 1

Для изучения антипролиферативной активности синтезированных гибридных соединений была выбрана клеточная линия рака молочной железы HCC1954. Ранее мы подтвердили высокий уровень экспрессии HER2 в этих клетках. В качестве эталонного препарата использовался известный ингибитор рецепторной тирозинкиназы лапатиниб. На основании полученных данных (таблица 1) можно заключить, что молекулы **ATF-1** и **ATF-2** обладают цитотоксической активностью в микромолярном диапазоне концентраций. Значения полуингибирующих концентраций (IC_{50}) были ниже 3 μM и сопоставимы с лапатинибом.

Таблица 1

Антипролиферативная активность и токсичность соединений ATF-1 и ATF-2

Соединение	Линии клеток		Индекс селективности
	HCC1954 IC_{50} , μM	hFB-hTERT IC_{50} , μM	
ATF-1	1.7 ± 0.3	17.5 ± 1.5	10
ATF-2	2.1 ± 0.4	5.5 ± 0.5	3
Лапатиниб	2.4 ± 0.3	12.8 ± 1.4	5
Люминеспиб	0.2 ± 0.01		

Для оценки селективности полученных соединений были проведены тесты на нормальных клетках — фибробластах hFB-hTERT. Полученные результаты показывают, что структурный изомер **ATF-1** обладает наибольшей селективностью по отношению к опухолевым клеткам. Примечательно, что индекс селективности **ATF-1** в два раза превосходит индекс селективности лапатиниба, что подчеркивает его потенциал для разработки таргетной терапии с уменьшенными побочными эффектами и улучшенным профилем безопасности. Соединение **ATF-2** продемонстрировало более низкую селективность по сравнению с **ATF-1**.

Следующим этапом биологических испытаний был иммуноблоттинг (рис. 2). Обнаружено, что ни **ATF-1**, ни **ATF-2** напрямую не влияли на экспрессию HSP90, при обработке 10 μM **ATF-2** наблюдалось значительное увеличение экспрессии HSP70, что служит маркером ингибирования HSP90. Обработка возрастающими концентрациями **ATF-1** привела к снижению уровня HER2 и его фосфорилированной формы (p-HER2) при концентрации 10 μM . Соединение **ATF-2** снижало экспрессию HER2 и p-HER2 уже при 1 μM , при этом значительное подавление наблюдалось при 10 μM . Также **ATF-2** ингибировал другой рецептор тирозин-киназы, EGFR, и его активированную форму (p-EGFR) при концентрации 10 μM . На основании этих данных можно сделать вывод, что **ATF-2** обладает большей селективностью в отношении HER2-зависимых клеток HCC1954 по сравнению с **ATF-1**.

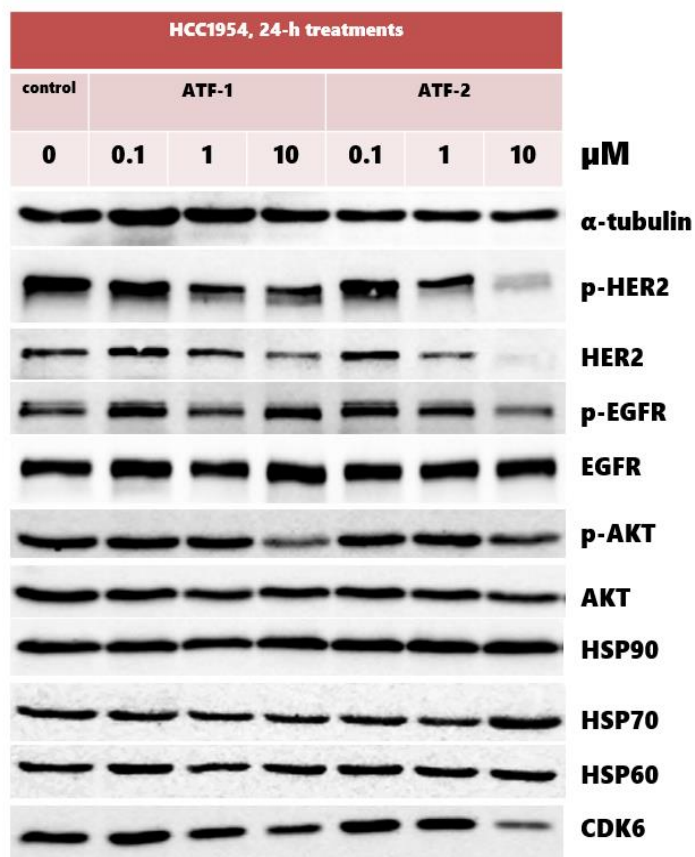


Рис. 2. Результаты иммуноблоттинга

Антипролиферативные эффекты синтезированных соединений были подтверждены снижением экспрессии фосфорилированного АКТ (p-АКТ) при концентрации 10 μM , что указывает на воздействие на сигнальный путь PI3K/АКТ/mTOR, который имеет решающее значение для регуляции клеточного цикла и прогрессирования опухоли. Еще один ключевой белок-мишень HSP90, циклин-зависимая киназа 6 (CDK6), играет важную роль в активации клеточного цикла в фазе G1. После инкубации с **АТФ-1** и **АТФ-2** экспрессия CDK6 снижалась при концентрации 10 μM .

Заключение. Таким образом, в ходе работы был разработан эффективный подход к синтезу 4,5-дигидротиазоло[5',4':5,6]бензизоксазол-2-амидов. С помощью этого подхода были получены два новых потенциальных двойных ингибитора HSP90/HER2. Все соединения показали высокую антипролиферативную активность против HER2-положительных клеток рака молочной железы HCC1954.

Благодарности. Авторы выражают благодарность за финансовую поддержку Белорусского фонда фундаментальных исследований (проект X22МС-030, химия) и Российского научного фонда (проект 24-15-00273, исследование сигнальных путей HSP90).

Список литературы

1. Yu, J. Pan- and isoform-specific inhibition of Hsp90: Design strategy and recent advances / J. Yu, C. Zhang, C. Song // *Eur. J. Med. Chem.* – 2022. – V. 238. – P. 114516–114534.
2. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial / Y.-J. Bang, E. Van Cutsem, A. Feyereislova [et al.] // *The Lancet.* – 2010. – Vol. 376, № 9742 – P. 687–697.
3. Piven Y. A., Yastrebova M. A., Khamidullina A. I., Scherbakov A. M., Tatarskiy V. V., Rusanova J. A., Baranovsky A. V., Zinovich V. G., Khlebnicova T. S., Lakhvich F. A. Novel O-acylated (E)-3-aryl-6,7-dihydrobenzisoxazol-4(5H)-one oximes targeting HSP90-HER2 axis in breast cancer cells // *Bioorg. Med. Chem.* – 2022. – Vol. 53. – P. 116521.
4. Piven Y. A. D., Scherbakov A. M. D., Yastrebova M. A., Sorokin D. V., Shchegolev Y. Y., Matous A. E., Zinovich V. G. D., Khlebnicova T. S. D., Lakhvich F. A. D. Effective synthesis of novel dihydrobenzisoxazoles bearing the 2-aminothiazole moiety and evaluation of the antiproliferative activity of their acylated derivatives // *Org. Biomol. Chem.* – 2021. – Vol. 19, № 47. – P. 10432-10443.

**БИОЦИДНЫЕ ПЛЕНКИ-ПЛАСТЫРИ, ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫЕ
АНТИСЕПТИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ, С ПРОЛОНГИРОВАННЫМ
ДЕЙСТВИЕМ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

Гунович М.А., Гриншпан Д.Д., Савицкая Т.А., Кимленко И.М.

Гунович М.А.

Студент химического факультета
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
tgunovich07@gmail.com

Гриншпан Д.Д.

Доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией учреждения
БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», г.
Минск, Беларусь
grinshpan@bsu.by

Савицкая Т.А.

Доктор химических наук, профессор кафедры физической химии и электрохимии
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
savitskayata@bsu.by

Кимленко И.М.

кандидат химических наук, заведующий кафедрой радиационной химии
и химико-фармацевтических технологий
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
kimlenka@bsu.by

Разработаны биоцидные плёнки-пластыри на основе поливинилового спирта, функционализированные антисептическими препаратами — бриллиантовым зелёным и йодом. Исследована кинетика высвобождения бриллиантового зелёного из полимерной матрицы в буферный раствор, имитирующий среду крови человека. Проведена оценка антибактериальной активности полученных плёнок методом диско-диффузионного анализа. Разработанные плёнки обеспечивают пролонгированное действие активных компонентов в сравнении с традиционным аптечным формами выпуска этих препаратов, вследствие чего могут рассматриваться как перспективная основа для создания эффективных раневых покрытий с пролонгированным действием.

Ключевые слова: поливиниловый спирт; бриллиантовый зелёный; йод; пролонгированное действие; антибактериальная активность.

BIOCIDAL FILMS FUNCTIONALIZED WITH ANTISEPTIC AGENTS, PROVIDING PROLONGED ACTION OF ACTIVE SUBSTANCES

Gunovich M.A.

Student of the Faculty of Chemistry of the Educational Institution

«Belarusian State University», Minsk, Belarus

mgunovich07@gmail.com

Grinshpan D.D.

Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of the BSU «Institu-

tion "Research Institute of Physical and Chemical Problems», Minsk, Belarus

grinshpan@bsu.by

Savitskaya T.A.

Doctor of Chemical Sciences, Professor of the Department of Physical Chemistry and

Electrochemistry of the Educational Institution «Belarusian State University»,

Minsk, Belarus

savitskayata@bsu.by

Kimlenka I.M.

Candidate of Chemical Sciences, Head of the Department of Radiation Chemistry and

Chemical-Pharmaceutical Technologies of the Educational Institution «Belarusian

State University», Minsk, Belarus

kimlenka@bsu.by

Biocidal films based on polyvinyl alcohol, functionalized with antiseptic agents — brilliant green and iodine — have been developed. The release kinetics of brilliant green from the polymer matrix into a buffer solution simulating human blood medium were studied. The antibacterial activity of the resulting films was evaluated using the disk diffusion method. The developed films provide a more controlled release of active components compared to conventional pharmaceutical forms of antiseptic agents, and therefore can be considered a promising basis for creating effective wound dressings with prolonged action.

Key words: *polyvinyl alcohol; brilliant green; iodine; prolonged action; antibacterial activity.*

Современная клиническая практика предъявляет высокие требования к местным антисептическим средствам и перевязочным материалам. Классические формы антисептиков: водные и спиртовые растворы, — а также традиционные пластырные материалы характеризуются рядом недостатков. К ним относятся: кратковременность действия вследствие химической деградации в атмосфере окружающей среды; неконтролируемое высвобождение активного вещества; риск химического ожога и повреждения грануляционной ткани при использовании агрессивных агентов; а также необходимость частой смены повязки, что травмирует заживающую поверхность и снижает комплаентность пациентов.

Решением данной проблемы является разработка инновационных раневых покрытий в форме биосовместимых многокомпонентных полимерных пленок, обеспечивающих пролонгированное высвобождение антисептических препаратов.

Бриллиантовый зелёный (БЗ) является классическим антисептиком, принадлежащим к группе трифенилметановых красителей. Он способен проявлять выраженное бактерицидное воздействие, не повреждая при этом ткани и не угнетая процессы их регенерации, что позволяет использовать его как компонент раневых повязок.

Нами разработаны рецептуры формовочных композиций и получены пленки состава поливиниловый спирт (ПВС) — БЗ. Водно-спиртовой раствор БЗ использовали в качестве растворителя. Стоит отметить, что такой способ введения красителя является оптимальным, т.к. при попытке его введения в уже готовые плёнки путем их набухания в водно-спиртовом растворе БЗ добиться результата не удалось. Пленки сушили при температуре окружающей среды. Концентрация БЗ в пленке — $1,12 \text{ мг/см}^2$.

Для оценки кинетики высвобождения БЗ из пленок в модельную среду крови (фосфатный буферный раствор с pH 7.25) образцы размером $1 \times 1 \text{ см}$ выдерживали в 4 см^3 буферного раствора в темноте. Изменение оптической плотности полученных растворов во времени определяли при длине волны $\lambda=625 \text{ нм}$, которая соответствует максимуму поглощения БЗ. Концентрацию БЗ, вышедшего из пленки в среду буферного раствора, определяли по градуировочному графику.

Кинетические кривые высвобождения БЗ зеленого из пленки в раствор, имеют выраженный нелинейный характер с выходом на плато. Уже на первой минуте в раствор переходит 7,0 % активного компонента. Затем процесс ускоряется: к 5 минутам высвобождается 35,4 %, а к 15 минутам — 61,9 %. Далее скорость высвобождения снижается, но процесс продолжается и через 60 мин равновесное содержание БЗ в растворе составляет 92,9 % от исходного содержания красителя в пленке. Таким образом, в среде, имитирующей pH человеческой крови, за один час происходит практически полное высвобождение БЗ (рис. 1, а)

Процесс высвобождения БЗ из нетканого материала, используемого в качестве основы промышленно выпускаемых бактерицидных пластырей, протекает значительно быстрее. Уже на первой минуте в раствор переходит 15,9 % бриллиантового зеленого, а к 10 минуте этот показатель достигает 76,6 %. Через 60 минут концентрация активного вещества в растворе составляет 97,2 %, что свидетельствует о практически полном и более быстром высвобождении БЗ из пластыря по сравнению с пленкой. (рис. 1, б)

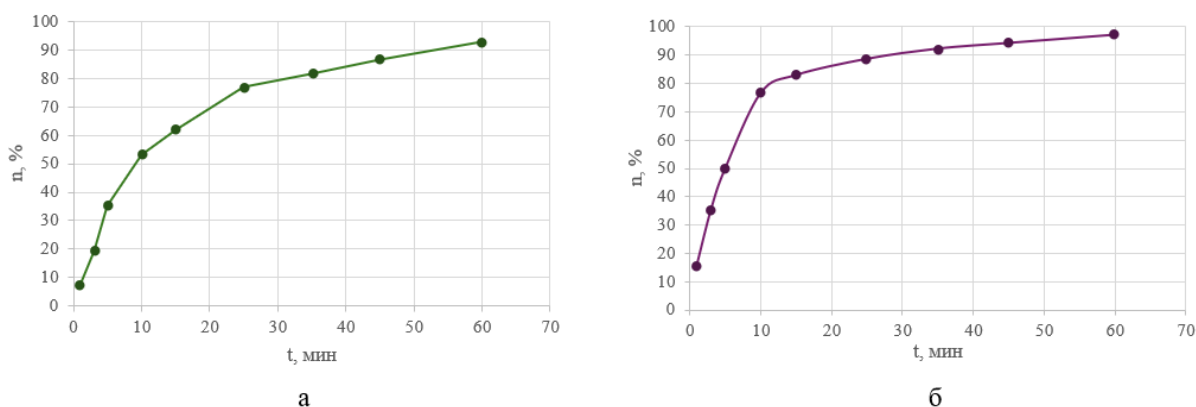


Рис. 1. Кинетика высвобождения бриллиантового зеленого в буфер с pH 7.25
а — из полимерной пленки; б — из материала аптечного пластыря

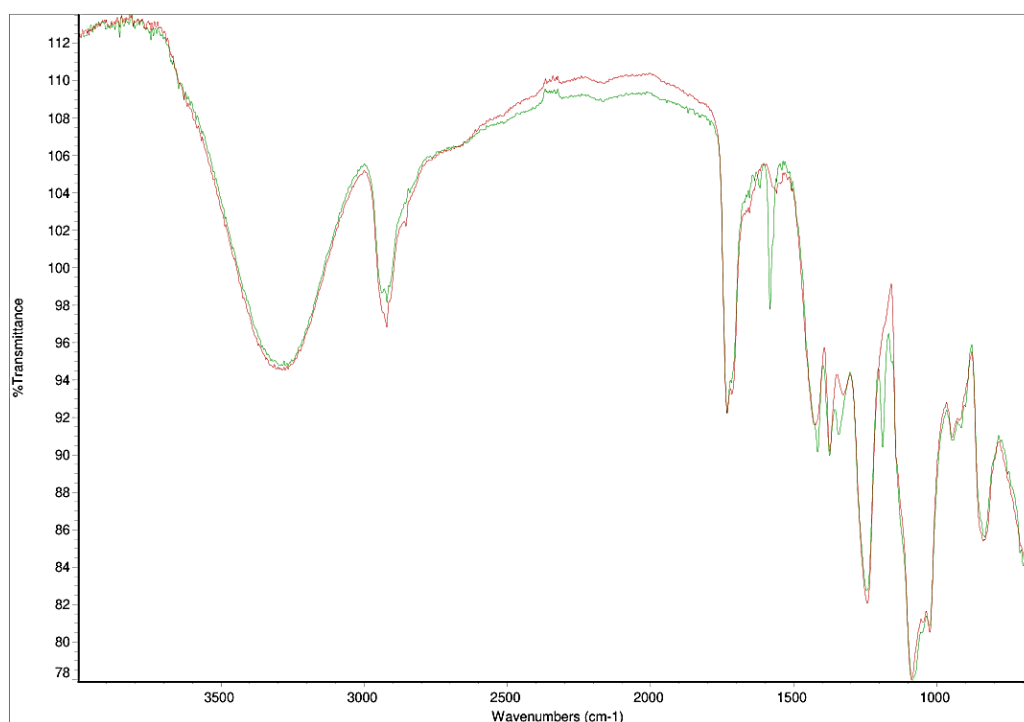


Рис. 2. ИК-спектры полимерных пленок состава (красная полоса) — ПВС, (зеленая полоса) — ПВС-БЗ

Методом ИК-спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) был проведен сравнительный анализ структурных характеристик пленок состава ПВС и ПВС-БЗ. В спектре пленки из чистого полимера (рис. 2, а) присутствуют все характеристические полосы, типичные для частично омыленного ПВС. Спектр пленки, содержащей бриллиантовый зеленый (рис. 2, б), имеет ряд отличий, подтверждающих включение антисептического препарата в полимерную матрицу. В спектре ПВС-БЗ появляются полосы ароматических колец трифенилметанового красителя при 1581, 1511, 1043, 1003 и 831 см^{-1} , при этом узкие пики кристаллической фазы отсутствуют, что свидетельствует о молекулярно-дисперсном распределении антисептика в объеме полимера. Низкочастотный сдвиг полосы $\nu(\text{O}-\text{H})$ с 3275 см^{-1} до 3264 см^{-1} , указывает на образование водородных связей между гидроксилами ПВС и аминогруппами красителя. Такое межмолекулярное взаимодействие замедляет диффузию молекул антисептика из полимерной фазы в жидкость, что и обеспечивает наблюдаемое в эксперименте замедление кинетики высвобождения БЗ из пленки по сравнению с пластырем.

Наряду с БЗ одним из наиболее эффективных антисептических препаратов признан йод благодаря своей способности быстро проникать через клеточные стенки микроорганизмов и вызывать окисление аминокислот и нуклеиновых кислот, что приводит к необратимой гибели бактерий, грибов и вирусов. Однако именно этот мощный окислительный механизм делает традиционные спиртовые растворы йода потенциально опасными для живых тканей человеческого организма: при прямом нанесении на рану или длительном контакте он может вызывать окисление и

денатурацию клеточных белков, что проявляется в виде химического ожога, некроза поверхностных тканей и замедления процессов заживления [1].

Современная фармацевтическая практика решила эту проблему за счет способности молекулярного йода образовывать прочные комплексы с полимерными носителями. Например, известны такие лекарственные препараты как «Повидон-йод» и «Йодинол», в составе которых присутствуют полимеры поливинилпирролидон и поливиниловый спирт в виде растворов. Как отмечается в медицинской литературе, связывание йода в йодофорные комплексы обеспечивает постепенное, контролируемое высвобождение активного вещества, за счет чего такие препараты сохраняют высокую антимикробную активность, но при этом гораздо безопаснее и лучше переносятся пациентами [2].

Нами разработаны пленки из поливинилового спирта с добавлением йода в качестве антисептического агента. Йод в полимерный раствор вводили в форме аптечной водно-спиртовой настойки, в составе которой молекулярный йод и иодид калия. Сушку таких пленок проводили при комнатной температуре, так как при нагревании йодофорный комплекс разрушается и йод высвобождается из пленки, что сопровождается ее обесцвечиванием. Концентрация йода в полученных пленках составляла 0,24 мг/см².

Для оценки возможности применения разработанных пленок в качестве биоцидных пластырей провели анализ антибактериальной активности образцов диско-диффузионным методом. В ходе эксперимента образцы пленок вместе с посевом бактерий помещали в питательную среду. С течением времени наблюдали появление либо отсутствие зон ингибирования роста бактерий вокруг дисков исследуемых образцов. В качестве грамотрицательных бактерий в эксперименте использовали кишечную палочку *Escherichia coli* и почвенную бактерию *Azotobacter chroococcum*.

Для образцов пленок из поливинилового спирта, не содержащих антисептических добавок, зон ингибирования относительно *Escherichia coli* обнаружено не было. Та же ситуация наблюдалась и для пленок, содержащих йод. Для плёнок, содержащих БЗ, наблюдались значительные зоны ингибирования.

Контролем служил водный раствор антибиотика доксициклина в концентрации 0,175 мг/см³, нанесенный на фильтровальную бумагу.

Таблица 1

Размер зон ингибирования относительно *Escherichia coli*

Номер Опыта \ Состав пленки	ПВС без добавок	ПВС с БЗ	ПВС с йодом	Доксициклин (0,175 мг/мл)
1	0 мм	18 мм	0 мм	16 мм
2	0 мм	19 мм	0 мм	17 мм
3	0 мм	18 мм	0 мм	16 мм
4	0 мм	19 мм	0 мм	17 мм
5	0 мм	19 мм	0 мм	17 мм
Среднее	0 мм	18,6 ± 0,5 мм	0 мм	16,6 ± 0,6 мм

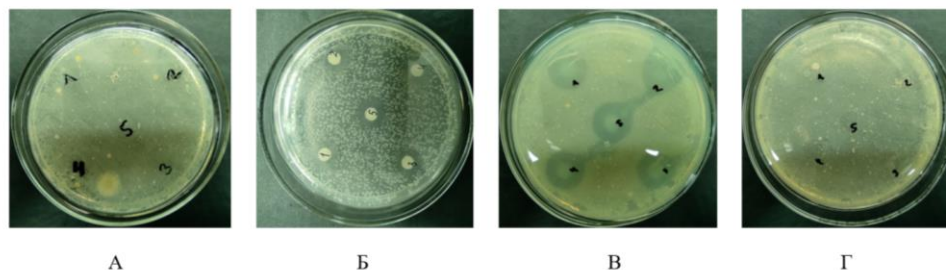


Рис. 3. Зоны ингибирования относительно *Escherichia coli* для образцов состава а — ПВС без добавок; б — доксициклин; в — ПВС с бриллиантовым зеленым, г — ПВС с йодом

Достоверность различия антимикробных эффектов двух образцов рассчитывали с помощью t-критерия Стьюдента по уравнению 1.

$$t = \frac{|\langle x_1 \rangle - \langle x_2 \rangle|}{\sqrt{S_{\langle x_1 \rangle}^2 + S_{\langle x_2 \rangle}^2}}, \text{ где} \quad (1)$$

t — t-критерий Стьюдента,
 $\langle x_i \rangle$ — средний размер зоны ингибирования для i-го образца,
 $S_{\langle x_i \rangle}^2$ — стандартное квадратичное отклонение для величины $\langle x_i \rangle$.

Для образцов с доксициклином и пленок с БЗ $t = 2,12$. Различия не достоверны. Отсутствие достоверности различий с контролем — явный признак того, что пленки состава ПВС с БЗ в отношении штамма *Escherichia coli* по антибактериальному действию не уступают антибиотику.

В отношении почвенных бактерий *Azotobacter chroococcum* образцы плёнок с обоими антисептиками проявили высокую активность.

Средний диаметр зоны ингибирования для пленок, содержащих йод, составил $11,8 \pm 0,7$ мм, что статистически значимо ниже показателя антибиотика доксициклина ($21,8 \pm 0,4$ мм) согласно t-критерию Стьюдента ($t = 2,4$). В случае пленок ПВС-БЗ размер зоны ингибирования составил $28,4 \pm 0,5$ мм, что еще более статистически значимо выше показателя доксициклина согласно t-критерию Стьюдента ($t = 8,2$).

Таблица 2

Размер зон ингибирования относительно *Azotobacter chroococcum*

Номер Опыта \ Состав пленки	ПВС без добавок	ПВС с БЗ	ПВС с йодом	Доксициклин (0,175 мг/мл)
1	0 мм	28 мм	13 мм	22 мм
2	0 мм	29 мм	12 мм	21 мм
3	0 мм	29 мм	11 мм	22 мм
4	0 мм	28 мм	12 мм	22 мм
5	0 мм	28 мм	11 мм	22 мм
Среднее	0 мм	$28,4 \pm 0,5$ мм	$11,8 \pm 0,7$ мм	$21,8 \pm 0,4$ мм

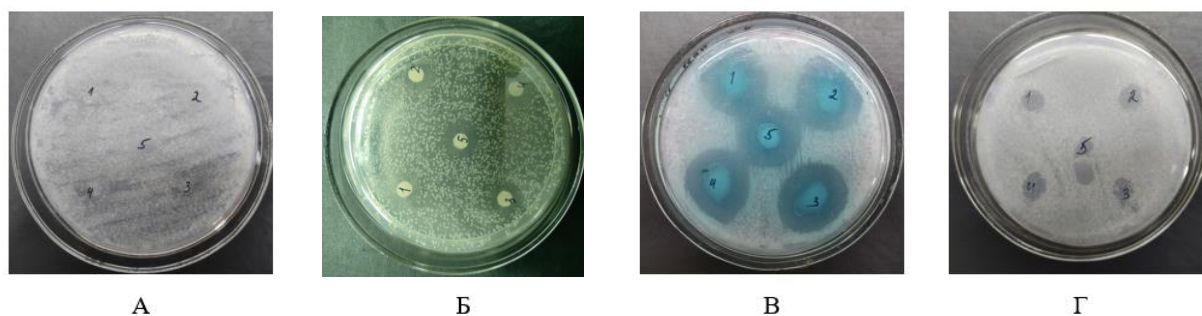


Рис. 4. Зоны ингибирования относительно *Azotobacter chroococcum* для образцов состава: а — ПВС без добавок, б — доксициклин, в — ПВС с бриллиантовым зеленым, г — ПВС

Таким образом, разработаны и охарактеризованы биоцидные пленки-пластыри на основе ПВС, содержащие БЗ и йод. Оценка кинетики высвобождения активных ингредиентов *in vitro* продемонстрировала преимущество новой трансдермальной формы доставки известных антисептиков — пролонгированное высвобождение антисептического агента. Микробиологический скрининг методом диско-диффузионного анализа подтвердил высокую антибактериальную активность разработанных материалов.

Список литературы

1. Bactericidal Activity and Toxicity of Iodine-Containing Solutions in Wounds / G. Rodeheaver, M.T. Edlich, J.G. Thacker, L. Panek, R.F. Edlich // Archives of Surgery. — 1982. — Vol. 117, Issue 2. — P. 181–186. — DOI: 10.1001/archsurg.1982.01380260039009.
2. Povidone-iodine: broad-spectrum antiseptic forms and application / ViolaPharm. — [Zaporozhye], 2025. — URL: <https://violapharm.com/en/povidone-iodine-broad-spectrum-antiseptic-forms-application/> (дата обращения: 15.04.2026).

**ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
В БИОХИМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ КРОВИ У РЕЦИПИЕНТОВ
В ТЕЧЕНИЕ 1 МЕСЯЦА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЛЕГКИХ**

Дикун Д.А., Мурашко Д.И.

Дикун Д.А.

*Студент УО «Белорусского государственного медицинского университета»,
г. Минск, Беларусь
darya.dikun@mail.ru*

Мурашко Д.И.

*Кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры биологической химии УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
sherstyanoymurovei@mail.ru*

Исследование включает результаты ретроспективного исследования показателей биохимических анализов крови 60 пациентов, которым была проведена трансплантация легких. В данной статье изложены особенности изменений показателей биохимического анализа крови у пациентов после трансплантации легких, выявлены закономерности изменений некоторых из них в зависимости от временной точки проведения анализа и исхода для пациента.

Ключевые слова: биохимический анализ крови, трансплантация легких

**PROGNOSTIC VALUE OF CHANGES IN BLOOD BIOCHEMICAL
ANALYSIS IN RECIPIENTS WITHIN 1 MONTH AFTER LUNG
TRANSPLANTATION**

Dikun D.A.

*Student of the Belorussian State Medical University, Minsk, Belarus
darya.dikun@mail.ru*

Murashko D.I.

*Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer at the Department of Biological Chemistry, Belarusian State University, Minsk, Belarus
sherstyanoymurovei@mail.ru*

The study includes the results of a retrospective examination of biochemistry blood test in 60 patients who underwent lung transplantation. This article describes the characteristics of changes in blood biochemistry parameters in patients after lung transplantation, identifying patterns of changes in certain parameters depending on the time of the analysis and the patient's outcome.

Key words: blood test, lung transplantation

Трансплантация легких выступает в качестве эффективного метода лечения пациентов с терминальными стадиями заболеваний респираторной системы в случае ухудшающегося состояния пациента и неэффективности консерватив-

ного лечения или иных методов хирургического лечения. Ежегодно в мире проводится более 4600 трансплантаций легких. Медиана выживаемости пациентов после данной операции по всему миру составляет 6,2 года и повышается до 8,3 лет в случае, если они живы на момент через год после трансплантации [1, 2]. Таким образом, важное значение приобретает поиск показателей, которые позволят как можно раньше судить о предполагаемом исходе операции и прогнозе заболевания. Детальное исследование динамики состояния пациентов в посттрансплантационный период с помощью доступных лабораторных показателей позволит повысить эффективность послеоперационного лечения и своевременно корректировать его тактику.

Проведено ретроспективное исследование: анализ медицинских карт 60 стационарных пациентов, которым была проведена билатеральная трансплантация легких на базе ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии». Пациенты разделены на группы с благоприятным (живы на момент через год после трансплантации) и неблагоприятным исходом (умерли после трансплантации вследствие осложнений). Проанализированы результаты биохимических исследований крови всех пациентов во временных точках: через сутки, неделю, 1 месяц после билатеральной трансплантации легких. Анализируемые показатели биохимического исследования крови: общий белок, альбумин, мочевины, креатинин, общий билирубин, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), С-реактивный белок. Статистический анализ проводился при помощи пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 23 (США). Нормальность распределения значений показателей в выборках оценена при помощи критерия Шапиро-Уилка. Рассчитывались медиана и интерквартильный размах. Для оценки динамики биохимических показателей крови во времени применялся непараметрический критерий Фридмана. Парные сравнения значений между временными точками проводились с использованием критерия Вилкоксона для связанных выборок. Сравнение значений показателей между группами пациентов с различным исходом осуществлялось при помощи критерия Манна-Уитни для независимых выборок. Критерий статистической значимости для всех видов анализа составил $p < 0,05$.

В группе пациентов с благоприятным исходом отмечены статистически значимые различия уровня в крови общего белка, альбумина, общего билирубина, мочевины, креатинина, АЛТ, АСТ, С-реактивного белка. Так, концентрация общего белка (г/л) в крови пациентов с благоприятным исходом через неделю после трансплантации (53,05 [48,00;58,25] оказалась выше, чем через сутки (50,95 [48,45;54,33], $p < 0,05$). Через месяц после операции уровень этого показателя был еще выше (59,00 [53,60;67,60], $p < 0,01$, по сравнению с уровнем показателя как в первые сутки, так и через неделю). При неблагоприятном исходе заболевания уровень показателя значимо не изменялся в течение первого месяца после трансплантации.

Концентрация альбумина (г/л) в крови пациентов с благоприятным исходом существенно снижается в первую неделю после операции (через сутки - 33,00 [31,80;37,35], через неделю — 32,00 [29,65;33,70], $p < 0,05$), однако через месяц она повышается (34,65 [33,00;38,30]) и значимо не отличается от таковой через

сутки. В группе с неблагоприятным исходом статистически значимые изменения этого показателя в течение месяца отсутствуют. Стоит отметить, что концентрация альбумина в крови пациентов с неблагоприятным исходом была существенно ниже, чем при благоприятном исходе через месяц после операции ($p < 0,05$), однако через сутки, через неделю значимые различия между уровнем показателя и исходом для пациента не обнаружены.

Концентрация общего билирубина (мкмоль/л) через сутки после операции в крови пациентов с благоприятным исходом составляет 27,55 [15,55;52,75], через неделю — 11,50 [7,15;19,73] ($p < 0,01$) а через месяц — 7,60 [4,93;12,95] ($p < 0,01$, $p < 0,05$, по сравнению с уровнем через сутки и через неделю, соответственно). При неблагоприятном исходе через сутки уровень этого показателя в крови не демонстрирует статистически значимых различий в течение первого месяца после операции.

Активность АСТ (Ед/л) в крови при благоприятном исходе операции через сутки после нее составляет 64,50 [48,85;84,60] и уже через неделю после нее снижается в три раза (21,50 [15,70;30,85], $p < 0,01$). Через месяц она еще ниже — 17,00 [11,50;20,50] ($p = 0,01$, по сравнению с активностью через неделю). В случае иного исхода операции через сутки активность АСТ составляет 109,10 [62,00;153,75], что значительно выше, чем при благоприятном исходе ($p < 0,05$). Она также существенно снижается через неделю (38,00 [19,00;142,00], $p < 0,01$, по сравнению с активностью в первые сутки, но остается существенно более высокой, чем при благоприятном исходе в этой же точке ($p < 0,05$). Через месяц после проведенного лечения в крови пациентов, умерших в посттрансплантационный период, активность АСТ составила 27,00 [15,50;37,35], что ниже, чем через сутки после операции ($p < 0,01$), но не отличается от таковой через неделю после нее.

Концентрация С-реактивного белка (мг/л) в крови при благоприятном исходе в первые сутки после операции — 136,60 [76,35;181,55]. Отмечена тенденция к снижению его уровня в крови через неделю (87,00 [47,85;143,33], $p = 0,07$), а через месяц его концентрация существенно ниже — 17,85 [5,63;63,63] ($p < 0,01$ по сравнению с уровнем как через сутки, так и через неделю). В случае иного исхода концентрация С-реактивного белка динамически не изменяется в течение месяца после операции. В то же время, в ходе исследования отмечен его существенно более высокий уровень через сутки в крови пациентов с благоприятным исходом по сравнению с пациентами с неблагоприятным исходом ($p < 0,05$), при этом через неделю и месяц после операции статистически значимых различий между значениями уровня показателя в разных группах не наблюдалось.

В группах пациентов как с благоприятным, так и с неблагоприятным исходом концентрация мочевины в крови в равной степени повышалась в течение первой недели после операции ($p < 0,05$), однако впоследствии не демонстрировала существенных изменений ни в одной из групп. Уровень креатинина и АЛТ в крови также не показал существенных изменений в крови пациентов в течение месяца вне зависимости от исхода.

Таким образом, концентрация общего билирубина, общего белка и С-реактивного белка в крови в первый месяц после трансплантации легких демонстрирует наиболее выраженные динамические изменения в крови пациентов с благоприятным исходом, при неблагоприятном исходе они не изменялись. Особенности изменения этих показателей в ранний постоперационный период потенциально могут использоваться в клинике для прогнозирования исхода трансплантации легких для пациента.

Список литературы

1. Lau, C.L. Current status of lung transplantation / C.L. Lau, G.A. Patterson // European Respiratory Journal. – 2003. – №22. – P. 57–64.
2. Christie, J.D. Lung Transplantation / J. D. Christie, D. Van Raemdonck, A. J. Fisher // The New England Journal of Medicine. – 2024. – №391, P. 1822–1836.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ СОЛЕЙ МЕТАЛЛОВ И ФАРМАКОФОРНЫХ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

**Дикусар Е.А., Маргун Е.Н., Ахламенок Т.П., Филиппович Л.Н., Стёпин С.Г.,
Богданова Н.В.**

Дикусар Е.А.

Кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии гетероциклических соединений государственного научного учреждения «Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси»,

г. Минск, Беларусь

digusar@ifoch.bas-net.by

Маргун Е.Н.

Младший научный сотрудник, магистрант лаборатории химии гетероциклических соединений государственного научного учреждения «Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси»,

г. Минск, Беларусь

margunen@ifoch.bas-net.by

Ахламенок Т.П.

Младший научный сотрудник, магистрант лаборатории химии биоконъюгатов государственного научного учреждения

«Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси»,

г. Минск, Беларусь

t.akhlamionak@gmail.com

Филиппович Л.Н.

Кандидат химических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории химии гетероциклических соединений государственного научного учреждения

«Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси»,

г. Минск, Беларусь

luda1977@list.ru

Стёпин С.Г.

Кандидат химических наук, доцент кафедры общей и органической химии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,

г. Витебск, Беларусь

stepins@tut.by

Богданова Н.В.

Старший преподаватель кафедры экологической химии и биохимии УО «Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова»

Белорусского государственного университета,

г. Минск, Беларусь

tasha.bo@mail.ru

*В данной статье представлены схемы получения и предварительные пилотные результаты по антимикробной активности солей широкого набора переходных металлов и ряда фармакофорных карбоновых кислот по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Дана оценка антимикробной активности этих соединений методом диффузии в агар. Сделаны выводы о*

наиболее и наименее перспективных металлах для их использования в составе антисептических средств для наружного применения.

Ключевые слова: антимикробная активность, переходные металлы, соли фармакофорных карбоновых кислот, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF METAL SALTS AND PHARMACOPHORIC CARBOXYLIC ACIDS

Dikusar E.A.

Candidate of Chemical Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Heterocyclic Compound Chemistry, Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
digusar@ifoch.bas-net.by

Margun E.N.

Junior Researcher, Master's Student of the Laboratory of Heterocyclic Compound Chemistry, Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
margunen@ifoch.bas-net.by

Akhlamionok T.P.

Junior Researcher, Master's Student of the Laboratory of Bioconjugate Chemistry, Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
t.akhlamionak@gmail.com

Filippovich L.N.

Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Senior Researcher at the Laboratory of Heterocyclic Compound Chemistry, Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
luda1977@list.ru

Stepin S.G.

Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of the Department of General and Organic Chemistry at the Vitebsk State Order of Friendship of Peoples Medical University, Vitebsk, Belarus
stepins@tut.by

Bogdanova N.V.

Senior Lecturer of the Department of Environmental Chemistry and Biochemistry of the Sakharov International State Ecological Institute of the Belarusian State University, Minsk, Belarus
tasha.bo@mail.ru

*This paper presents synthetic schemes and preliminary results on the antimicrobial activity of salts of a wide range of transition metals and several pharmacophoric carboxylic acids against strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Antimicrobial activity was assessed using the agar diffusion method. The most and least promising metals for use in topical antiseptic formulations were identified.*

Key words: antimicrobial activity, transition metal salts, salts of phosphoric carboxylic acids, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

Соединения на основе металлов имеют долгую историю применения в качестве антибактериальных средств и привлекают большой интерес в рамках борьбы с устойчивостью к антибиотикам [1]. Ионы металлов имеют уникальный многоцелевой механизм действия (воздействуют на клеточные мембраны, входят в состав металлоферментов, ингибиторов/регуляторов системы захвата/оттока, являются индукторами окислительного стресса) в отличие от органических антибиотиков, которые действуют на специфические мишени на таких биохимических путях, как репликация, транскрипция, трансляция и ферментативная реакция [1, 2]. Помимо наиболее привычных комплексов висмута, серебра, платины и меди активно изучаются также соединения таких металлов, как кобальт, никель, марганец и олово и [3–6].

Цель данной работы состояла в синтезе медных 7–12 и цинковых 13–17 солей хинальдиновой (2-хинолинкарбоновой) 1, цинхофена (2-фенилхинолин-4-карбоновой) 2, 4,5-дихлоризотиазол-3-карбоновой 3, 5-аминооротовой (5-амино-2,6-диоксо-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-карбоновой) 4, 2-(4-диметиламинобензил)-3-оксо-изоиндолин-4-карбоновой 5 и 2-(3,4-диметоксифенэтил)-1-оксо-1,2,3,6,7,7а-гексагидро-3а,6-эпоксизоиндол-7-карбоновой 6 кислот и оценке их антимикробной активности методом диффузии в агар (рис. 1). Интерес к биоактивным соединениям обусловлен поиском новых лекарственных субстанций [7–10].

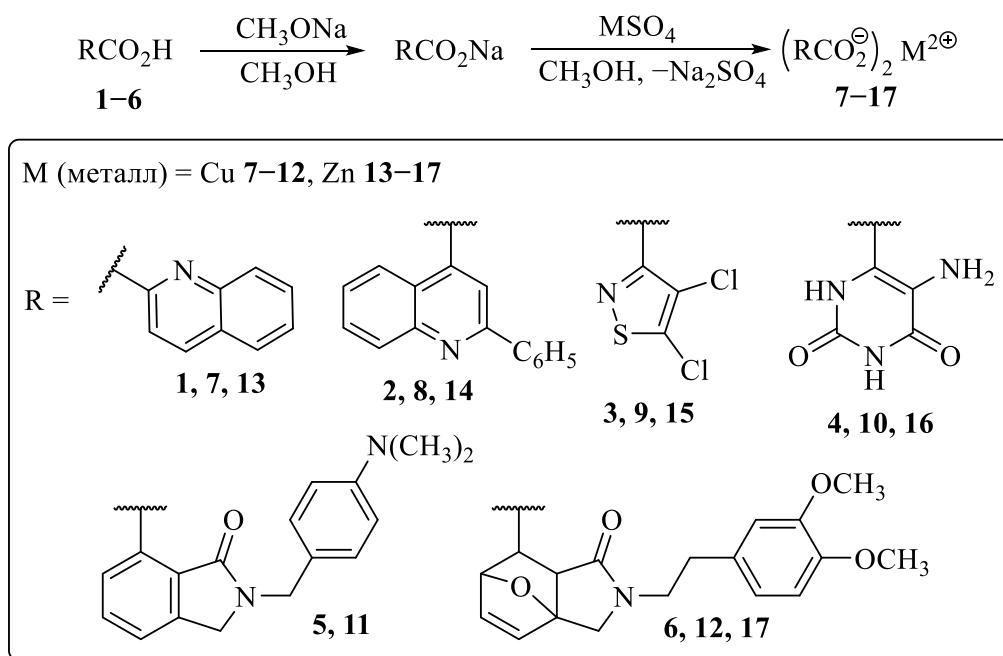


Рис. 1. Схема синтеза медных и цинковых солей 7–17

В результате исследования антимикробной активности к *Staphylococcus aureus* установлено, что в отношении грамположительного тест микроорганизма *Staphylococcus aureus* исследуемые образцы 10 и 11 проявляют умеренную антибактериальную активность (в диапазоне 11-12 мм зоны задержки роста), образцы

8 и **12** проявляют слабую антибактериальную активность (в диапазоне 7–9 мм зоны задержки роста), образцы **7** и **9** не проявили антибактериальной активности в отношении исследуемого штамма.

В результате антимикробного исследования установлено, что в отношении грамположительного тест микроорганизма *Staphylococcus aureus* исследуемые образцы **15**, **14**, **17** проявляют слабую антибактериальную активность (в диапазоне 8–9 мм зоны задержки роста), образцы **13** и **16** не проявили антибактериальной активности в отношении исследуемого штамма.

В отношении грамотрицательного тест микроорганизма *Escherichia coli* умеренную антибактериальную активность проявляют образцы **15**, **14**, **17** (в диапазоне 10–13 мм зоны задержки роста), слабую антибактериальную активность проявил образец **13** (в диапазоне 7 мм зоны задержки роста), образец **16** не проявил антибактериальной активности в отношении исследуемого штамма.

По полностью аналогичной методике были синтезированы соли цинхофена **2**, хинальдиновой кислоты **1**, 4-(9,9-диметил-11-оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[а]акридин-12-ил)бензойной кислоты **18** и следующих металлов: меди (соль **19**), цинка **20**, кобальта **21**, **22**, никеля **23**, бария **24**, марганца **25**, олова **26**, **27**, иттрия **28**, **29** и индия **30**, **31** (рис. 2).

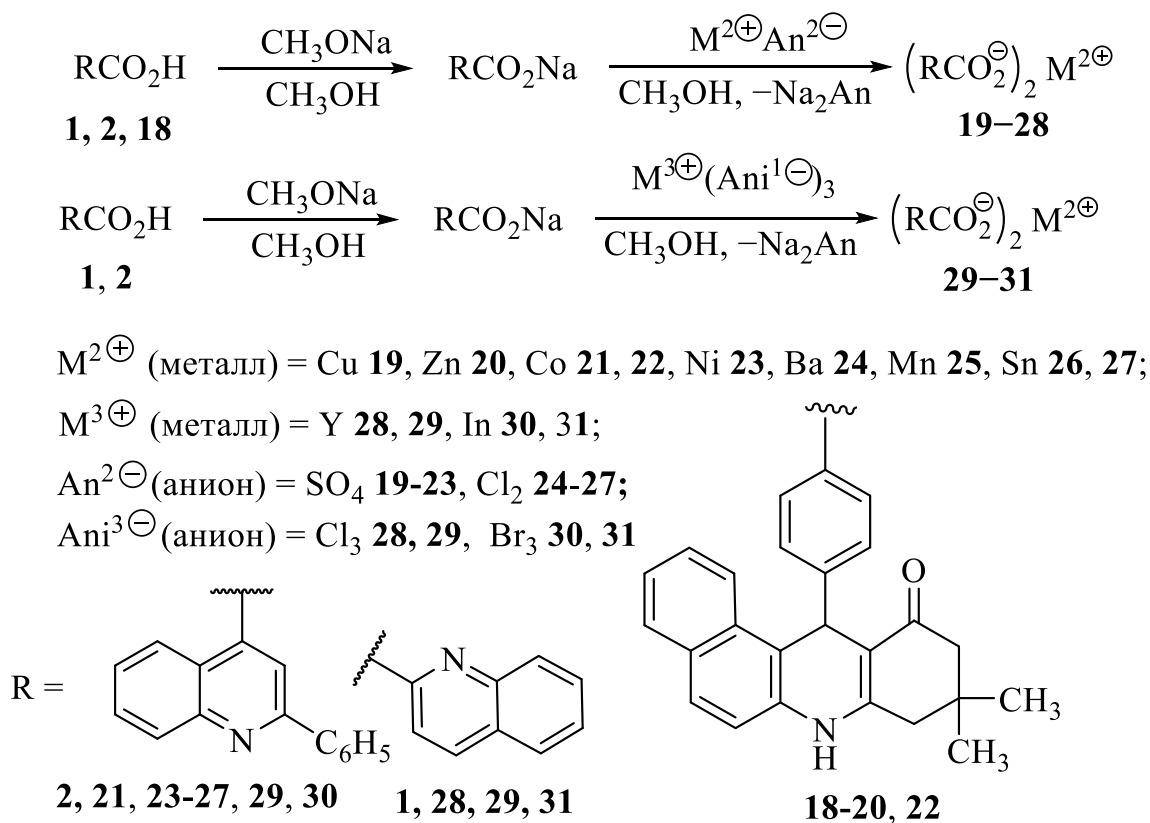


Рис. 2. Схема синтеза солей металлов **19–31**

Было установлено, что соли кобальта, никеля, бария, марганца, олова, иттрия и индия **19–31** в использованных условиях не проявили антибактериальной активности в отношении референтных штаммов грамположительной бактерии *Staphylococcus aureus* и грамотрицательной бактерии *Escherichia coli*.

Также были синтезированы серебряные соли хинальдиновой кислоты **1**, цинхофена **2**, 4-(11-оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[а]акридин-12-ил)бензойной кислоты **32**, 4-(9,9-диметил-11-оксо-7,8,9,10,11,12-гексагидробензо[а]акридин-12-ил)бензойной кислоты **18**, 4,5-дихлороизотиазол-3-карбоновой кислоты **3**, 6-оксо-3,4,6,6а,7,8-гексагидро-2H,10bH,8,10а-эпокси[1,3]оксазино[2,3а]изоиндол-7-карбоновой кислоты **33** (рис. 3).

Синтезированные серебряные соли азотсодержащих гетероциклических карбоновых кислот **34–39** проявили довольно высокую антимикробную активность в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* и несколько меньшую — в отношении грамотрицательных бактерий *Escherichia coli*. Полученные серебросодержащие соединения могут быть перспективными антисептиками при их нанесении на перевязочные материалы для наружного применения.

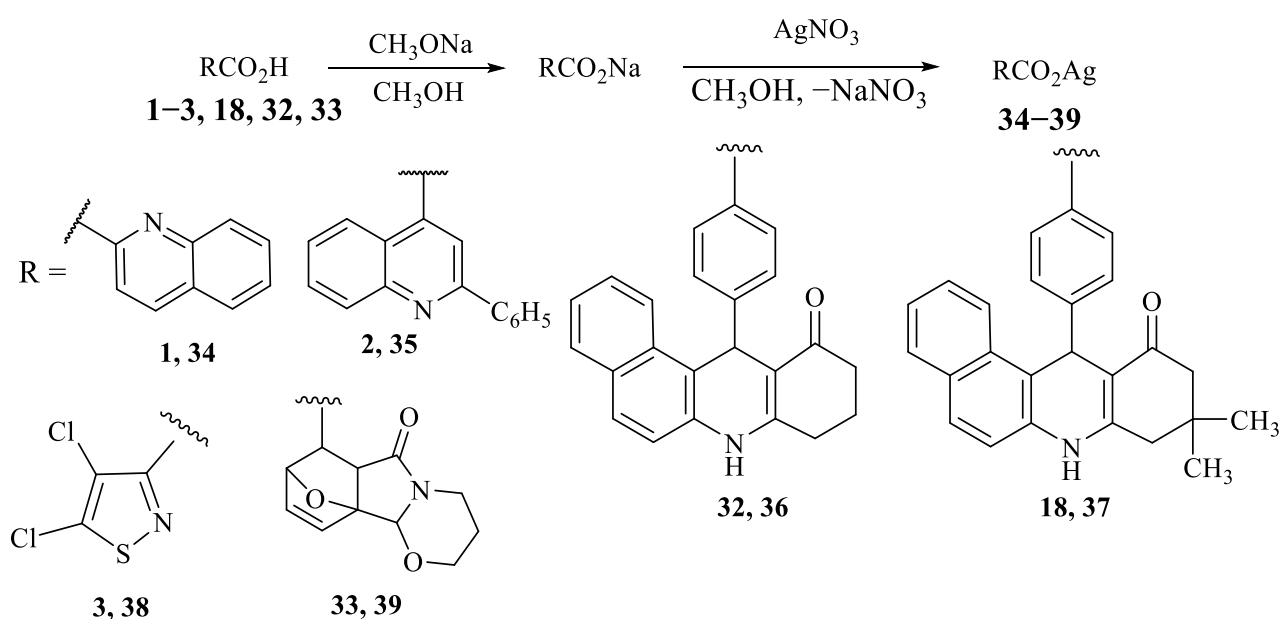


Рис. 3. Схема синтеза солей серебра **34–39**

Выводы. Наиболее перспективными металлами, соли которых проявили антибактериальную активность в отношении штаммов грамположительной бактерии *Staphylococcus aureus* и грамотрицательной бактерии *Escherichia coli* являются серебро, медь и цинк. Соли остальных исследованных металлов (кобальт, никель, барий, марганец, олово, иттрий и индий) оказались неактивными. Зависимость антимикробной активности исследованных солей от структуры карбоновых кислот, в отличие от влияния входящих в их состав металлов, оказалась незначительной. В дальнейшем предполагается провести исследование синтезированных соединений на противогрибковую (фунгицидную) активность.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, грант X25-008.

Список литературы

- 1 Wang, Ch. Metal-Based Approaches for the Fight against Antimicrobial Resistance: Mechanisms, Opportunities, and Challenges / Ch. Wang [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 2025. – Vol. 147. – P. 12361–12380.
- 2 Sharma, B. Antimicrobial Agents Based on Metal Complexes: Present Situation and Future Prospects / B. Sharma [et al.] // *International Journal of Biomaterials*. – 2022. – №6819080. – 21 p.
- 3 Vitali, V. Metal compounds as antimicrobial agents: ‘smart’ approaches for discovering new effective treatments / V. Vitali, S. Zineddu, L. Messori // *RSC Advances*. – 2025. – Vol. 15. – P. 748–753.
- 4 Waters, J. E. Recent advances in the development of metal complexes as antibacterial agents with metal-specific modes of action / J. E. Waters, L. Stevens-Cullinane, L. Siebenmann, J. Hess // *Current Opinion in Microbiology*. – 2023. – Vol. 75. – №102347. – 11 p.
- 5 Rizzotto, M. Metal Complexes as Antimicrobial Agents / M. Rizzotto // In: *A Search for Antibacterial Agents*. – 2012. – 17 p.
- 6 Liang, J. Discovery of metal-based complexes as promising antimicrobial agents / J. Liang [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2021. – Vol. 224. – №113696.
- 7 Belyakova, Yu.Yu. Organic Chemistry in the Creation of Molecules with Practically Useful Properties / Yu.Yu. Belyakova [at al.] // *Rus. J. Gen. Chem.* – 2026. – Vol. 96, N. 1. P. 1–350.
- 8 Дикусар, Е.А. Аминовые соли органических кислот / Е.А. Дикусар [и др.] – Нукус: «Каракалпакстан», 2009. – 143 с.
- 9 Дикусар, Е.А. Бензальдегиды ванилинового ряда. Синтез, применение, биологическая активность / Е.А. Дикусар – London, Chisinau, Europe: LAP LAMBERT Academic Publishing Ru / Dodo Books Indian Ocean Ltd and OmniScriptum S.R.L. publishing group, 2025. – 636 с.
- 10 Дикусар, Е.А. Синтез хелатированных медных и цинковых солей азотсодержащих гетероциклических карбоновых кислот и их антимикробная активность / Е.А. Дикусар [и др.] // *Вестник фармации*. – 2025. – № 3 (109). – С. 51–57.

**МОДУЛЯЦИЯ ЭТАНОЛАМИДАМИ ЖИРНЫХ КИСЛОТ
БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС
С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

Жаворонок И.П., Басалай А.А., Михальчук А.Л.

Жаворонок И.П.

*Кандидат биологических наук, доцент, заведующий центром изучения боли
государственного научного учреждения «Институт физиологии
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
iri8308@yandex.ru*

Басалай А.А.

*Старший научный сотрудник лаборатории физиологии питания и спорта
государственного научного учреждения «Институт физиологии
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
anastasiya.basalay@gmail.com*

Михальчук А.Л.

*Кандидат химических наук, и.о. заведующего лабораторией химии липидов госу-
дарственного научного учреждения «Институт биоорганической химии Нацио-
нальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
lipmal@iboch.by*

*Определено влияние этаноламидов жирных кислот на биохимические по-
казатели сыворотки крови животных с экспериментальным сахарным диабе-
том. Курсовое применение монокомпонентных этаноламидов жирных кислот и
их композиций нормализовало биохимические показатели крови, характеризую-
щие функциональную активность поджелудочной железы и печени. Более выра-
женный эффект оказала композиция PEA:SEA. Этаноламиды жирных кислот и
композиции на их основе можно рассматривать как перспективные соединения-
модуляторы клеточно-тканевого гомеостаза.*

Ключевые слова: крысы; сахарный диабет; этаноламиды жирных кислот;
биохимический анализ крови

MODULATION OF BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD SERUM IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS BY FATTY ACID ETHANOLAMIDES

Zhavoronok I.P.

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Pain Research Center of the State Scientific Institution "Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus",
Minsk, Belarus
iri8308@yandex.ru

Basalai A.A.

Senior Researcher of the Laboratory of Nutrition and Sports Physiology of the State Scientific Institution "Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus
anastasiya.basalay@gmail.com

Mikhalchuk A.L.

Candidate of Chemical Sciences, Acting Head of the Lipid Chemistry Laboratory of the State Scientific Institution "Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus
lipmal@iboch.by

The effect of fatty acid ethanolamides on serum biochemistry in animals with experimental diabetes mellitus was determined. Long-term use of monocomponent fatty acid ethanolamides and its compositions normalized biochemical blood parameters characterizing the functional activity of the pancreas and liver. The PEA:SEA composition had a more pronounced effect. Fatty acid ethanolamides and compositions based on them can be considered promising modulator compounds for cellular and tissue homeostasis.

Key words: rats; diabetes mellitus; fatty acid ethanolamides; biochemical blood analysis

Введение. Сахарный диабет — это группа хронических заболеваний эндокринной системы, связанных с развивающимися патологиями β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы и характеризующихся повышением глюкозы в крови в результате нарушения выработки инсулина либо неспособностью организма эффективно использовать эндогенный инсулин [1]. Распространенность данной патологии с каждым годом растет, по данным Международной диабетической федерации на сегодняшний день сахарный диабет диагностирован у более чем 530 миллионов человек по всему миру.

Возникающая гипергликемия в долгосрочной перспективе приводит к повреждению и нарушению функций многих органов и систем организма (особенно глаз, почек, центральной и периферической нервной системы, сердца и кровеносных сосудов), с этим фактом связано развитие многочисленных осложнений заболевания [1]. Проводимая инсулинотерапия недостаточна для нивелирования произошедших изменений, например ретинопатии, нефропатии, нейропатии и

т.д., данные состояния требуют комплексного подхода для лечения [2]. В связи с вышеизложенным представляется актуальным поиск веществ, способных эффективно и безопасно устранять нежелательные последствия сахарного диабета.

Цель работы — изучить влияние этаноламидов жирных кислот на биохимические показатели сыворотки крови животных с экспериментальной моделью сахарного диабета.

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на крысах-самцах Wistar в соответствии с международными и республиканскими стандартами качества планирования и проведения исследований на животных. Эксперименты были одобрены комиссией по биоэтике Института физиологии НАН Беларуси.

В экспериментальной работе использованы субстанции, синтез которых был осуществлен Институтом биоорганической химии НАН Беларуси: пальмитоилэтаноламид (PEA), стеароилэтаноламид (SEA), композиция этаноламидов жирных кислот пальмитоилэтаноламид:стеароилэтаноламид (PEA:SEA) в соотношении 1:1.

Моделирование сахарного диабета (СД) проводили с помощью однократной внутрибрюшинной инъекции стрептозотоцина в дозе 65 мг/кг (STZ, Chem Cruz Streptozotocin (U-9889), производитель Santa Cruz Biotechnology) [3].

Для оценки влияния анализируемых субстанций на биохимические показатели сыворотки крови животных с экспериментальной моделью СД были сформированы следующие группы: 1) интактный контроль, 2) СД, 3) СД + PEA, 4) СД + SEA, 5) СД + PEA:SEA. Животные каждой группы исследования были разделены на две подгруппы в зависимости от длительности введения веществ: 14 и 28 суток соответственно. Субстанции вводили интрагастрально с помощью металлического атравматического зонда в дозе 100 мг/кг массы тела, начиная с 21-х суток после моделирования СД.

Эвтаназию животных проводили на 35-е и 49-е сутки эксперимента с последующим взятием крови и проведением пробоподготовки для дальнейших исследований.

Биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных животных определяли на биохимическом автоматическом анализаторе Chemray 330 (Rayto, Китай). Для проведения анализа использовали коммерческие наборы «Диасенс» (Республика Беларусь) согласно инструкциям производителя с обязательным проведением контроля качества (контрольные сыворотки производства Randox, Великобритания).

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием программы Statistica 12.0. Применяли непараметрические методы статистики: данные были представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей (Me (25; 75)), статистическую значимость различий рассчитывали с использованием *U*-критерия Манна–Уитни. Отличия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В таблицах 1 и 2 представлены результаты биохимического анализа сыворотки крови крыс с моделью СД и различными вариантами коррекции данной патологии на 35-е и 49-е сутки эксперимента соответственно.

По результатам биохимического исследования сыворотки крови на 35-е сутки после моделирования СД у крыс выявлено статистически значимое пятикратное увеличение уровня глюкозы и снижение активности α -амилазы на 57,3 % ($p < 0,05$) по отношению к контролю, что связано с повреждением поджелудочной железы [4]. Зафиксировано достоверное повышение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в 4,2 раза ($p < 0,05$) и щелочной фосфатазы (ЩФ) в 5,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой «Контроль», что косвенно указывает на нарушение функциональной активности печени [4]. Уровни мочевины, креатинина, общего билирубина и аспартатаминотрансферазы (АСТ) не имели статистически значимых различий с контрольными значениями (таблица 1).

Таблица 1

Биохимический анализ сыворотки крови крыс всех опытных групп на 35-е сутки эксперимента

Показатель	Группы				
	Контроль	СД 35 сут	СД 35 сут + РЕА	СД 35 сут + SEA	СД 35 сут + РЕА:SEA
Глюкоза, ммоль/л	6,72 (5,21; 8,45)	35,81 (30,46; 36,13) *	12,83 (6,17; 14,43) #	40,49 (28,04; 44,21) * Δ •	3,79 (3,27; 8,13) #
α -Амилаза, Ед/л	745,05 (586,35; 776,83)	318,22 (263,55; 474,69) *	467,34 (360,93; 693,15)	499,20 (317,52; 587,55)	671,56 (625,41; 712,20) #&
Мочевина, ммоль/л	5,86 (4,49; 6,66)	8,06 (7,47; 8,34)	11,20 (10,95; 12,06) *#	9,33 (6,56; 11,38)	6,08 (3,79; 12,35)
Креатинин, мкмоль/л	36,55 (31,40; 43,66)	37,94 (35,35; 39,29)	34,67 (32,79; 35,46)	43,18 (37,27; 51,68) Δ •	33,14 (32,55; 35,25) #
Общий билирубин, мкмоль/л	6,83 (6,46; 7,56)	6,72 (5,30; 7,56)	8,51 (7,93; 10,78)	7,56 (5,03; 8,30)	8,57 (6,72; 8,83)
АСТ, Ед/л	157,61 (137,51; 191,19)	256,03 (139,56; 352,40)	205,55 (204,75; 273,70)	167,92 (141,71; 495,30)	182,00 (177,57; 253,02)
АЛТ, Ед/л	36,05 (28,77; 38,80)	151,04 (67,70; 329,90) *	80,65 (65,85; 124,73) *	80,74 (79,42; 396,03) *	76,80 (20,71; 84,86)
ЩФ, Ед/л	455,6 (364,5; 668,1)	2445,7 (2057,8; 2495,4) *	1361,8 (1245,3; 1883,9) *#	1845,3 (1793,3; 3360,6) *•	620,4 (294,4; 1257,5) #

Примечание. Статистически значимые различия при $p < 0,05$: * от «Контроль», # от «СД 35 сут», Δ от «СД 35 сут + РЕА», & от «СД 35 сут + SEA», • от «СД 35 сут + РЕА:SEA».

На 49-е сутки после моделирования СД у животных в сыворотке крови зафиксировано статистически значимое трехкратное увеличение уровня глюкозы и снижение активности α -амилазы на 42,0 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой

«Контроль», что указывает на хронизацию процесса поражения поджелудочной железы. Уровень креатинина неизменен, концентрация мочевины увеличена в 2,5 раза ($p < 0,05$) по отношению к контролю, что косвенно указывает на возможное нарушение фильтрационной функции почек. Выявлено статистически значимое изменение всех исследуемых показателей печеночного метаболизма относительно контрольных значений: увеличение уровня общего билирубина на 36,6 % ($p < 0,05$), повышение активности печеночных ферментов АСТ на 74,3 % ($p < 0,05$), АЛТ и ЩФ в 4,4 раза ($p < 0,05$) и 3,5 раза ($p < 0,05$) соответственно (таблица 2).

Таблица 2

Биохимический анализ сыворотки крови крыс всех опытных групп на 49-е сутки эксперимента

Показатель	Группы				
	Контроль	СД 49 сут	СД 49 сут + РЕА	СД 49 сут + SEA	СД 49 сут + РЕА:SEA
Глюкоза, ммоль/л	6,72 (5,21; 8,45)	20,82 (10,15; 25,83) *	8,82 (5,55; 25,57)	36,80 (33,98; 42,27) *#Δ•	11,43 (6,87; 11,51)
α-Амилаза, Ед/л	745,05 (586,35; 776,83)	432,35 (410,68; 504,09) *	550,41 (535,03; 571,96) *	497,00 (308,26; 561,12) *	602,16 (595,67; 626,72) #
Мочевина, ммоль/л	5,86 (4,49; 6,66)	14,61 (13,21; 15,56) *	14,43 (6,66; 15,01) *	8,93 (8,38; 10,53) *#	10,45 (10,25; 12,20) *
Креатинин, мкмоль/л	36,55 (31,40; 43,66)	41,39 (40,11; 45,47)	36,04 (35,46; 38,21)	39,93 (37,05; 40,96)	40,80 (40,46; 42,16)
Общий билирубин, мкмоль/л	6,83 (6,46; 7,56)	9,33 (9,07; 9,57) *	8,08 (7,09; 8,99)	6,80 (5,61; 8,91)	6,31 (6,23; 7,18) #
АСТ, Ед/л	157,61 (137,51; 191,19)	274,64 (245,37; 334,14) *	257,34 (184,42; 300,74)	236,75 (171,92; 356,54)	240,76 (163,10; 491,57)
АЛТ, Ед/л	36,05 (28,77; 38,80)	158,14 (78,80; 350,39) *	78,41 (33,52; 93,18)	145,67 (107,53; 229,20) *Δ	43,95 (43,81; 190,32)
ЩФ, Ед/л	455,6 (364,5; 668,1)	1582,5 (1255,3; 2133,7) *	563,6 (550,5; 967,8) #	2439,2 (2241,9; 3099,6) *#Δ•	797,5 (403,2; 999,5) #

Примечание. Статистически значимые различия при $p < 0,05$: * от «Контроль», # от «СД 49 сут», Δ от «СД 49 сут + РЕА», & от «СД 49 сут + SEA», • от «СД 49 сут + РЕА:SEA».

После курсового введения РЕА крысам с экспериментальным СД выявлено, что уровень глюкозы в сыворотке крови оставался сохранным и не отличался от контрольных значений. Активность α-амилазы имела тенденцию к снижению к 35-м суткам эксперимента и достигала статистически значимого

понижения к 49-м суткам по отношению к контролю. У крыс из группы «СД 35 сут + РЕА» зафиксировано статистически значимое увеличение концентрации мочевины на 91,1 % ($p < 0,05$), активности АЛТ в 2,2 раза ($p < 0,05$) и ЩФ 3 раза ($p < 0,05$) по отношению к контролю, однако концентрация ЩФ была в 1,8 раза ($p < 0,05$) ниже, чем в группе с моделью «СД 35 сут» (таблица 1). У крыс из группы «СД 49 сут + РЕА» также достоверно увеличен уровень мочевины в 2,5 раза ($p < 0,05$), сохранялась тенденция к повышению активности АЛТ, но активность ЩФ оставалась в пределах нормы, что указывает на положительное влияние данного вещества на функциональную активность печени (таблица 2).

У крыс из групп «СД 35 сут + SEA» и «СД 49 сут + SEA» выявлено статистически значимое увеличение уровня глюкозы и снижение активности α -амилазы в сыворотке крови по отношению к контролю. Зафиксировано достоверное повышение активности АЛТ и ЩФ, а также увеличение концентрации мочевины к 49-м суткам эксперимента. Полученные данные косвенно указывают на сохранение нарушений функциональной активности поджелудочной железы, почек и печени у животных данных групп и отсутствие выраженного стабилизирующего гомеостаз действия курсового применения SEA.

У крыс из групп «СД 35 сут + РЕА:SEA» и «СД 49 сут + РЕА:SEA» практически все исследуемые показатели оставались сохранными и не отличались от контрольных значений. Зафиксировано статистически значимое увеличение уровня мочевины в группе «ДН 49 сут + РЕА:SEA» по сравнению с контролем. Полученные данные указывают на протекторную эффективность композиции этаноламидов жирных кислот РЕА:SEA при коррекции патологических проявлений СД.

Заключение. По результатам биохимического анализа сыворотки крови после однократного введения критической дозы стрептозотоцина для моделирования экспериментального сахарного диабета у крыс отмечено нарушение функциональной активности поджелудочной железы, почек и печени.

Курсовое введение композиции этаноламидов жирных кислот РЕА:SEA животным с СД приводило к восстановлению ферментативной активности поджелудочной железы и печени крыс. Аналогичное по направленности, но менее выраженное по эффективности действие было зарегистрировано после курсового применения РЕА при СД. Курсовое применение SEA у животных с экспериментальным СД оказалось минимально эффективным.

Таким образом, полученные результаты позволяют рассматривать этаноламиды жирных кислот и композиции на их основе в качестве альтернативных эффективных соединений-модуляторов клеточно-тканевого гомеостаза при коморбидных состояниях (сахарный диабет).

Список литературы

1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus / American Diabetes Association // Diabetes Care. – 2011. – Vol. 34, suppl. 1. – P. S62–S69.
2. Стрептозотоциновая модель стабильного сахарного диабета / Г.Н. Скалецкая, Н.Н. Скалецкий, А.Е. Волкова [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20, № 4. – С. 83–88.

3. Impairment of insulin-stimulated Akt/GLUT4 signaling is associated with cardiac contractile dysfunction and aggravates I/R injury in STZ-diabetic rats / J.P. Huang, S.S. Huang, J.Y. Deng [et al.] // J Biomed Sci. – 2009. – Vol. 16. – Art. 77. – P. 1–13.

4. Сравнение биохимических показателей и патоморфологических изменений в органах крыс при стандартной и высокожировой диете в модели индуцированного стрептозоцином диабета / Н.А. Бороздина, Э.Р. Шайхутдинова, В.А. Паликов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 172, № 9. – С. 367–371.

**СИНТЕЗ И ОЦЕНКА АНТИАГРЕГАНТНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ
3-(НИТРОФЕНИЛ)-2-ИЗОКСАЗОЛИН-5-КАРБОКСАМИДОВ**

**Ковганко Н.Н., Пархач М.Е., Борисевич С.Н., Глинник С.В., Латушко Т.В.,
Галюк Е.Н., Прохоревич К.Н.**

Ковганко Н.Н.

Кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
KauhankaMM@bsmu.by

Пархач М.Е.

Кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической техно-
логии с курсом повышения квалификации и переподготовки
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
parkhach_marg@mail.ru

Борисевич С.Н.

Кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
svetlana-2308@yandex.by

Глинник С.В.

Кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
stanislava.glinnik@mail.ru

Латушко Т.В.

Кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

Галюк Е.Н.

Кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник Института клиниче-
ской и экспериментальной медицины
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
elenagalyuk5@gmail.com

Прохоревич К.Н.

Кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь

В статье представлены результаты изучения ингибирующего действия
серии нитрофенилзамещённых амидов 2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты на
агрегацию тромбоцитов, индуцированную аденозиндифосфатом (АДФ) и колла-
геном. Показано, что положение нитрогруппы в бензольном кольце является

ключевым фактором, определяющим как абсолютную эффективность соединений, так и их селективность по отношению к различным индукторам агрегации. В тесте с АДФ максимальное подавление продемонстрировал 3-нитрофенильный изомер, тогда как при стимуляции коллагеном наиболее активным оказался 4-нитрофенильный аналог. 2-Нитрофенильное производное проявило выраженную избирательность в отношении АДФ-зависимого пути. По сравнению с ранее охарактеризованными фторфенильными аналогами введение нитрогруппы привело к повышению ингибирующей активности и усилению селективности действия. Полученные результаты создают основу для целенаправленного конструирования антиагрегантов с заданным механизмом действия — селективных блокаторов P2Y₁₂-рецептора (для орто-изомера) или ингибиторов коллаген-зависимой активации (для пара-изомера).

Ключевые слова: антиагрегантное средство; гетероцикл; 2-изоксазолин; нитрогруппа; тромбоциты; ингибирование агрегации.

SYNTHESIS AND EVALUATION OF PLATELET AGGREGATION INHIBITION BY NOVEL 3-(NITROPHENYL)-2-ISOXAZOLINE-5-CARBOXAMIDES

Kauhanka M.M.

PhD (Chemistry), Associate Professor, Head of the Department of General Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
KauhankaMM@bsmu.by

Parkhach M.E.

Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Technology with a Course of Advanced Training and Retraining, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
parkhach_marg@mail.ru

Borisevich S.N.

Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of General Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
svetlana-2308@yandex.by

Glinnik S.V.

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of General Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
stanislava.glinnik@mail.ru

Latushko T.V.

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of General Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Galiuk E.N.

Candidate of Chemical Sciences, Leading Researcher at the Institute of Clinical and Experimental Medicine, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
elenagalyuk5@gmail.com

Prokhorevich K.N.

Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of the Department of General Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

The article presents the results of a study on the inhibitory activity of a series of nitrophenyl-substituted 2-isoxazoline-5-carboxamides against adenosine diphosphate (ADP) — and collagen-induced platelet aggregation. It was shown that the position of the nitro group on the benzene ring is a key factor determining both the absolute efficacy and the selectivity of the compounds towards different aggregation inducers. In the ADP test, the 3-nitrophenyl derivative demonstrated maximum inhibition, whereas under collagen stimulation the 4-nitrophenyl analogue was the most active. The 2-nitrophenyl derivative exhibited pronounced selectivity toward the ADP-dependent pathway. Compared to previously characterized fluorophenyl analogues, the introduction of a nitro group led to increased inhibitory activity and enhanced selectivity. The obtained results provide a basis for the targeted design of antiplatelet agents with a defined mechanism of action — selective P2Y₁₂ receptor blockers (for the ortho-isomer) or inhibitors of collagen-dependent activation (for the para-isomer).

Key words: antiplatelet agent; heterocycle; 2-isoxazoline; nitro group; platelets; aggregation inhibition

Неконтролируемая адгезия и агрегация тромбоцитов лежат в основе патогенеза таких тяжёлых сердечно-сосудистых осложнений, как инфаркт миокарда и ишемический инсульт [1-3]. Именно поэтому все существующие антиагрегантные средства нацелены на подавление различных рецепторных систем тромбоцитов. Препараты-антагонисты нарушают связь между клетками и тем самым тормозят формирование тромба. К числу основных классов таких лекарственных средств относятся блокаторы P2Y₁₂ (тикагрелор, клопидогрел), ингибиторы GP IIb/IIIa (абциксимаб), а также антагонисты PAR-1 (ворапаксар) [4]. Они находят применение при обострениях ишемической болезни сердца и для профилактики тромбообразования. В основном это низкомолекулярные соединения, которые избирательно связываются с рецепторами-мишенями и подавляют агрегационную способность тромбоцитов.

Несмотря на высокую клиническую эффективность, современные антиагреганты обладают рядом недостатков, среди которых — риск геморрагических осложнений, гепатотоксичность, нагрузка на почки и другие нежелательные эффекты. Эти ограничения, наряду с недостаточной действенностью некоторых препаратов у отдельных категорий пациентов, стимулируют поиск новых химических структур с улучшенным профилем безопасности. Особую востребованность представляют лекарства с быстрым наступлением эффекта, предсказуемой фармакокинетикой и минимальным риском кровотечений.

Активный поиск новых антиагрегантов различной химической природы ведётся в ведущих фармацевтических центрах мира, причём значительная часть перспективных соединений относится к гетероциклическим структурам. Среди них особого внимания заслуживают производные изоксазола, однако их гидри-

рованная форма — 4,5-дигидроизоксазол (2-изоксазолин) — исследована в значительно меньшей степени [5-14]. Из литературы известно два ключевых механизма действия таких соединений: ингибирование рецептора GPIIb/IIIa, ответственного за финальную стадию агрегации через связывание фибриногена [8,9], либо угнетение фактора свёртывания Ха (FXa) — одного из центральных ферментов гемостаза [10,11].

Ранее нашей группой было начато изучение производных 2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты, содержащих фторфенильный заместитель, в качестве потенциальных ингибиторов агрегации тромбоцитов [15]. В настоящей работе представлены результаты синтеза и биологического тестирования 3-(нитрофенил)-2-изоксазолин-5-карбоксамидов, в которых атом фтора заменён на нитрогруппу. Целью исследования явилось выявление зависимости «положение нитрозаместителя — антиагрегантная активность — селективность действия» в отношении АДФ- и коллаген-индуцированной агрегации.

Материалы и методы. Регистрацию инфракрасных спектров проводили на спектрометре Specord 75 IR (Carl Zeiss Jena, Германия); образцы готовили в виде таблеток с бромидом калия. УФ-спектры снимали в этаноле с использованием прибора Specord M40 (Carl Zeiss Jena, Германия). Спектры ядерного магнитного резонанса записывали на спектрометре Bruker Avance 500 (рабочая частота 500 МГц, Bruker, США). Значения химических сдвигов (δ) приведены относительно сигнала тетраметилсилана, использованного в качестве внутреннего стандарта; растворителем служил дейтерированный диметилформамид (DMF-d₇). Контроль за ходом реакций и оценку чистоты синтезированных веществ осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинах Silufol UV-254 (Merck, Германия).

Соединения **1–3** получали реакцией 1,3-диполярного циклоприсоединения нитрилоксида (генерированного *in situ* из соответствующего оксима) к акриламиду. К охлаждённому до 15 °С на водяной бане раствору оксима (0,250 г) в диметилформамиде (10 мл) небольшими порциями добавляли N-хлорсукцинимид (0,240 г). Через 1 час перемешивания в реакционную смесь вводили акриламид, затем по каплям добавляли триэтиламин (0,45 мл) и продолжали перемешивание в течение 24 часов. По окончании реакции смесь разбавляли водой (70 мл), целевой продукт экстрагировали дихлорметаном (дважды по 15 мл). Объединённые органические фракции промывали водой (30 мл) и упаривали растворитель. Полученный твёрдый остаток очищали перекристаллизацией из 2-пропанола.

3-(2-Нитрофенил)-2-изоксазолин-5-карбоксамид (1). Выход 69,3 %. Температура плавления 165-167 °С. УФ (λ_{max} , нм): 269. ИК (KBr, см⁻¹): 3417, 3204 (N-H), 1675, 1627 (C=O амида), 1535, 1342 (NO₂). ¹H ЯМР (δ , м.д.): 2,97 (1H, дд, J₁=6,8 Гц, J₂=15,5 Гц, CH⁴), 3,07 (1H, дд, J₁=7,9 Гц, J₂=15,5 Гц, CH⁴), 5,70 (1H, дд, J₁=6,8 Гц, J₂=7,9 Гц, CH⁵), 7,48-7,76 (2H, м, ароматические протоны), 7,95-8,08 (2H, м, ароматические протоны). ¹³C ЯМР (δ , м.д.): 40,5; 82,0; 123,8; 124,4; 125,6; 127,2; 127,7; 151,2; 155,5; 175,1.

3-(3-Нитрофенил)-2-изоксазолин-5-карбоксамид (2). Выход 68,5 %. Температура плавления 172-174 °С. УФ (λ_{max} , нм): 262. ИК (KBr, см⁻¹): 3422, 3217 (N-H), 1665, 1579 (C=O амида), 1535, 1342 (NO₂). ¹H ЯМР (δ , м.д.): 2,87 (1H,

дд, $J_1=6,8$ Гц, $J_2=15,5$ Гц, CH^4), 3,01 (1H, дд, $J_1=7,9$ Гц, $J_2=15,5$ Гц, CH^4), 5,36 (1H, дд, $J_1=6,8$ Гц, $J_2=7,9$ Гц, CH^5), 7,63 (1H, м, ароматический протон), 7,95 (1H, м, ароматический протон), 8,29 (1H, м, ароматический протон), 8,70 (1H, м, ароматический протон). ^{13}C ЯМР (δ , м.д.): 40,7; 82,2; 123,5; 124,1; 125,6; 127,2; 128,7; 151,2; 155,5; 175,1.

3-(4-Нитрофенил)-2-изоксазолин-5-карбоксамид (3). Выход 72,9 %. Температура плавления 146-148 °С. УФ (λ_{max} , нм): 253. ИК (KBr, cm^{-1}): 3405, 3320 (N-H), 1652, 1572 (C=O амида), 1537, 1340 (NO_2). ^1H ЯМР (δ , м.д.): 2,94 (1H, дд, $J_1=6,8$ Гц, $J_2=15,5$ Гц, CH^4), 3,06 (1H, дд, $J_1=7,9$ Гц, $J_2=15,5$ Гц, CH^4), 5,68 (1H, дд, $J_1=6,8$ Гц, $J_2=7,9$ Гц, CH^5), 7,70 (2H, д, $J=8,7$ Гц, ароматические протоны), 8,09 (2H, д, $J=8,7$ Гц, ароматические протоны). ^{13}C ЯМР (δ , м.д.): 40,9; 82,0; 124,0; 128,0; 149,5; 155,7; 175,1.

Все процедуры с участием добровольцев соответствовали этическим нормам Хельсинкской декларации. Венозную кровь забирали у здоровых доноров, которые воздерживались от приёма ацетилсалициловой кислоты и других нестероидных противовоспалительных средств минимум за 14 суток до исследования. Каждый участник предоставил письменное информированное согласие.

Кровь помещали в пластиковые пробирки (50 мл) с 3,8 % раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Богатую тромбоцитами плазму получали центрифугированием при 300 g в течение 20 минут при комнатной температуре. Бедную тромбоцитами плазму выделяли повторным центрифугированием оставшейся крови при 900 g в течение 10 минут и использовали в качестве контрольной среды.

Цитотоксичность оценивали по выходу лактатдегидрогеназы. Суспензию тромбоцитов инкубировали с исследуемыми соединениями в концентрации 25 мМ в течение 10 минут при 37 °С, затем клетки осаждали центрифугированием (8 мин, 800 g). Аликвоту надосадочной жидкости (100 мкл) анализировали с помощью коммерческой тест-системы (Abcam Inc., AB65393) на планшетном ридере Thermo Scientific Multiskan Go при длине волны 490 нм. В качестве контроля полного лизиса использовали образец с 10 % Triton X-100.

Агрегацию тромбоцитов регистрировали на агрегометре Solar 2111 (Solar, Республика Беларусь). В измерительную кювету вносили 480 мкл богатой тромбоцитами плазмы (конечная концентрация тромбоцитов $200 \times 10^9/\text{л}$). Образец предварительно инкубировали с 20 мкл раствора исследуемого соединения либо с простагландином E_1 (0,02 мМ) для отрицательного контроля. Через 3 минуты добавляли 20 мкл индуктора агрегации (8 мкМ АДФ либо 1,5 мкМ коллагена) и регистрировали кривую в течение 6 минут. В качестве референсного препарата (положительный контроль) использовали клопидогрел в аналогичных концентрациях. Все эксперименты проводили в трёх повторностях. Результаты представлены как среднее арифметическое $\pm$ стандартная ошибка среднего.

Результаты. В экспериментах с АДФ-индуцированной агрегацией все три синтезированных соединения проявили концентрационно-зависимую ингибирующую активность в диапазоне 1–25 мМ (таблица 1). Наиболее эффективным оказался 3-(3-нитрофенил)замещённый аналог **2**, который при максимальной концентрации 25 мМ подавлял агрегацию на 73,2 %. Соединение **1** с 2-нитрофенильным фрагментом показало близкий результат — 69,0 % ингибирования. Наименее активным в

этом тесте был 4-нитрофенильный изомер **3**, обеспечивший подавление агрегации лишь на 49,9 % в той же дозе. Для сравнения, клопидогрел в аналогичных условиях ингибировал АДФ-стимулированную агрегацию на 88 %.

Таблица 1

Ингибирование АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (%)

Соединение	Концентрация, мМ								
	1	2	3	4	5	10	15	20	25
1	26,6	31,9	36,1	40,3	45,7	56,3	64,8	66,9	69,0
2	31,9	35,1	40,3	44,6	49,9	63,7	66,9	71,1	73,2
3	18,1	23,4	28,7	31,9	35,1	41,4	46,8	47,8	49,9
Клопидогрел	65,0	69,0	71,0	73,0	75,0	79,0	83,0	86,0	88,0

При индукции агрегации коллагеном также наблюдалась дозозависимость, однако порядок активности соединений изменился кардинально (таблица 2). Лидером здесь стал 4-нитрофенильный аналог **3**, показавший 65,6 % ингибирования при 25 мМ. Соединение **2** (3-нитрофенил) также сохраняло высокую активность (63,7 % при 25 мМ), тогда как 2-нитрофенильный изомер **1** оказался наименее действенным (51,2 % при 25 мМ). Клопидогрел при коллагеновой стимуляции ингибировал агрегацию на 86 %.

Сравнение результатов обоих тестов для каждого соединения выявило чёткую селективность, зависящую от положения нитрогруппы. 2-Нитрофенильное производное **1** проявляет предпочтение к АДФ-опосредованному пути, тогда как 4-нитрофенильный аналог **3** демонстрирует избирательность к коллагену. 3-Нитрофенильное соединение **2** занимает промежуточное положение с небольшим преимуществом в АДФ-тесте. Все три соединения не показали значимой цитотоксичности в дозе 25 мМ (выход лактатдегидрогеназы не превышал 5 % по сравнению с контролем полного лизиса).

Таблица 2

Ингибирование коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов (%)

Соединение	Концентрация, мМ								
	1	2	3	4	5	10	15	20	25
1	13,5	18,6	24,9	26,9	33,1	39,4	45,5	48,6	51,2
2	23,8	28,0	35,2	38,3	41,4	49,1	57,1	61,8	63,7
3	29,8	34,3	39,8	44,2	47,5	56,3	62,5	64,7	65,6
Клопидогрел	59,0	61,0	63,0	65,0	66,0	74,0	79,0	83,0	86,0

Обсуждение. В настоящей работе выполнен сравнительный анализ ингибирующей активности трёх нитрофенильных производных 2-изоксазолин-5-карбоксамидов в отношении АДФ- и коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов. Полученные данные позволили установить закономерности «структура – активность» и выявить влияние позиции нитрозаместителя на избирательность действия.

При стимуляции АДФ наиболее эффективным оказалось 3-нитрофенильное производное **2**, за ним следовал 2-нитрофенильный изомер **1**, тогда как 4-нитрофенильное соединение **3** показало существенно более низкую активность. Это

ранжирование полностью совпадает с установленной нами ранее закономерностью для монофторфенильных аналогов, где мета-положение также было оптимальным для ингибирования АДФ [15]. Однако замена атома фтора на более объёмную и сильную электроноакцепторную нитрогруппу привела к заметному росту абсолютной активности. Данные литературы подтверждают, что введение нитрофункции в фармакофорные фрагменты нередко повышает антиагрегантные свойства [16,17].

При коллагеновой активации картина активности радикально изменилась. Лидером здесь стало 4-нитрофенильное производное **3**, за ним — 3-нитрофенильный изомер **2**, а наименее активным оказалось 2-нитрофенильное соединение **1**. Такое перераспределение указывает на то, что молекулярные мишени, опосредующие ингибирование коллаген-индуцированной агрегации, предъявляют иные пространственные требования к заместителям в фенильном кольце.

Особого внимания заслуживает тот факт, что 4-нитрофенильное производное, будучи наименее активным в АДФ-тесте, становится наиболее эффективным при коллагеновой стимуляции. Подобная селективность ранее наблюдалась нами для 4-фторфениламида, однако в случае нитроаналога активность на коллагене выше, а избирательность выражена чётче. Это позволяет предположить, что нитрогруппа в пара-положении усиливает взаимодействие соединения с мишенью, специфичной для коллаген-зависимого пути — возможно, рецепторами GPVI, интегрином $\alpha 2\beta 1$ или внутриклеточными сигнальными молекулами.

Наиболее значимым результатом работы стало обнаружение выраженной селективности, детерминированной положением нитрозаместителя. 2-Нитрофенильное производное **1** проявило самую высокую избирательность к АДФ-зависимой агрегации, что делает его перспективным кандидатом для селективного ингибирования P2Y₁₂-рецептора. Усиление селективности при переходе от фтора к нитрогруппе связано, вероятно, с увеличением объёма и гидрофобности заместителя, что может эффективнее блокировать связывание АДФ со своим рецептором, не затрагивая коллаген-зависимые механизмы. 4-Нитрофенильное производное **3** продемонстрировало ярко выраженную избирательность к коллагену, что может быть полезно для терапии тромботических состояний с преобладанием коллаген-зависимого пути активации. 3-Нитрофенильное соединение **2** занимает промежуточное положение, являясь мощным неселективным ингибитором с широким спектром действия.

Заключение. Проведённое исследование позволило идентифицировать нитрофенильные производные 2-изоксазолин-5-карбоксамидов как новую перспективную серию ингибиторов агрегации тромбоцитов. На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Введение нитрогруппы в фенильное кольцо 2-изоксазолин-5-карбоксамидов по сравнению с фторфенильными аналогами повышает абсолютную антиагрегантную активность и усиливает селективность действия.

2. Положение нитрозаместителя является ключевым фактором, определяющим избирательность ингибирования: 2-нитрофенильное производное селек-

тивно в отношении АДФ-индуцированной агрегации, 4-нитрофенильное — в отношении коллаген-индуцированной, а 3-нитрофенильное характеризуется сбалансированной активностью.

3. 2-Нитрофенильное соединение может рассматриваться как перспективный кандидат для создания селективных блокаторов P2Y₁₂-рецептора, тогда как 4-нитрофенильный изомер открывает возможности для разработки ингибиторов коллаген-зависимой активации тромбоцитов.

Список литературы

1. Harm, T. Regulation of Platelet Activation and Coagulation: Current Concepts, Novel Targets, and Therapies / T. Harm, K.A.L. Mueller, T. Geisler // *Interv. Cardiol. Clin.* – 2024. – Vol. 13, № 4. – P. 451-467.
2. Platelets and diseases: signal transduction and advances in targeted therapy / Y. Tian [et al.] // *Signal Transduct. Target. Ther.* – 2025. – Vol. 10, № 1. – P. 159.
3. Tscharre, M. Novel Antiplatelet Agents in Cardiovascular Disease / M. Tscharre, A.D. Michelson, T. Gremmel // *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* – 2020. – Vol. 25, № 3. – P. 191-200.
4. Chan, N. Anticoagulants: From chance discovery to structure-based design / N. Chan, S. Carlin, J. Hirsh // *Pharmacol. Rev.* – 2025. – Vol. 77, № 2. – P. 100037.
5. Platelet protective efficacy of 3,4,5 trisubstituted isoxazole analogue by inhibiting ROS-mediated apoptosis and platelet aggregation / S. Jagadish [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* – 2016. – Vol. 414, № 1-2. – P. 137-151.
6. Xue, C.B. Synthesis and antiplatelet effects of an isoxazole series of glycoprotein IIb/IIIa antagonists / C.B. Xue [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 1998. – Vol. 8, № 24. – P. 3499-3504.
7. Synthetic isoxazole as antiplatelet agent / M. Gutiérrez [et al.] // *Platelets.* – 2014. – Vol. 25, № 4. – P. 234-238.
8. Mousa, S.A. Antiplatelet efficacy of XV459, a novel nonpeptide platelet GPIIb/IIIa antagonist: comparative platelet binding profiles with c7E3 / S.A. Mousa [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1998. – Vol. 286, № 3. – P. 1277-1284.
9. Intravenous and oral antithrombotic efficacy of the novel platelet GPIIb/IIIa antagonist roxifiban (DMP754) and its free acid form, XV459 / S.A. Mousa, R. Kapil, D.X. Mu // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1999. – Vol. 19, № 10. – P. 2535-2541.
10. Quan, M.L. Design and synthesis of isoxazole derivatives as factor Xa inhibitors. 1 / M.L. Quan [et al.] // *J. Med. Chem.* – 1999. – Vol. 42, № 15. – P. 2752-2759.
11. Design and synthesis of isoxazole derivatives as factor Xa inhibitors. 2 / M.L. Quan [et al.] // *J. Med. Chem.* – 1999. – Vol. 42, № 15. – P. 2760-2773.
12. 5-Substituted pyridylisoxazoles as effective inhibitors of platelet aggregation / O.V. Demina [et al.] // *Russ. Chem. Bull.* – 2014. – Vol. 63. – P. 2092-2113.
13. Design of potential antiplatelet agents based on modifications of the 3-pyridylisoxazole scaffold / O.V. Demina [et al.] // *Russ. Chem. Bull.* – 2025. – Vol. 74. – P. 1069-1081.
14. Vrzheschch, P.V. Supercooperativity in platelet aggregation: substituted pyridyl isoxazoles, a new class of supercooperative platelet aggregation inhibitors / P.V. Vrzheschch [et al.] // *FEBS Lett.* – 1994. – Vol. 351, № 2. – P. 168-170.
15. Platelet aggregation inhibition by fluorophenyl-substituted 2-isoxazoline-5-carboxylic acids and their derivatives / M.M. Kauhanka [et al.] // *Global Transl. Med.* – 2025. – Vol. 4, № 2. – P. 103-108.
16. Discovery of a nonpeptidic small molecule antagonist of the human platelet thrombin receptor (PAR-1) / P.G. Nantermet [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2002. – Vol. 12, № 3. – P. 319-323.
17. Isoxazoline and isoxazole fibrinogen receptor antagonists: пат. US5849736A / J. Wityak [et al.]; заявитель и патентообладатель Du Pont Pharmaceuticals. – опубл. 15.12.1998.

ДИНАМИКА УРОВНЯ РЕЦЕПТОРА CD44v6 ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЦИДИВА ЗАБОЛЕВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Ковганко Н.Н., Таганович А.Д., Галуза А.А.

Ковганко Н.Н.

*Кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
KauhankaMM@bsmu.by*

Таганович А.Д.

*Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
ataganovich@gmail.com*

Галуза А.А.

*Студент педиатрического факультета
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
artemgaluza3@gmail.com*

В работе изучена возможность использования изменений уровня рецептора CD44v6 в клетках периферической крови для раннего выявления послеоперационного рецидива у больных плоскоклеточным раком лёгкого I-II стадии. В исследование включено 32 пациента. Концентрацию CD44v6 определяли до лечения, а также через 3 недели, 3 и 6 месяцев после хирургического вмешательства. Установлено, что при возникновении рецидива уровень CD44v6 на моноцитах в течение первых полугода постепенно нарастал, тогда как у пациентов без возврата заболевания данный показатель снижался до нормальных значений. Диагностическая точность метода варьирует от 70 до 83 % в зависимости от сроков забора крови. Приведены данные о распределении больных по стадиям, степени дифференцировки опухоли, локализации, а также результаты ROC-анализа.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак лёгкого; рецидив заболевания; биомаркер; CD44v6; кровь; моноциты; ROC-анализ

DYNAMICS OF CD44v6 RECEPTOR LEVELS FOR PREDICTING DISEASE RECURRENCE IN PATIENTS WITH SQUAMOUS CELL LUNG CANCER

Kauhanka M.M.

PhD (Chemistry), Associate Professor, Head of the Department of General Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

KauhankaMM@bsmu.by

Tahanovich A.D.

Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Biological Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

atanovich@gmail.com

Galuz A.A.

student, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

artemgaluz3@gmail.com

This study investigated whether changes in the CD44v6 receptor level in peripheral blood cells could predict postoperative relapse in patients with stage I–II squamous cell lung carcinoma. A total of 32 individuals were enrolled. CD44v6 concentrations were measured before treatment, as well as at 3 weeks, 3 months and 6 months after surgery. It was found that in relapsing patients, monocytic CD44v6 expression gradually increased during the first six months, whereas in recurrence-free patients this parameter declined to normal values. The diagnostic accuracy of the method ranged from 70 % to 83 % depending on the timing of blood sampling. Data on patient distribution by stage, tumor differentiation grade, localization and ROC analysis results are presented.

Key words: *squamous cell lung cancer; disease recurrence; biomarker; CD44v6; blood; monocytes; ROC-analysis*

По оценкам Всемирной организации здравоохранения, рак лёгкого остаётся одной из основных причин смертности от злокачественных новообразований во всём мире [1]. Примерно 85 % всех случаев приходится на немелкоклеточный рак лёгкого (НМРЛ), среди которых плоскоклеточная гистологическая форма регистрируется почти у 40 % больных. Даже при успешном радикальном удалении опухоли на ранних стадиях сохраняется вероятность возврата заболевания: при I стадии частота рецидивов в течение первого года после операции может достигать 20 %.

Рецептор CD44v6 представляет собой трансмембранный гликопротеин, который участвует в межклеточных взаимодействиях, связывании с внеклеточным матриксом и передаче сигналов факторов роста [2,3]. Усиление экспрессии CD44v6 в опухолевой ткани ассоциировано с прогрессированием заболевания, метастазированием и снижением общей выживаемости. При НМРЛ высокий уровень данного маркера связывают с устойчивостью к химиотерапии и неблагоприятным течением [4]. Однако данные о характере экспрессии CD44v6 при различных формах рака лёгкого противоречивы, а большинство работ выполнено на

тканевом материале [5]. Сведения о динамике этого рецептора в клетках периферической крови после хирургического лечения практически отсутствуют. В связи с этим актуальной задачей является поиск надёжных способов раннего выявления возврата заболевания с использованием минимально инвазивных методов.

Материалы и методы исследования. В проспективное исследование включено 32 пациента (21 мужчина и 11 женщин) с впервые установленным диагнозом плоскоклеточного рака лёгкого I–II стадии, которые проходили лечение в РНПЦ онкологии и медицинской радиации имени Н.Н. Александрова (п. Лесной). Все участники подписали информированное согласие. Данные о возникновении рецидива получали из базы данных Канцер-регистра Республики Беларусь. Средний возраст больных составил $58 \pm 20,5$ года. На I стадии заболевания находилось 11 человек (34,4 %), на II стадии — 21 пациент (65,6 %). По распространённости первичной опухоли распределение выглядело следующим образом: стадия T1 выявлена у 7 пациентов (23,4 %), T2a — у 12 (34,8 %), T2b — у 10 (28,8 %), T3 — у 3 (9,4 %). Регионарные лимфатические узлы не были поражены (N0) у 11 пациентов (34,4 %), тогда как поражение N1 отмечено у 21 больного (65,6 %). Оценка степени дифференцировки опухоли показала, что высокодифференцированные (G1) опухоли встречались у 3 пациентов (9,4 %), умеренно дифференцированные (G2) — у 19 (59,4 %), низкодифференцированные (G3) — у 9 (28,1 %). По локализации: рак правого лёгкого диагностирован у 11 человек (34,4 %), левого лёгкого — у 21 (65,6 %).

Измерение уровня рецептора CD44v6 в клетках крови проводили в четыре временных точки: до начала лечения, через 3 недели после операции, через 3 месяца и через 6 месяцев после хирургического вмешательства. Использовали проточный цитофлуориметр Perlson 2060 (КНР). Кровь объёмом 100 мкл обрабатывали смесью моноклональных антител CD45-APC и CD44v6-FITC (по 5 мкл), инкубировали 15 минут в темноте, после чего добавляли лизирующий раствор для удаления эритроцитов.

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью пакета программ «MedCalc» (Бельгия). Применяли ROC-анализ с вычислением площади под ROC-кривой (AUC) и определением пороговых значений. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты исследования. У обследованных больных плоскоклеточным раком лёгкого уровень CD44v6 на лимфоцитах и гранулоцитах не претерпевал существенных изменений в зависимости от времени наблюдения или исхода лечения. Динамика, связанная с развитием рецидива, выявлена исключительно на моноцитах.

У пациентов, у которых впоследствии был зарегистрирован возврат заболевания, после кратковременного снижения уровня CD44v6 в раннем послеоперационном периоде отмечался постепенный рост этого показателя. В противоположность этому, у пациентов без рецидива уровень CD44v6 на моноцитах снижался и в дальнейшем оставался ниже порогового значения 2,2 %.

Для количественной оценки изменений была рассчитана разница процентного содержания CD44v6-положительных моноцитов между соседними временными интервалами: от 3 недель до 3 месяцев, от 3 месяцев до 6 месяцев, а также суммарно от 3 недель до 6 месяцев (таблица 1).

Таблица 1

Разность послеоперационных уровней процентного содержания CD44v6 в моноцитах крови у пациентов с рецидивом опухоли

Временной интервал	3 недели – 3 месяца	3 месяца – 6 месяцев	3 недели – 6 месяцев
Разница, %	0,40 [0,37; 0,51]	0,60 [0,55; 0,65] ¹	1,08 [0,98; 1,15] ^{1,2}

Примечание: ¹достоверные отличия между показателями через 3 недели и через 3 месяца; ²достоверные отличия между показателями через 3 недели и через 6 месяцев.

Далее был выполнен ROC-анализ для оценки диагностической ценности вычисленных разностей. Полученные параметры (пороговое значение, чувствительность, специфичность и общая эффективность) приведены в таблице 2.

Таблица 2

Диагностическая информативность определения разницы уровня процентного содержания CD44v6 в моноцитах для прогнозирования послеоперационного рецидива при плоскоклеточном раке лёгкого

Период взятия крови	Пороговое значение	Чувствитель- ность (%)	Специфич- ность (%)	Эффектив- ность (%)
3 недели – 3 ме- сяца	0,38	58,3	73,3	70,2
3 месяца – 6 ме- сяцев	0,58	66,7	75,6	73,7
3 недели – 6 ме- сяцев	1,01	75,0	84,4	82,5

Максимальная диагностическая эффективность (82,5 %) достигнута при сопоставлении результатов, полученных через 3 недели и через 6 месяцев после операции.

Обсуждение. В настоящей работе впервые для плоскоклеточного рака лёгкого показано, что отслеживание динамики CD44v6 именно на моноцитах крови, а не на лимфоцитах или гранулоцитах, имеет прогностическое значение. Моноциты являются ключевыми эффекторами врождённого иммунитета и активно мигрируют в опухолевое микроокружение, где могут приобретать ассоциированный с опухолью фенотип. Повышение экспрессии CD44v6 на поверхности этих клеток при развитии рецидива может отражать системный воспалительный и проонкогенный ответ.

Полученные данные согласуются с литературными сведениями о том, что в лейкоцитах периферической крови CD44v6 наиболее активно экспрессируется на CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитах, моноцитах и гранулоцитах. Однако, в отличие от моноцитов, два последних типа клеток не показали значимой динамики в нашем исследовании. Это может быть связано с различной скоростью обновления популяций или разной чувствительностью к сигналам, исходящим от остаточной опухоли.

Клинически значимым результатом является то, что уже через 3 месяца после лечения (когда доступны результаты анализов через 3 недели и 3 месяца) эффективность предсказания рецидива достигает 70 %, что превышает сроки первого планового врачебного осмотра, обычно проводимого через 6 месяцев. Таким образом, предлагаемый метод может позволить начать более раннее инструментальное обследование или адаптировать тактику ведения пациента при выявлении неблагоприятной динамики.

Заключение. Совокупность полученных результатов позволяет сделать следующие выводы:

1. Уровень процентного содержания CD44v6 в моноцитах периферической крови может служить дополнительным лабораторным критерием для выявления послеоперационного рецидива у пациентов с плоскоклеточным раком лёгкого I–II стадии.

2. Диагностическая эффективность данного метода в зависимости от сроков исследования варьирует от 70 до 83 %, что является приемлемым для клинического использования на этапе раннего наблюдения.

Список литературы

1. Travis, W.D. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2015 World Health Organization classification / W.D. Travis, E. Brambilla, A.G. Nicholson // *Eur. Respir. Rev.* – 2016. – Vol. 25, № 140. – P. 130–141.
2. CD44v6: a potential marker of aggressive behavior in non-small cell lung cancer / M. Tolnay [et al.] // *Virchows Arch.* – 1998. – Vol. 432, № 5. – P. 443–447.
3. Ponassi, M. Expression of CD44 standard and variant isoforms in non-small cell lung carcinomas / M. Ponassi, L. Zardi, A. Poggi // *Eur. J. Cancer.* – 1999. – Vol. 35, № 7. – P. 1108–1113.
4. Рецептор CD44v6 как маркер прогрессирования плоскоклеточного рака легкого / Д.В. Козловский [и др.] // *Онкологический журнал.* – 2021. – Т. 45, № 3. – С. 210–217.
5. Flow cytometric analysis of CD44 expression in peripheral blood of patients with lung cancer / S. H. Lee [et al.] // *Korean J. Intern. Med.* – 2005. – Vol. 20, № 4. – P. 305–310.

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН
НА СТАБИЛЬНОСТЬ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА
ЧЕЛОВЕКА И ЕГО СРОДСТВО К РЕЦЕПТОРУ
С ЦЕЛЮ РАЗРАБОТКИ НОВОГО ПРЕПАРАТА
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**

Козел В.А., Побойнев В.В., Козел А.Р.

Козел В.А.

Студент 6 курса лечебного факультета
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
vladislavk200302@gmail.com

Побойнев В.В.

Кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
dremozzew@mail.ru

Козел А.Р.

Старший преподаватель кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
arkozel1977@gmail.com

В статье проведён *in silico* анализ стабильности эпидермального фактора роста человека (далее — ЭФРЧ). Выявлены два участка с высоким амилоидогенным потенциалом. Посредством алгоритмов PentaFold 3.0, PentUnFOLD, mCsM-PPI2 и молекулярного докинга установлено, что аминокислотные замены M21R и K48R повышают аффинность ЭФРЧ к его рецептору, увеличивают внутреннюю нестабильность белка и не усиливают его склонность к амилоидообразованию. Связывание мутантных форм белка с рецептором происходит в том же сайте, что и у нативного белка.

Ключевые слова: эпидермальный фактор роста человека; аминокислотная замена; стабильность белка; аффинность к рецептору; синдром диабетической стопы.

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF AMINO ACID SUBSTITUTIONS ON THE STABILITY OF HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR AND ITS AFFINITY TO THE RECEPTOR IN ORDER TO DEVELOP A NEW DRUG FOR THE TREATMENT OF DIABETIC FOOT SYNDROME

Kozel V. A.

*the 6th year student of the faculty of general medicine of the Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk
vladislavk200302@gmail.com*

Poboinev V. V.

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of General Chemistry of the Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk
dremozzew@mail.ru*

Kozel A. R.

*Senior Lecturer of the Department of General Chemistry of the Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk
arkozel1977@gmail.com*

In this article the in silico analysis of human epidermal growth factor (hEGF) stability was performed, and mutagenesis of its amyloidogenic fragments was carried out. Two regions with high amyloidogenic potential were identified. Using PentaFold 3.0, PentUnFOLD, mCSM-PPI2 algorithms and molecular docking was established that amino acid substitutions M21R and K48R increase affinity of hEGF to receptor, enhance intrinsic protein instability and do not increase its propensity for amyloid formation. Mutant forms of hEGF have the same binding site with receptor as the native protein.

Key words: *human epidermal growth factor; amino acid substitution; protein stability; receptor affinity; diabetic foot syndrome.*

Сахарный диабет (далее — СД) представляет собой группу эндокринных заболеваний, характеризующихся хронической гипергликемией, возникающей вследствие абсолютной или относительной недостаточности инсулина. Заболевание дезорганизует весь обмен веществ и ведёт к серьёзным повреждениям в организме, особенно страдают нервные ткани и кровеносные сосуды. Мировая статистика говорит о стремительном росте: количество пациентов с СД подскочило со 108 миллионов в 1980 году до 422 миллионов в 2014-м и 828 миллионов к 2022 году [1]. Преждевременная смертность от СД увеличилась на 5 % в период с 2000 по 2016 год. В Республике Беларусь распространённость СД также неуклонно растёт: на начало 2020 года под наблюдением состояло 352 538 пациентов, из них 18 110 с СД I типа [2]. К числу самых серьёзных последствий сахарного диабета относится синдром диабетической стопы (СДС) — совокупность структурных и функциональных нарушений, возникающих на почве диабетической нейропатии, а также поражения мелких и крупных сосудов. Это состояние провоцирует ча-

стые травмы и инфицирование мягких тканей стопы, ведёт к гнойно-некротическому поражению и в далеко зашедших случаях заканчивается ампутацией ноги. СДС в десять раз чаще формируется у лиц с диабетом 2-го типа, и как минимум у 47 % больных лечение начинается позже оптимального срока, следствием чего становятся ампутации, которые повышают смертность вдвое, а стоимость терапии — втрое [3]. У больных сахарным диабетом падает уровень факторов роста в тканях, в первую очередь эпидермального фактора роста человека (ЭФРЧ), что замедляет заживление ран и ведёт к образованию хронических, длительно не заживающихся язв. Введение экзогенного ЭФРЧ непосредственно в дно и края раневого дефекта стимулирует более активное образование грануляционной ткани и ускоряет эпителизацию [3].

Лекарственный препарат Heberprot-R, содержащий рекомбинантный ЭФРЧ, доказал свою клиническую эффективность: полный грануляционный ответ был достигнут у всех пациентов в среднем за $23,6 \pm 3,8$ дня, а полное закрытие раны было получено у 85 % пациентов в среднем за $43 \pm 8,9$ дня. В эксперименте также было показано, что введение эпидермального фактора роста мышам с СД вызывает не только заживление, но и снижение уровня глюкозы и увеличение секреции инсулина [4]. Таким образом, препараты на основе ЭФРЧ имеют выраженное терапевтическое действие. Однако длительность лечения может достигать нескольких месяцев, и препарат эффективен не у всех пациентов. Внесение аминокислотных замен в структуру ЭФРЧ с целью повышения его сродства к рецептору является перспективным подходом для создания более действенного препарата.

Целью настоящего исследования является выбор аминокислотных замен в эпидермальном факторе роста человека, повышающих его аффинность к рецептору, увеличивающих внутреннюю нестабильность белка и при этом не увеличивающих его амилоидогенный потенциал.

Объектом исследования является аминокислотная последовательность ЭФРЧ, полученная из базы данных Protein Data Bank [5]. Анализ стабильности структуры ЭФРЧ и влияния аминокислотных замен на неё проводили с помощью алгоритмов PentaFold 3.0 и PentUnFOLD [6, 7]. Данные алгоритмы работают с 3D-структурами белков и требуют предварительного определения вторичной структуры при помощи алгоритма DSSP. Для оценки изменения стабильности белка в результате аминокислотных замен использовали алгоритм iStable, определяющий параметр $\Delta\Delta G$ ($\Delta\Delta G = \Delta G_{\text{исх}} - \Delta G_{\text{мут}}$) при физиологических условиях ($T = 37^\circ\text{C}$ и $pH = 7,4$) [8]. Построение трёхмерных моделей ЭФРЧ — как исходного, так и несущего аминокислотные замены — выполняли в программе Swiss Model, взяв за основу пространственную структуру нативного белка [9]. Для изучения взаимодействия ЭФРЧ с рецептором проводили молекулярный докинг с помощью программы HEX 8.0.0 [10]. Для оценки того, насколько мутантная форма ЭФРЧ изменила своё сродство к рецептору, применили два подхода. В частности, использовали алгоритм mCsM-PPI2, который вычисляет влияние аминокислотных замен на межбелковые взаимодействия внутри уже образовавшегося комплекса, и с помощью программы PRODIGY, обрабатывающей структуры комплексов после докинга и рассчитывающей ΔG связывания. Положительное

значение $\Delta\Delta G$ указывает на увеличение сродства [11, 12]. Амилоидогенные фрагменты ЭФРЧ и влияние на них аминокислотных замен определяли с помощью программы FoldAmyloid [13].

Согласно алгоритму PentaFold 3.0 лишь 5 аминокислотных остатков являются стабильными (Cys20, Met21, Tyr22, Cys33, Tyr37), а 6 — метастабильными (Ile23, Ala30, Cys31, Asn32, Ile38, Arg41). Вторичная структура представлена четырьмя бета-тяжами (Val19–Ile23, Lys28–Cys33, Tyr37–Ile38, Tyr44–Arg45), которые отличаются по уровню стабильности: первый и третий являются стабильными, второй — метастабильным, а четвёртый — нестабильным. N- и C-концы белка, а также петли между бета-тяжами являются нестабильными (рис. 1).

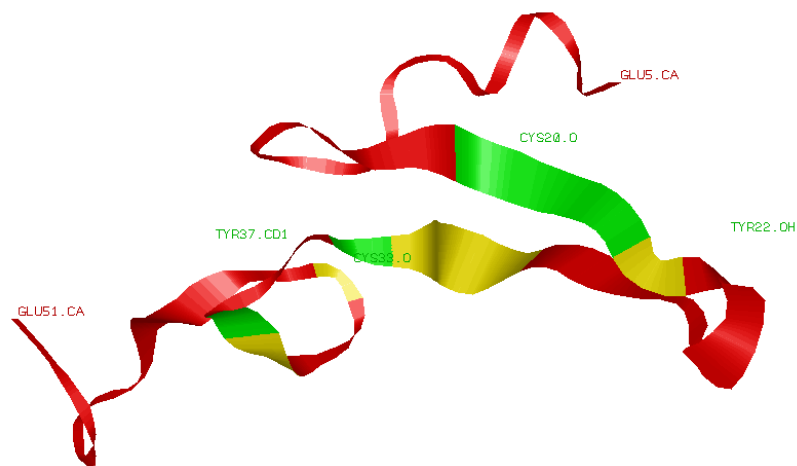


Рис. 1. Стабильность структуры нативного эпидермального фактора роста человека (PDB ID: 1IVO). Зелёным цветом обозначены стабильные элементы вторичной структуры, жёлтым — метастабильные, красным — нестабильные

С помощью алгоритма PentUnFOLD показано, что первый бета-тяж может укорачиваться на один остаток с N-конца. Второй бета-тяж также способен к укорочению так, как только Asn32 и Cys33 признаны стабильными. Особого внимания заслуживает четвёртый бета-тяж: согласно версии 1D алгоритма он нестабилен, а согласно версии 2D — стабилен. Обе версии указывают на способность данного бета-тяжа к переходу в полностью неструктурированное состояние, что, по-видимому, необходимо белку для формирования термодинамически выгодного комплекса с рецептором. С помощью программы FoldAmyloid в структуре ЭФРЧ было обнаружено два фрагмента, обладающих высоким амилоидогенным потенциалом: Cys20–Glu24 и Cys42–Leu52. Наличие таких фрагментов на C-конце молекулы может способствовать образованию бета-амилоида и снижать биодоступность и терапевтическую эффективность препарата на основе ЭФРЧ. Для снижения амилоидогенного потенциала и улучшения свойств белка был проведён обширный *in silico* мутагенез. Аминокислотные остатки из амилоидогенных фрагментов и прилежащих к ним областей (по 5 остатков с каждой стороны от Cys20–Glu24) заменяли на все 19 возможных вариантов. Остатки цистеинов (Cys20, Cys42), формирующие дисульфидные связи, мутагенезу не подвергали. Общее количество проведённых замен составило 437. Согласно гипотезе, выдвинутой нами, понижение стабильности белка с одновременным понижением вероятности образования бета-амилоида должно повысить его сродство к рецептору.

Из 437 замен было выявлено 30, которые способствуют структурному переходу бета-тяжей в петли и/или в полностью неструктурированное состояние. Дальнейший анализ стабильности мутантных форм белка с помощью программы iStable показал, что большинство аминокислотных замен, отобранных по критерию повышения неустойчивости белка, также снижают его термодинамическую стабильность ($\Delta\Delta G < 0$). Программа mCsM-PPI2 показала, что большинство аминокислотных замен на С-конце белка снижают аффинность ($\Delta\Delta G < 0$). Среди наиболее перспективных замен, увеличивающих сродство, были выделены Q43E, Y44T, Y44N, R45K, D46N, и K48R. В области середины белка наибольшее увеличение $\Delta\Delta G$ наблюдалось для замен M21Y, M21F, K28Q, K28S, K28N, а также M21R. Программа PRODIGY, работающая с результатами молекулярного докинга, позволила верифицировать полученные данные. Оказалось, что только для ряда замен обе программы дали согласованный положительный результат: M21R, K48R, A25W, K28Q, K28S, K28N, R45K и E51P. Особое внимание привлекли замены M21R и K48R: K48R показала максимальное значение $\Delta\Delta G$ среди всех изученных вариантов (1.528 ккал/моль по mCsM-PPI2), а M21R ($\Delta\Delta G = 0.616$ ккал/моль по mCsM-PPI2) не только увеличивала аффинность, но и, согласно алгоритму PentUnFOLD, в значительной степени увеличивала способность первого бета-тяжа и прилежащих участков к переходу в полностью неструктурированное состояние. При этом молекулы ЭФРЧ с аминокислотными заменами M21R и K48R располагаются в том же сайте связывания, что и нативный белок (рисунки 2 и 3).

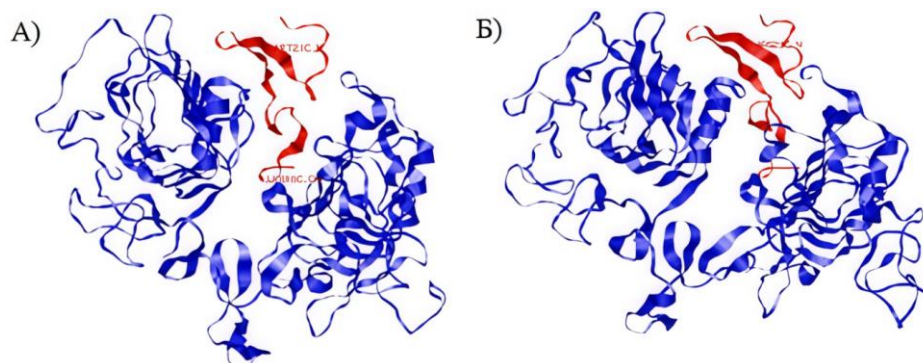


Рис. 2. Модель комплекса ЭФРЧ (А) и ЭФРЧ с аминокислотной заменой M21R (Б) с его рецептором. Красным цветом обозначен ЭФРЧ, а синим — рецептор ЭФРЧ.

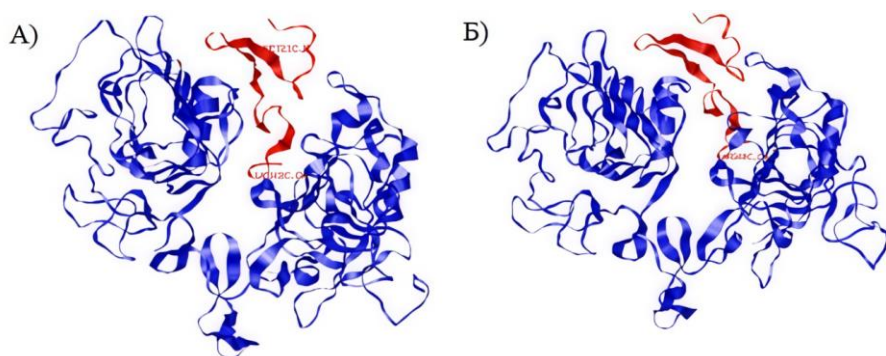


Рис. 3. Модель комплекса нативного ЭФРЧ (А) и ЭФРЧ с аминокислотной заменой K48R (Б) с его рецептором. Красным цветом обозначен ЭФРЧ, а синим — рецептор ЭФРЧ

С помощью программы Prodigy показано, что при 37°C ΔG нативного ЭФРЧ с рецептором составляет -16.2 ккал/моль. После внесения замены M21R ΔG снизилось до -16.5 ккал/моль, а после замены K48R — до -16.4 ккал/моль. Важнейшим критерием отбора аминокислотных замен было их влияние на склонность белка к амилоидообразованию. При анализе аминокислотных замен M21R и K48R показано, что ни одна из них не приводит к увеличению длины или появлению новых амилоидогенных фрагментов в структуре ЭФРЧ. Амилоидогенный профиль мутантных белков, по данным FoldAmyloid, остаётся идентичным профилю нативного белка или несколько снижается (рисунки 4 и 5).

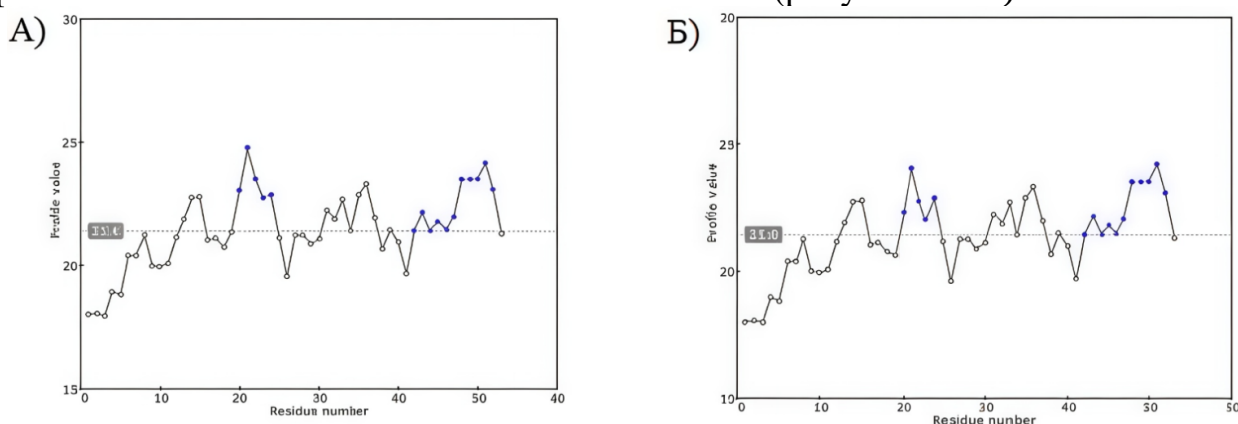


Рис. 4. Амилоидогенный потенциал нативного ЭФРЧ (А) и ЭФРЧ с аминокислотной заменой M21R (Б)

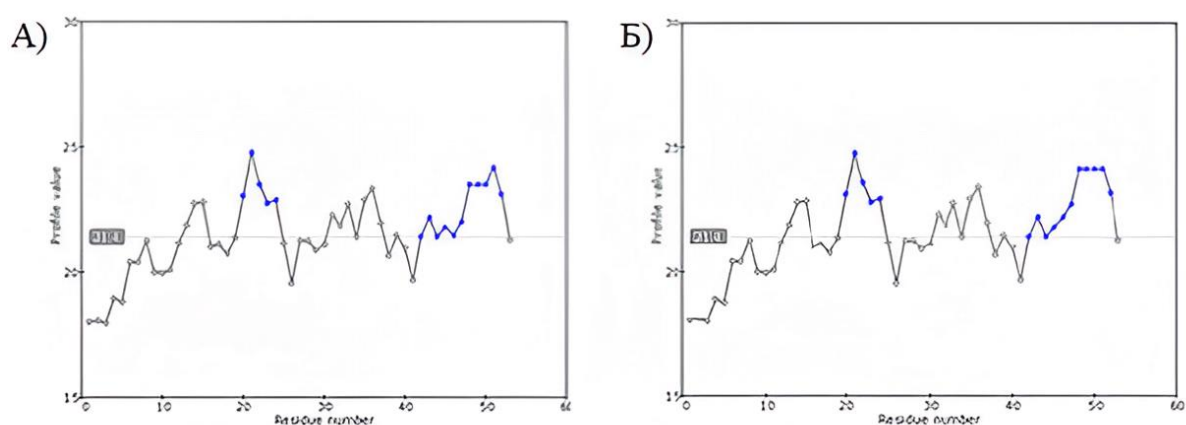


Рис. 5. Амилоидогенный потенциал нативного ЭФРЧ (А) и ЭФРЧ с аминокислотной заменой K48R (Б)

Таким образом, по совокупности результатов *in silico* исследований, аминокислотные замены M21R и K48R являются наиболее перспективными кандидатами для дальнейших *in vitro* и *in vivo* испытаний. Они удовлетворяют всем трём ключевым критериям: повышают сродство ЭФРЧ к рецептору, увеличивают внутреннюю нестабильность белка и не усиливают его амилоидогенные свойства. Внедрение данных замен может лечь в основу создания нового, более эффективного отечественного препарата для терапии синдрома диабетической стопы.

Список литературы

1. Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants [Электронный ресурс] / The Lancet. – Режим доступа: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(24\)02317-fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(24)02317-fulltext). – Дата обращения: 22.04.26.
2. Мохорт, Т. В. Сахарный диабет: обновление классификации и особенности диагностики различных типов: учебно-методическое пособие / Т. В. Мохорт, А. П. Шепелькевич, Е. И. Шишко. – Минск: БГМУ, 2021. – 39 с.
3. Lee, H. Y. Epidermal growth factor increases insulin secretion and lowers blood glucose in diabetic mice // H. Y. Lee [et al.] // J. Cell Mol. Med. – 2008. – Vol. 12. – P. 1593–1604.
4. Козел, В. А. Оценка стабильности эпидермального фактора роста человека в рамках разработки нового препарата для лечения синдрома диабетической стопы / В. А. Козел // «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2022»: сборник материалов докладов LXXVI Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных; под редакцией С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. – Минск: БГМУ, 2022. – С. 1001–1005.
5. The Protein Data Bank / H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2000. – Vol. 28. – P. 235–242/
6. Khrustalev, V. V. The PentaFOLD 3.0 Algorithm for the selection of stable elements of secondary structure to be included in vaccine peptides / V. V. Khrustalev // Protein Pept. Lett. – 2021. – Vol. 28. – P. 573–588.
7. The PentUnFOLD algorithm as a tool to distinguish the dark and the light sides of the structural instability of proteins / V. V. Poboinev, V. V. Khrustalev, T. A. Khrustaleva [et al.] // Amino Acids. – 2022. – Vol. 54. – P. 1155–1171.
8. Chen, C.W. iStable 2.0: Predicting protein thermal stability changes by integrating various characteristic modules // C. W. Chen, M. H. Lin, C. C. Liao [et al.] // Comput. Struct. Biotechnol. J. – 2020. – Vol. 18. – P. 622–630/
9. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes // A. Waterhouse, M. Bertoni, S. Bienert [et al.] // Nucleic Acids Res. – 2018. – Vol. 46. – P. 296–303.
10. Ghoorah, A. W. Protein Docking Using Case-Based Reasoning / A. W. Ghoorah, M. Smail-Tabbone, M.-D. Devignes [et al.] // Proteins: Structure, Function, Bioinformatics. – 2013. – Vol. 81. – P. 2150–2158.
11. mCSM-PPI2: predicting the effects of mutations on protein–protein interactions / H. M. C. Rodrigues, Y. Myung, D. E. V. Pires [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2019. – Vol. 47. – P. 338–344.
12. Xue, L. C. PRODIGY: a web server for predicting the binding affinity of protein-protein complexes / L. C. Xue [et al.] // Bioinformatics. – 2016. – Vol. 32. – P. 3676–3678.
13. Garbuzynskiy, S. O. FoldAmyloid: a method of prediction of amyloidogenic regions from protein sequence / S. O. Garbuzynskiy, M. Y. Lobanov, O. V. Galzitskaya // Bioinformatics. – 2010. – Vol. 26. – P. 326–332.

СИНТЕЗ СПИРО-ОКСИНДОЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 4Н-ХРОМЕНОВ МЕТОДОМ МУЛЬТИКОМПОНЕНТНЫХ РЕАКЦИЙ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ

Колесников А.А., Мисюля Д.И., Минеева И.В.

Колесников А.А.

*Студент 5 курса специальности 1-3105 02 Химия лекарственных соединений
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
arsenijkolesnikov12@gmail.com*

Мисюля Д.И.

*магистр химических наук,
Аспирант 1-го года обучения специальности 02.00.03 органическая химия
УО «Белорусский государственный университет», стажер м.н.с.
сектора тонкого органического синтеза учреждения Белорусского государ-
ственного университета «Научно-исследовательский институт физико-
химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
d.misiulia@yandex.by*

Минеева И.В.

*Доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической химии
химического факультета УО «Белорусский государственный университет»,
заведующий сектором тонкого органического синтеза учреждения Белорус-
ского государственного университета «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
i.mineyeva@yandex.ru*

*В данной статье был рассмотрен синтез различных производных 4Н-хро-
менов с использованием мультикомпонентной реакции димедона (и других 1,3-
дикарбонильных соединений), изатина и малононитрила (а также этил-2-циа-
ноацетата). Синтез проводили в присутствии различных катализаторов и срав-
нивали их эффективность. Была исследована антибактериальная активность
полученных соединений на различных бактериальных культурах: *Azotobacter*
chroococcum; *Escherichia coli* М-17; *Bacillus subtilis*; *Bacillus mesentericus*.*

Ключевые слова: 4Н-хромен; *Azotobacter chroococcum*; *Escherichia coli*
М-17; *Bacillus subtilis*; *Bacillus mesentericus*; мультикомпонентная реакция

SYNTHESIS OF SPIRO-OXINDOL DERIVATIVES OF 4H-CHROMENES BY MULTICOMPONENT REACTIONS AND STUDY OF THEIR ANTIBACTERIAL PROPERTIES

Kolesnikov A.A.

*5th-year student, specialty 1-3105 02 Chemistry of Medicinal Compounds
educational institution "Belarusian State University",
Minsk, Belarus
arsenijkolesnikov12@gmail.com*

Misiulia D.I.

*Master of Chemical Sciences,
First-year postgraduate student majoring in organic chemistry (02.00.03) at the Bela-
rusian State University, Junior Researcher Intern
Sector of Fine Organic Synthesis at the Research Institute for Physical-Chemical
Problems of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
d.misiulia@yandex.by*

Mineyeva I.V.

*Doctor of Chemical Sciences, Professor, Professor of the Department of Organic
Chemistry, Faculty of Chemistry, Belarusian State University
Head of the Fine Organic Synthesis Sector, Research Institute for Physical-Chemical
Problems, Belarusian State University,
Minsk, Belarus
i.mineyeva@yandex.ru*

*This article describes the synthesis of various 4H-chromene derivatives using a multicomponent reaction of dimedone (and other 1,3-dicarbonyl compounds), isatin, and malononitrile (as well as ethyl 2-cyanoacetate). The synthesis was carried out in the presence of various catalysts, and their effectiveness was compared. The antibacterial activity of the resulting compounds was studied in various bacterial cultures: *Azotobacter chroococcum*; *Escherichia coli* M-17; *Bacillus subtilis*; and *Bacillus mesentericus*.*

Key words: 4H-chromene; *Azotobacter chroococcum*; *Escherichia coli* M-17; *Bacillus subtilis*; *Bacillus mesentericus*; multicomponent reaction

Известно, что оксиндольные соединения обладают разнообразной биологической активностью, а некоторые оксиндолы, спиро-аннелированные с гетероциклами в 3-положении, значительно усиливают биологическую активность. То же характерно и для производных, включенных в 4H-хроменовый каркас производных хромана. В связи с этим, поиск синтетических путей включения оксиндольного фрагмента в состав производных 4H-хромена представляет собой актуальную синтетическую задачу, а влияние структурных изменений в составе этих веществ на антимикробную активность (как один из многочисленных примеров биологической активности) — еще и биохимическую.

Развивающаяся химия мультикомпонентных реакций (МКР) — перспективный раздел химии гетероциклов, обладающий одноименным синтетическим методом, оценка применимости которого для введения оксиндольного фрагмента в состав 4*H*-хроменовых производных, представляется особенно интересной [1].

Целью исследования стало получение ряда спиро-оксиндолов с конденсированными 4*H*-хроменами с помощью МКР с применением катализаторов различной природы в этаноле, а также провести оценку антибактериального действия продуктов относительно *Azotobacter chroococcum*, *Escherichia coli* М-17, *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus*.

В данном исследовании была применена модельная реакция на основе димедона (1) и (2-оксо-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден)малононитрила (2) приводящая к получению хромена 3 (рис. 1).

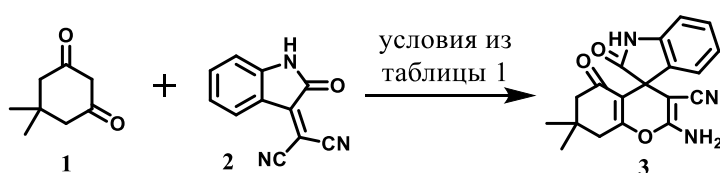


Рис. 1. Мультикомпонентная реакция, используемая для синтеза производного 4*H*-хромена 3

Выходы продуктов МКР (рис. 2) в зависимости от используемого катализатора приведены в таблице 2. Лучшим катализатором оказался 2,6 — лутидин (10 мольн. %) в этаноле при комнатной температуре и перемешивании в течение 24 ч (таблица 1, рис. 2).

Таблица 1

Результаты исследования различных катализаторов МКР

Эксперимент	Катализатор	Выход продукта 3, %
Органические основания		
1	морфолин	36
2	пиперидин	37
3	Et ₃ N	39
4	Et ₂ NH	53
5	пиридин	67
6	DABCO	69
7	DBU	75
8	имидазол	79
9	TMEDA	81
10	2,2'-бипиридин	87
11	пирролидин	91
12	DMAP	93
13	2,6-лутидин	94
Неорганические основания и соли		
14	Cs ₂ CO ₃	67
15	K ₂ CO ₃	82
16	Na ₂ CO ₃	92

Продолжение таблицы 1

Эксперимент	Катализатор	Выход продукта 3, %
17	NaHCO ₃	85
18	KHCO ₃	89
19	цитрат натрия трехзамещенный	84
20	LiOH	10
21	NaOH	80
22	KOH	86
23	AcONH ₄	50
24	HCOONH ₄	59
25	AcOK	64
26	AcONa	75
27	PhCOONa	83
28	NH ₄ Cl	91

Трехкомпонентный синтез при катализе 2,6-лутидином дал умеренный выход продукта **3** (рис. 2).

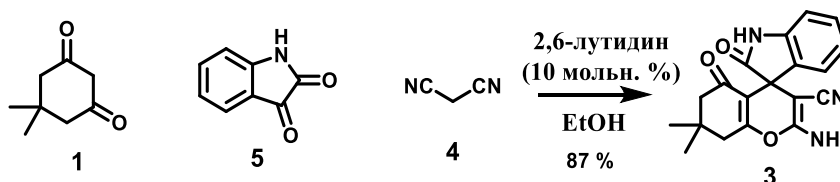


Рис. 2. Мультикомпонентная реакция, используемая для синтеза производного 4*H*-хромена **3**, катализируемая 2,6-лутидином

Применяя 2,6-лутидин как катализатор и проведя замену димедона на другие 1,3-дикарбонильные соединения, был синтезирован ряд гетероциклических соединений **6–11**. Замена соединения **2** на аналогичное производное циануксусного эфира позволила получить соединение **12** (рис. 3).

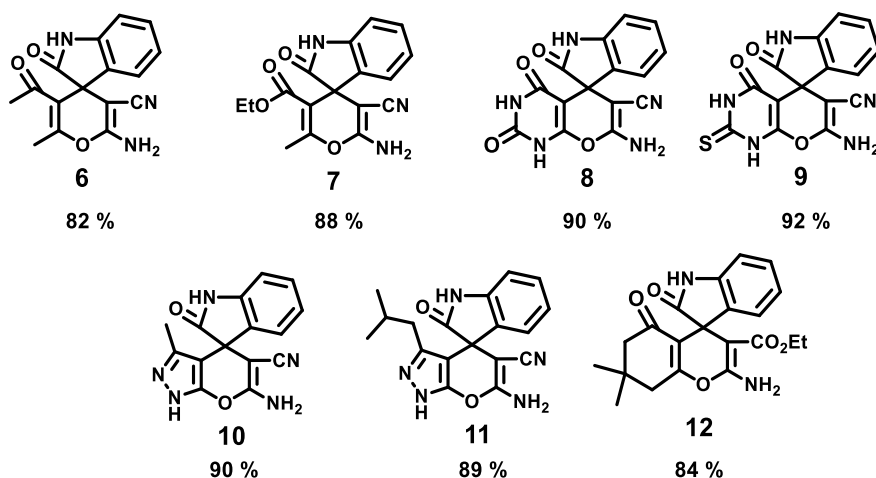


Рис. 3. Другие производные 4*H*-хромена **6–12**, полученные с помощью мультикомпонентной реакции, катализируемой 2,6-лутидином

Структуры всех полученных в результате эксперимента соединений были подтверждены спектроскопическими методами ^1H и ^{13}C ЯМР. Далее был исследован ряд новых катализаторов для исследуемой МКР. Лучший результат продемонстрировали аминокислоты D,L- орнитин гидрохлорид, D,L-треонин, D,L-норлейцин и D,L-лизин моногидрохлорид и ионные жидкости (таблица 2).

Таблица 2

Результаты исследования аминокислот, ионных жидкостей и ЧАС как новых катализаторов МКР

Эксперимент	Катализатор	Выход продукта, %
Аминокислоты		
29	L-гистидин	61
30	L-пролин	65
31	глицин	72
32	D,L-серин	86
33	D,L-аспарагиновая кислота	90
34	D,L-лейцин	90
35	D,L-норлейцин	99
36	D,L-треонин	99
37	D,L-орнитин гидрохлорид	99
38	D,L-лизин моногидрохлорид	99
Ионные жидкости и четвертичные аммониевые соли		
39	DABCO-1BuBr	99
40	DABCO-2BuBr	97
41	DABCO-1HClO ₄	99
42	DABCO-2HClO ₄	86
43	DABCO-1H ₂ SO ₄	99
44	DABCO-2H ₂ SO ₄	43
45	DABCO-1H ₃ PO ₄	99
46	DABCO-2H ₃ PO ₄	99
47	DABCO-1AcOH	92
48	DABCO-2AcOH	86
49	Me ₄ NI	78
50	Et ₄ NI	93
51	Bu ₄ NI	74
52	Bu ₄ NBr	99
53	Me ₃ NCH ₂ CO ₂ H Cl	80
54	Me ₃ NC ₁₆ H ₃₃ Br	84
«Зеленые методы» и биокатализаторы		
55	NADH (5 мольн. %)	84
56	рибофлавин (витамин B ₂)	85
57	креатинин	86
58	ацетилхолинэстераза (6 мг)	90
59	тиамин (витамин B ₁)	90
60	зола эндокарпия <i>Juglans regia</i> L.	91
61	глутатион восстановленный (5 мольн. %)	93

Ионные жидкости на основе однозамещенного DABCO обеспечивают почти количественный выход целевых продуктов МКР. Особый интерес представляют катализаторы на основе биомолекул: коферментов, ферментов, витаминов, олигопептидов и др., которые также обеспечивают высокие выходы продуктов. То же справедливо и для золы эндокарпия грецкого ореха.

Затем была исследована биологическая активность полученных соединений на *Azotobacter chroococcum*, *Escherichia coli* M-17, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*. Культуры *Azotobacter chroococcum* выращивали на синтетической твердой питательной среде Эшби, *Escherichia coli* M-17, *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* — на 2 %-ном мясопептонном агаре. Оценку воздействия исследуемых хроменов осуществляли с помощью диско-диффузионного метода: круги фильтровальной бумаги $d = 6$ мм смачивали раствором исследуемого хромена концентрации 3 мг/мл в DMSO (для *A. chroococcum*) и DMF (для *E. coli*, *B. subtilis* и *B. mesentericus*), инертность бактерий к чистым растворителям подтверждена. Круги вносили на питательную среду непосредственно после нанесения на неё инокулята чистой культуры. Диаметр зон ингибирования (в мм) оценивали на 3–5 сутки культивирования при 20–23 °С. Достоверность различий оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Общий контроль — раствор цетилтриметиламмоний бромид (ЦТМА, 3 мг/мл), для грамположительных бактерий — раствор антибиотика ампициллина (Amp, 10 мкг/мл), для грамотрицательных — доксициклина (Dox, 125 мкг/мл). Данные по явным признакам воздействия полученных веществ на бактериальные культуры приведены в таблице 3.

Таблица 3

Производные 4*H*-хромена, относительно которых была замечена явная антибактериальная активность

Культура/вещество	контроль			пр-т 9	пр-т 10
	Dox	Amp	ЦТМА		
<i>Escherichia coli</i>	16,6±0,8	—	9,0±0,0	8,6±0,5	—
<i>Bacillus subtilis</i>	—	19,2±0,7	12,8±0,4	—	11,2±1,0

Все исследуемые производные хромена (3, 6–12) не оказали явного воздействия на *A. chroococcum*. Что касается *E. coli*, почти все хромены, за исключением лишь 9, оказались инертными относительно данной культуры. Указанный продукт 9 проявил слабый бактериостатический эффект относительно кишечной палочки. При культивировании *B. subtilis* было замечено, что вещество 10 оказало на культуру бактериостатическое действие, остальные хромены оказались инертными к данной культуре. Данные хромены также были испытаны на *B. mesentericus*, они оказались инертными по отношению к культуре. Сравнительно с контролем, характер антибактериального действия двух продуктов — 9 и 10, — бактериостатический, что видно по несколько диффузной зоне ингибирования роста и в сравнении с контролем (явными и сильными бактериоцидными агентами).

Примечателен факт того, что в изначально инертных относительно бактерий пиридиноподобных системах (**8**) при замене карбонильного атома кислорода на серу (**9**) можно наблюдать усиление антибактериальных свойств (пусть и достоверно (при $P < 0,01$) слабее ЦТМА и особенно — антибиотиков).

Особенного внимание заслуживают структуры, содержащие пиразолоновый фрагмент (**10** и **11**). Вариабельность алкильных заместителей в последних существенным образом влияет на бактериостатические свойства веществ: от полного их отсутствия (**11**) до заметной активности относительно грамположительных микроорганизмов (**10**). По-видимому, роль метилового заместителя при этом более предпочтительна, чем разветвленных структур, вроде изобутилового.

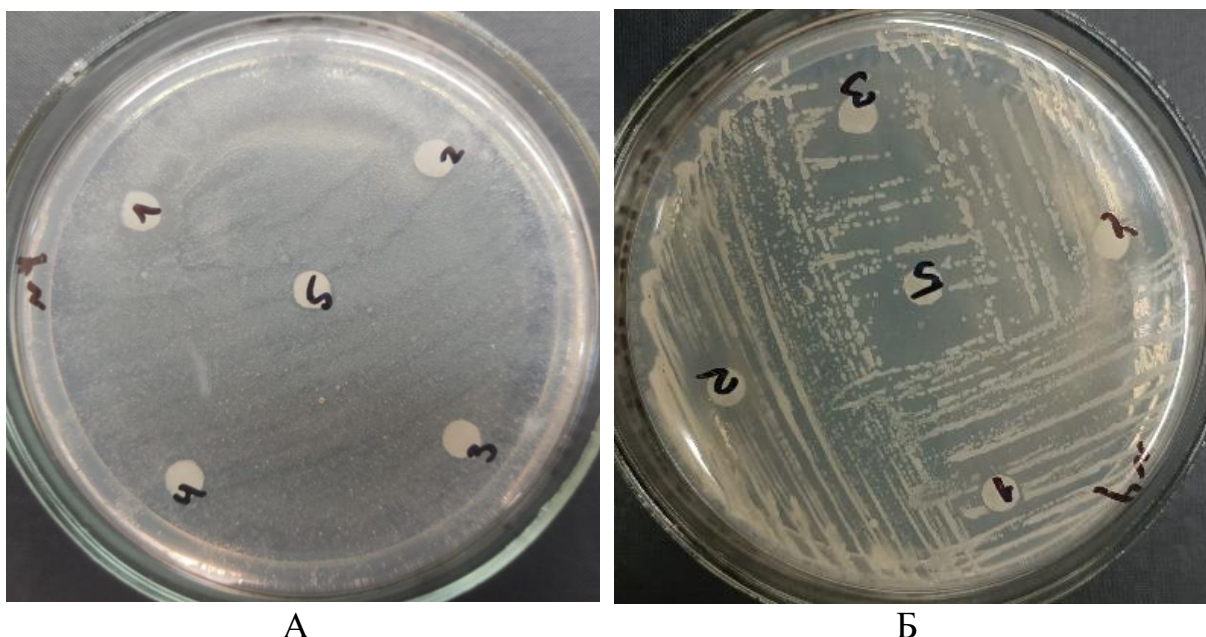


Рис. 4. Антибактериальная активность вещества **10** на *E. coli* (А) и на *B. subtilis* (Б)

Полученные хроменовые производные **9** и **10** действуют относительно кишечной и сенной палочек, соответственно, как бактериостатики. При этом, функционализируя производные 4*H*-хромена с помощью МКР, можно тонко воздействовать на биологические свойства получаемых веществ, вплоть до уровня конкретных таксонов (или нетаксономических групп).

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта БРФФИ (№ гос. регистрации 20250778) и проекта НИР ГПНИ «Новые полифункциональные 3-гидрокси-2-оксоиндолы и гетероциклические соединения на их основе с высоким потенциалом биологической активности для создания прототипов лекарственных средств» 2026–2030 гг.

Список литературы

1. Kumar, L. Biological Significance of Pyrazolone: A Review / L. Kumar, C. Thakur, V. Sharma // International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. – 2012. – Vol. 2, no. 1. – P. 13–22.

ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙРОХИМИЧЕСКОЙ ДИСРЕГУЛЯЦИИ ПРИ ЗЛОУПОТРЕБЛЕНИИ АЛКОГОЛЕМ

Абдул А.К., Казачок А.В.

Абдул А.К.

*Научный сотрудник Научно-исследовательского института эксперимен-
тальной и клинической медицины
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
anastasiaabdul18@mail.ru*

Казачок А.В.

*¹Младший научный сотрудник Научно-исследовательского института
экспериментальной и клинической медицины
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь*

*²Заместитель главного врача по организационно-методической работе
учреждения здравоохранения «Минский областной клинический центр
«Психиатрия-наркология»,
г. Минск, Беларусь
zam_glvr_omko@mokc.by*

*В статье представлены результаты исследования показателей нейрохи-
мической дисрегуляции у лиц с пагубным употреблением алкоголя (F10.1) и с син-
дромом зависимости (F10.2) по сравнению с контрольной группой. Установлено
статистически значимое снижение концентраций ФНО- α и ИЛ-10 в обеих груп-
пах пациентов относительно контроля, а также статически значимое увеличе-
ние уровня ИЛ-13 в группе F10.2 по сравнению с F10.1. У пациентов группы F10.1
выявлено повышение концентрации фосфорилированного Тау-белка (pTAU) по
сравнению с контролем. Выявлено преобладание аутоантител к GFAP и MBP
над содержанием соответствующих антигенов, что свидетельствует о фор-
мировании иммунного ответа. Полученные данные отражают нарушения в си-
стеме нейровоспалительных и нейрохимических маркеров при злоупотреблении
алкоголем.*

***Ключевые слова:** нейроспецифические белки; цитокины; антитела; зло-
употребление*

INDICATORS OF NEUROCHEMICAL DYSREGULATION IN ALCOHOL ABUSE

Abdul A.K.

*Research fellow, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine,
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
anastasiaabdul18@mail.ru*

Kazachok A.V.

- 1. Junior Research fellow, Research Institute of Experimental and Clinical
Medicine, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus*
- 2. Deputy chief physician for organizational and methodological work, Minsk
Regional Clinical Center "Psychiatry-Narcology", Minsk, Belarus
zam_glv_r_omko@mokc.by*

This article presents the results of a study of neurochemical dysregulation indices in individuals with harmful alcohol use (F10.1) and alcohol dependence syndrome (F10.2) compared to the control group. A statistically significant decrease in TNF- α and IL-10 concentrations was found in both patient groups relative to the control group, as well as a statistically significant increase in IL-13 levels in the F10.2 group compared to the F10.1 group. Patients in the F10.1 group showed an increase in phosphorylated Tau (pTAU) concentrations compared to the control group. A predominance of autoantibodies to GFAP and MBP over the corresponding antigens was revealed, indicating the development of an immune response. The findings reflect disturbances in the system of neuroinflammatory and neurochemical markers associated with alcohol abuse.

Key words: *neurospecific proteins; cytokines; antibodies; alcohol abuse*

Введение. Хроническое употребление алкоголя представляет собой серьезную медико-социальную проблему, обусловленную его полиорганным токсическим действием [1,2]. Патогенез алкогольной зависимости неразрывно связан с развитием атрофических и дегенеративных изменений головного мозга [3]. Ключевым звеном данных нарушений выступает длительное воздействие этанола, которое приводит к нарушению проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [1,4]. Следствием этого процесса является развитие нейровоспаления, активация микроглии и дисбаланс цитокинового каскада [2,3].

Биомаркеры активации нейроглии — специфические молекулы, экспрессия которых повышается при нейровоспалительных процессах и повреждениях центральной нервной системы (ЦНС), что указывает на переход микроглии и астроцитов в реактивное состояние [3,5]. К числу таких маркеров относят глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), отражающий степень астроглиоза, а также провоспалительные цитокины (интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β), ФНО- α), секретируемые активированной микроглией [5,6]. Помимо этого, важным индикатором повреждения нервной ткани выступает общий белок миелина (MBP) — структурный компонент миелиновых оболочек, изменение концентрации которого в

биологических жидкостях свидетельствует о демиелинизации [4]. В условиях повышенной проницаемости ГЭБ возможно формирование аутоиммунного ответа к компонентам нервной ткани, что может оцениваться по уровню антител к GFAP и МВР [3]. В последние годы также активно изучается роль фосфорилированного тау-белка (pTAU) как маркера нейродегенерации и когнитивных нарушений [7]. В связи с этим исследование широкого спектра нейрохимических показателей у лиц с разной степенью алкогольной зависимости является актуальным направлением медико-биологических наук [1,2,6].

Цель исследования: изучить показатели нейрохимической дисрегуляции у лиц с синдромом зависимости от алкоголя и пагубным употреблением алкоголя.

Материалы и методы. В исследование включено 130 пациентов, состоящих на наркологическом учёте в учреждении здравоохранения «Минский областной клинический центр «Психиатрия-наркология». Включение пациентов в исследование осуществлялось в соответствии со следующими критериями: верифицированные по МКБ-10 диагнозы F10.2 «синдром зависимости от алкоголя» и F10.1 «употребление алкоголя с пагубными последствиями»; наличие письменного информированного согласия; отсутствие в анамнезе черепно-мозговых травм, органических заболеваний головного мозга, неврологических, аутоиммунных, онкологических патологий, иных психических расстройств; отсутствие в течение 1 месяца до взятия биологического материала клинико-лабораторных проявлений острых и хронических инфекционных заболеваний, явных признаков аллергических процессов; отсутствие травм и оперативных вмешательств, а также терапии психотропными препаратами в течение последних 6 месяцев.

Группа с синдромом алкогольной зависимости (F10.2) представлена 75 пациентами в возрасте от 20 до 40 лет (средний возраст 32 ± 5 лет). Период от последнего употребления алкоголя составлял не менее 7 дней и соответствовал по медиане 30 (20–60) дней. Диагноз верифицировался при наличии у пациентов на протяжении месяца или периодически повторяющихся в течение 12 месяцев трёх или более следующих критериев: непреодолимое желание употребить алкоголь, затруднённый контроль приёма, абстинентный синдром, признаки толерантности, прогрессирующее пренебрежение альтернативными удовольствиями, продолжение употребления, несмотря на очевидные пагубные последствия.

Группа пациентов, употребляющих алкоголь с вредными последствиями (F10.1), включила 55 лиц (средний возраст 32 ± 4 года), у которых употребление алкоголя причиняло вред физическому или психическому здоровью, при этом отсутствовали признаки синдрома зависимости.

Группа сравнения состояла из 30 здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и полу, которые по данным анамнеза не имели психических и поведенческих расстройств, в том числе связанных с употреблением психоактивных веществ, у них отсутствовали черепно-мозговые травмы, неврологические, аутоиммунные, онкологические патологии, клинико-лабораторные признаки острых и хронических

инфекций, аллергические патологии, а также травмы и оперативные вмешательства в течение последних 6 месяцев.

Концентрацию исследуемых маркёров в плазме крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем производства «FineTest» и «Sunredbio» (КНР), а также «ВекторБест» (РФ). Результаты регистрировали на микропланшетном спектрофотометре Multiskan SkyHigh («Thermo Scientific», Финляндия).

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft, США). Проверку нормальности распределения выполняли с помощью критерия Шапиро-Уилка; полученные данные не соответствовали закону нормального распределения, что позволило применить непараметрические методы. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й ÷ 75-й процентиля). Для оценки различий между двумя независимыми группами использовали U-критерий Манна-Уитни. Для анализа зависимых выборок (сравнение антиген–аутоантитело) применяли критерий Уилкоксона. Для оценки взаимосвязи между показателями использовали ранговый корреляционный анализ Спирмена. Критический уровень значимости принимали равным 0,05.

Результаты. В ходе исследования были изучены уровни GFAP, MBP, аутоантител к ним, рТАУ, а также цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13).

Цитокиновый профиль пациентов, злоупотребляющих алкоголем.

Анализ цитокинов показал разнонаправленные изменения. Концентрация ИЛ-1 β во всех трёх группах находилась в близких пределах: в группе F10.2 — 0,95 (0,73-1,1) пг/мл; в группе F10.1 — 0,98 (0,80-1,46) пг/мл; в контроле — 0,90 (0,73-1,08) пг/мл ($p>0,05$). По уровню ИЛ-4 статистически значимых различий также не выявлено ($p>0,05$).

В отношении ФНО- α выявлено статистически значимое снижение в обеих группах пациентов по сравнению с контролем. В группе F10.2 медиана составила 1,28 (0,8-1,56) пг/мл ($p=0,008$, $U=369,0$); в группе F10.1 — 1,1 (0,77-1,39) пг/мл ($p=0,003$, $U=200,5$); в контроле — 1,65 (1,36-1,86) пг/мл. Различия между группами пациентов не достигли статистической значимости.

Уровень ИЛ-10 был резко снижен у пациентов: F10.2 — 0,53 (0,39-2,5) пг/мл; F10.1 — 0,62 (0,45-2,71) пг/мл; группа контроля — 2,22 (2,18-2,72) пг/мл. Различия были статистически значимы как для группы F10.2 по сравнению с контролем ($p<0,001$, $U=240,0$), так и для группы F10.1 относительно контроля ($p=0,004$, $U=190,5$).

Концентрация ИЛ-13 оказалась выше в группе F10.2 по сравнению с F10.1: 0,49 (0,13-2,4) пг/мл и 0,12 (0,1-0,15) пг/мл соответственно ($p=0,003$, $U=338,5$). В группе здоровых доноров уровень ИЛ-13 составил 0,16 (0,09–0,45) пг/мл, статистически значимых различий с пациентами не выявлено.

Содержание нейронных и глиальных биомаркеров и антител к ним в плазме пациентов, злоупотребляющих алкоголем.

Концентрация рТАУ в плазме составила: в группе здоровых лиц – 5,4 (4,9-6,0) пг/мл; в группе F10.2 – 6,45 (4,8-8,9) пг/мл; в группе F10.1 – 7,69 (5,33-13,3) пг/мл. У пациентов F10.1 выявлено статистически значимое повышение рТАУ по сравнению с контролем ($p=0,005$). В группе F10.2 наблюдалась тенденция к увеличению ($p>0,05$). Межгрупповое сравнение также показало более высокие значения рТАУ у лиц с пагубным употреблением алкоголя по сравнению с пациентами с синдромом зависимости ($p<0,05$).

Концентрация МВР в группе F10.2 составила 0,31 (0,24-0,36) нг/мл; в группе F10.1 – 0,26 (0,22-0,36) нг/мл; в группе контроля – 0,35 (0,3-0,45) нг/мл. Обнаружено достоверное снижение МВР у пациентов обеих групп по сравнению со здоровыми: для F10.2 $U=590,5$, $p=0,02$; для F10.1 $U=331,0$, $p=0,003$. При сравнительном анализе связанных пар «антиген–аутоантитело» установлено статистически значимое преобладание уровня аутоантител над содержанием соответствующих белков. В группе F10.2 различия для пары МВР/anti-МВР составили $Z=4,93$ ($p<0,001$), для пары GFAP/anti-GFAP – $Z=4,9$ ($p<0,001$). В группе F10.1 также выявлено значимое превышение anti-МВР над МВР ($Z=4,62$; $p<0,001$) и anti-GFAP над GFAP ($Z=4,3$; $p<0,001$).

Корреляционный анализ выявил сильные положительные связи между уровнем белка и соответствующими аутоантителами: для МВР и anti-МВР $r=0,94$ ($p<0,001$), для GFAP и anti-GFAP $r=0,62$ ($p<0,001$) в группе F10.2; в группе F10.1 – $r=0,66$ и $r=0,63$ ($p<0,001$). Также обнаружена значимая положительная корреляция между антителами к разным нейроантигенам (anti-GFAP и anti-МВР): в группе F10.2 $r=0,72$, в группе F10.1 $r=0,55$ ($p<0,05$). Это может свидетельствовать о формировании скоординированного иммунного ответа на фоне хронического нейровоспаления и повреждения ГЭБ.

Полученные данные демонстрируют сложную, разнонаправленную дисрегуляцию иммуно-нейрохимических показателей при злоупотреблении алкоголем. Снижение провоспалительного ФНО- α может быть следствием иммунной толерантности, развивающейся при хронической эндотоксемии [1, 9].

Дефицит противовоспалительного ИЛ-10 хорошо описан при алкоголизме: алкоголь подавляет продукцию ИЛ-10 моноцитами, что ведёт к хроническому воспалению и иммунодефициту [3]. Сочетание низкого ФНО- α и низкого ИЛ-10 создаёт нестабильный иммунный фон, что может способствовать хронизации воспаления и снижению противоинфекционной защиты. Повышение ИЛ-13 в группе F10.2 по сравнению с F10.1 может отражать переключение на альтернативный путь активации макрофагов (M2), ассоциированный с фиброзом и ремо-

делированием тканей, что ранее описано Zhang и соавторами (2019) при алкогольном поражении печени [8]. Это повышение коррелирует с тяжестью зависимости, что позволяет рассматривать ИЛ-13 как потенциальный маркер перехода от пагубного употребления к синдрому.

Повышение pTAU в группе F10.1 (пагубное употребление) и его нормализация (или тенденция к меньшему росту) в группе F10.2 может отражать острое токсическое действие этанола на цитоскелет нейронов на ранних этапах и возможную адаптацию при длительной зависимости. Это согласуется с данными о том, что умеренные дозы алкоголя вызывают гиперфосфорилирование тау в гиппокампе, тогда как хроническая интоксикация может приводить к истощению этого механизма [5].

Снижение MBP у пациентов (особенно в группе F10.1) говорит о возможном повреждении миелиновых оболочек. Подобные результаты были получены в исследовании на животных (Alfonso-Loeches et al., 2012), где показано, что этанол снижает экспрессию MBP в префронтальной коре [4, 6, 10].

Обнаруженное преобладание аутоантител над белками-антигенами при высоких корреляциях между ними формирует картину скоординированного аутоиммунного ответа, что, вероятно, обусловлено хроническим повреждением ГЭБ и постоянным поступлением нейроантигенов в кровоток. Ye и соавторы (2025) в своем обзоре также подчёркивают, что активация микроглии при алкоголизме ведёт к высвобождению антигенов и последующей продукции антител [3]. Таким образом, данное исследование вносит вклад в понимание нейрохимической дисрегуляции при злоупотреблении алкоголем, отражая разнонаправленный характер изменений, которые зависят от стадии процесса.

Выводы. У лиц с синдромом алкогольной зависимости (F10.2) и пагубным употреблением алкоголя (F10.1) выявлено статистически значимое снижение уровня провоспалительного цитокина ФНО- α и противовоспалительного цитокина ИЛ-10 по сравнению с контролем. Уровень ИЛ-13 в группе F10.2 был достоверно выше, чем в группе F10.1, что может служить дифференциальным маркером тяжести расстройства. Концентрация фосфорилированного тау-белка (pTAU) повышена только в группе пагубного употребления алкоголя (F10.1), что может указывать на различия в нейродегенеративных изменениях при разной длительности и интенсивности употребления алкоголя. Содержание основного белка миелина (MBP) снижено в обеих группах пациентов, причём более выражено в группе F10.1. Вероятными механизмами являются прямое нейротоксическое действие этанола и его метаболитов, оксидативный стресс, хроническое нейровоспаление, а также нарушение метаболических процессов, регулирующих синтез и утилизацию миелина. Установлено значимое преобладание аутоантител к GFAP и MBP над соответствующими антигенами, а также сильные корреляционные связи между ними, что свидетельствует о формировании иммунного ответа на фоне нарушения гематоэнцефалического барьера. Полученные данные

подтверждают концепцию воспаления и сложной нейрохимической дисрегуляции при злоупотреблении алкоголем, что требует дальнейшего изучения в рамках поиска биомаркеров формирования алкогольной зависимости.

Список литературы

1. Leclercq, S. Intestinal permeability, gut-bacterial dysbiosis, and behavioral markers of alcohol-dependence severity / S. Leclercq, S. Matamoros, P.D. Cani [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2014. – Vol. 111, № 42. – P. E4485–E4493.
2. Crews, F.T. Mechanisms of neuroimmune gene induction in alcoholism / F.T. Crews, R.P. Vetreno // *Psychopharmacology.* – 2016. – Vol. 233, № 9. – P. 1543–1557.
3. Ye, J.-H. Neuroimmune Mechanisms in Alcohol Use Disorder: Microglial Modulation and Therapeutic Horizons / J.-H. Ye, W. Zuo, F. Chaudhry [et al.] // *Psychoactives.* – 2025. – Vol. 4, № 3. – P. 1–28.
4. Alfonso-Loeches, S. Gender differences in alcohol-induced neurotoxicity and brain damage / S. Alfonso-Loeches, M. Pascual, C. Guerri // *Neurotoxicology.* – 2012. – Vol. 33, № 5. – P. 1112–1125.
5. Szabo, G. A recent perspective on alcohol, immunity, and host defense / G. Szabo, P. Mandrekar // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 2009. – Vol. 33, № 2. – P. 220–232.
6. Domi, E. Neurobiology of alcohol seeking behavior / E. Domi [et al.] // *J. Neurochem.* – 2021. – Vol. 157, № 5. – P. 1585–1614.
7. Saito, M. Tau phosphorylation and its regulation by ethanol / M. Saito, G. Chakraborty, R.F. Mao [et al.] // *Neurochem. Res.* – 2016. – Vol. 41, № 7. – P. 1623–1633.
8. Zhang, W. Interleukin-13 in alcoholic liver disease / W. Zhang, R. Feng, L. Wang // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2019. – Vol. 34, № 5. – P. 847–854.
9. Hillmer, A. T. Acute alcohol consumption alters the peripheral cytokines IL-8 and TNF- α / A. T. Hillmer [et al.] // *Alcohol.* – 2020. – Vol. 85. – P. 95–99.
10. Юркевич, М.Ю. Цитокины и нейроспецифические белки у пациентов с синдромом зависимости от алкоголя / М.Ю. Юркевич, Ж.А. Ибрагимова, А.К. Абдул [и др.] // *Cifra. Медико-биологические науки.* – 2025. – № 3 (6). – С. 1–4.

СТРУКТУРНЫЕ АНАЛОГИ РЕСВЕРАТРОЛА КАК ЭФФЕКТИВНЫЕ АКТИВАТОРЫ СИРТУИНА ПЕРВОГО ТИПА IN SILICO

Краецкая О.Ф., Фандо Г.П.

Краецкая О.Ф.

Кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»

г. Минск, Беларусь
kot-oksi@yandex.ru

Фандо Г.П.

Кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»

г. Минск, Беларусь
gfando@mail.ru

Ресвератрол — природный фитоалексин, производное транс-стильбена, полифенол. Исследованию его физиологических эффектов посвящено большое количество работ, в которых для него было показано антиоксидантное, противовоспалительное, нейропротекторное, противоопухолевое, антибактериальное и противовирусное действие. Многие исследования связали пользу ресвератрола для здоровья с модуляцией активности SIRT1, ключевого члена семейства NAD^+ -зависимых деацетилаз млекопитающих. В последние десятилетия большое внимание уделялось созданию структурных аналогов ресвератрола для улучшения фармакологической активности, фармакокинетики и селективности действия прототипа. Данная работа посвящена структурным аналогам ресвератрола, полученным с помощью компьютерного моделирования путем введения в его молекулу различных гетероциклических фрагментов, как с целью увеличения биологической активности полученных структур в отношении SIRT1, так и с целью повышения их биодоступности в организме. Из предложенных 40 структурных аналогов ресвератрола, лучшие значения сродства к SIRT1 имели соединения, содержащие фрагменты имидазола, тиюфена и индола.

Ключевые слова: ресвератрол, структурные аналоги ресвератрола, сиртуины, активаторы SIRT1, компьютерное моделирование.

STRUCTURAL ANALOGUES OF RESVERATROL AS EFFECTIVE TYPE 1 SIRTINE ACTIVATORS IN SILICO

Krayetskaya O.F.

*PhD of chemistry, Associate Professor of the Department of General Chemistry
of the Belarusian State Medical University
Minsk, Belarus
kot-oksi@yandex.ru*

Fando G.P.

*PhD of chemistry, Associate Professor of the Department of General Chemistry
of the Belarusian State Medical University
Minsk, Belarus
gfando@mail.ru*

Resveratrol is a natural phytoalexin. It is a derivative of trans-stilbene. Numerous studies have been conducted on its physiological effects. Resveratrol has antioxidant, anti-inflammatory, neuroprotective, antitumor, antibacterial, and antiviral properties. Resveratrol has been shown to improve health by modulating SIRT1 activity, a critical member of the mammalian NAD^+ -dependent deacetylase family, in many studies. In the last few years, a lot of effort has been put into creating structural analogues of resveratrol to enhance its pharmacological activity, pharmacokinetics, and selectivity. The focus of this project is on obtaining structural analogs of resveratrol using computer modeling and the incorporation of various heterocyclic fragments into its molecules to increase bioavailability in the body. The structures proposed to substitute resveratrol with imidazole, thiophene, and indole moieties had the best affinity values for SIRT1 compared to the 40 other proposed structural analogs.

Key words: *resveratrol, structural analogues of resveratrol, sirtuins, SIRT1 activators, computer modeling.*

Сиртуины (SIRT) представляют собой уникальные деацетилазы гистонов, активность которых зависит от концентрации NAD^+ . В организме человека присутствуют семь видов сиртуинов — SIRT1-SIRT7. Самый изученный SIRT1 привлёк значительное внимание как эпигенетический регулятор в широкой области физиологии человека: изменения в его экспрессии и активации имеют решающее значение при ряде заболеваний, включая метаболический синдром, сердечно-сосудистые заболевания, рак и нейродегенеративные заболевания [1].

Роль SIRT1 у млекопитающих изучена не полностью, но включает модуляцию по меньшей мере 34 различных мишеней посредством его деацетилазной активности [1]. Недавние эксперименты [1-3] с использованием низкомолекулярных активаторов и генетически модифицированных мышей дали новое понимание роли этого фермента в биологии млекопитающих и помогли выявить некоторые потенциально важные мишени (рис. 1).

Известными активаторами работы SIRT1 являются — никотинамид, триптофан, никотиновая кислота, которые регулируют концентрацию НАД⁺ в клетке, а самым мощным — ресвератрол [1].

Ресвератрол (3,5,4'-тригидроксиستيرбен) относится к фитоалексинам полифенольной природы — группе широко распространенных соединений растительного происхождения. Благодаря наличию в структуре двойной связи С=С, он может существовать в виде *цис*- и *транс*-конфигураций (рис. 2), которые при определенных условиях достаточно легко переходят друг в друга. В природных условиях преобладает более устойчивый *транс*-ресвератрол, впервые обнаруженный и выделенный в чистом виде японским исследователем М. Такаока еще в 1940 г. из одного из видов черемиды (*Veratrum grandiflorum*) [4]. В дальнейшем этот фитоалексин был идентифицирован во многих природных объектах: коре сосны, орехах (арахис, фисташки), какао-бобах, ягодах (малина, слива, виноград) и др. В настоящее время основными природными источниками ресвератрола являются экстракты кожицы и семян винограда, а также экстракт корней горца японского [4,5].

Сиртуин 1 (SIRT1)



Рис. 1. Мишени SIRT1

Интерес к ресвератролу резко возрос в 1992 г., когда была выдвинута гипотеза для объяснения кардиопротекторных эффектов красного вина и так называемого «французского парадокса» — относительно низкой частоты сердечно-сосудистых заболеваний в тех регионах Франции, где совместно с высококалорийной диетой с большим содержанием насыщенных жиров употребляется значительное количество красного вина [5]. Последующие многочисленные исследования, обобщенные в ряде обзоров, показали наличие у ресвератрола не только кардиопротекторных, но и противоопухолевых, нейропротекторных и противовоспалительных свойств [1-6], а также способность замедлять процессы старения и увеличивать продолжительность жизни, что было показано для ряда

организмов (дрожжи, черви, мухи и рыбы) [4-7]. Многие из этих эффектов опосредованы выраженными антиоксидантными свойствами соединения [1-3]. Однако мультитаргетность действия ресвератрола на практике ассоциирована с относительно невысокой клинической эффективностью. Недостаточная терапевтическая эффективность препарата у человека многими авторами объясняется низкой биодоступностью, связанной с очень быстрой пресистемной элиминацией в кишечнике и печени [5-7]. В связи с этим проводится активный поиск синтетических аналогов ресвератрола в направлении повышения фармакологической активности или селективности действия. Представленные в литературе модификации структуры «нового» соединения ресвератрола, можно разделить на три ключевых направления [4-7]:

- 1) варьирование типа, числа и количества заместителей в стильбеновой подложке ресвератрола;
- 2) замена арильных фрагментов на гетероциклические структуры;
- 3) модификация линкера (молекулярного фрагмента, содержащего реакционноспособные функциональные группы), соединяющего бензольные кольца.

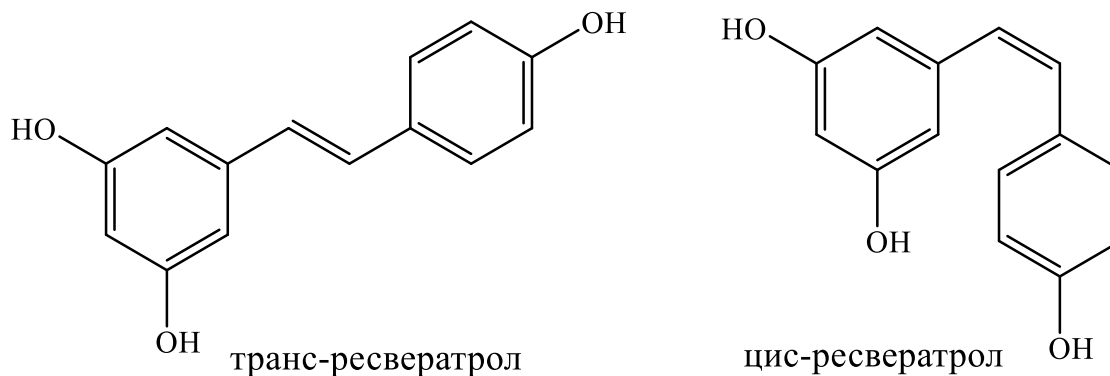


Рис. 2. Структуры изомеров ресвератрола

В данной работе для повышения биодоступности и потенциальной эффективности действия ресвератрола была осуществлена его модификация разнообразными гетероциклическими фрагментами.

Цель: Спрогнозировать *in silico* возможность связывания гетероциклических производных *транс*-ресвератрола с SIRT1 с дальнейшей перспективой разработки нового лекарственного средства с большей биодоступностью и эффективностью действия по сравнению с прототипом.

Задачи исследования:

1. Создать с помощью специализированных химических программ новые структуры гетероциклических производных *транс*-ресвератрола.
2. Используя программы молекулярного докинга, спрогнозировать возможность связывания гетероциклических производных *транс*-ресвератрола с SIRT1 и сравнить полученные результаты с аналогичными показателями для *транс*-ресвератрола.

Методы исследования. Дизайн трехмерных молекулярных структур *транс*-ресвератрола и его гетероциклических производных осуществлен в химических программах ChemDraw Pro 16.0 и Chem3D 16.0. Структура SIRT1 выделена из программы Protein Data Bank, PDB — банка данных трёхмерных структур белков и нуклеиновых кислот [8]. Молекулярная стыковка лиганд-белок выполнена с помощью программы Dockingserver.

Результаты и их обсуждение. Было предложено 40 структур соединений, гетероциклических производных ресвератрола. С помощью программы молекулярного докинга была изучена их аффинность по отношению к SIRT1. Лучшие результаты показали соединения, содержащие гетероциклические фрагменты гидрофобных соединений — имидазола, тиюфена, индола. Энергия связывания (G_i) с SIRT1 в их присутствии составила от -5 до -7 ккал/моль (рис. 3).

Наибольшее отрицательное значение G_i при связывании с SIRT1 наблюдалось у производного ресвератрола, содержащего в качестве модификационной добавки индол (рис. 3), что может свидетельствовать о наличии большей селективности этого производного к SIRT1.

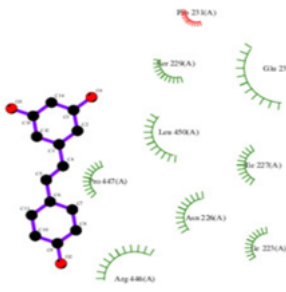
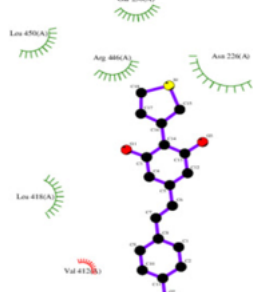
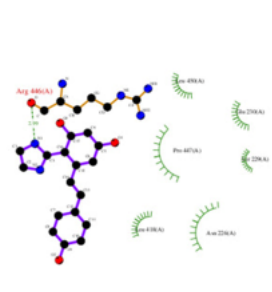
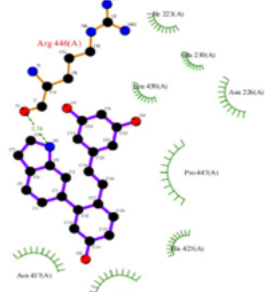
Ресвератрол	Производное с тиюфеном	Производное с имидазолом	Производное с индолом
-4,21 ккал/моль	-5,09 ккал/моль	-5,35 ккал/моль	-6,91 ккал/моль
			

Рис. 3. Взаимодействие гетероциклических производных ресвератрола с SIRT1

Выводы. В ходе проведенного исследования *in silico* были выявлены структуры новых соединений — гетероциклических производных ресвератрола — проявляющих бóльшую, по сравнению с прототипом аффинность к SIRT1 и, на наш взгляд, бóльшую биодоступность из-за присутствия в них гидрофобных фрагментов. Это дает возможность рассматривать их в качестве новых препаратов — активаторов SIRT1, лишенных таких недостатков ресвератрола, как низкая биодоступность и недостаточная селективность действия в отношении SIRT1.

Список литературы

1. Bersen E. High Levels of SIRT1 Expression as a Protective Mechanism Against Disease-Related Conditions // E.Bersen. K.Ulkan / *Frontiers in Endocrinology*. – 2018 – V.9. P. 106-118.
2. Чаулин А.М. Сиртуины и сосудистое старение // А.М. Чаулин, Ю.В. Григорьева / *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. – 2020 – № 12, С. 49-54.
3. Пухальская А.Э. Сиртуины и старение // А.Э. Пухальская, И.М. Кветной, Н.С. Линькова и др. / *Успехи физиологических наук* – 2022 – Т. 53, № 1, стр. 16-27.
4. Цейликман В.Э. Биологическая активность ресвератрола // В.Э. Цейликман, А.А. Лукин / *Международный научно-исследовательский журнал*. – 2022 – №4 (2), С.131-137.
5. Семенов А.В. Гетероциклические аналоги ресвератрола – синтез и физиологическая активность. Часть 1. Аналоги, полученные заменой арильных фрагментов на гетероциклические структуры // А.В. Семенов, Е.В. Семенова, О.И. Балакирева / *Биоорганическая химия* – 2021 – Т. 47, № 1, С.111-128.
6. Berman Adi.Y. The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical trials // Adi Y. Berman, Rachel A. Motechin, Maia Y. Wiesenfeld, Marina K. Holz / *Precision oncology*. – 2017 – 25 Septembe, P. 98-116.
7. Fei Qinqin. Molecular Mechanism of Resveratrol's Lipid Membrane Protection // Qinqin Fei, David Kent, Wesley M. Botello-Smith / *Scientific Reports* – 2018 – 25 January, P. 158-169.
8. Protein Data Bank [Электронный ресурс]. – Режим доступа к ресурсу: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>.

**ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ
ГИДРОКСИБЕНЗАЛЬДЕГИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АЛКАЛОИДОВ
АНАБАЗИНА И ЦИТИЗИНА**

**Маргун Е.Н., Дикусар Е.А., Мукушева Г.К., Сейдахметова Р.Б., Поткин В.И.
Маргун Е.Н.**

*Магистрант, младший научный сотрудник лаборатории химии гетероциклических соединений государственного научного учреждения
«Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси»,*

*г. Минск, Беларусь
margunen0555@gmail.com*

Дикусар Е.А.

*Кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии гетероциклических соединений государственного научного учреждения
«Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси»,*

*г. Минск, Беларусь
digusar@ifoch.bas-net.by*

Мукушева Г.К.

Кандидат химических наук, профессор, заведующая кафедрой неорганической и технической химии химического факультета УО «Карагандинский национальный исследовательский университет имени академика Е.А. Букетова»,

*г. Караганда, Казахстан
mukushevagulim5@gmail.com*

Сейдахметова Р.Б.

*Кандидат медицинских наук, профессор
УО «Карагандинский медицинский университет»,*

*г. Караганда, Казахстан
rozabat@mail.ru;*

Поткин В.И.

*Академик, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией химии гетероциклических соединений государственного научного учреждения
«Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси»,*

*г. Минск, Беларусь
potkin@ifoch.bas-net.by*

В условиях аминометилирования Манниха в гидроксibenзальдегидные скаффолды были введены фрагменты алкалоидов анабазина и цитизина. На основе полученных оснований Манниха конденсацией с ампироном синтезированы (Е)-азо-метины. Образцы синтезированных продуктов испытаны на антимикробную, цитотоксическую, анальгетическую и противовоспалительную активность in vitro и in vivo. Все испытанные соединения проявили активность разной степени выраженности, лучшую комплексную активность показало соединение 6.

Ключевые слова: анабазин; цитизин; гидроксibenзальдегиды; основания Манниха; ампирон; азометины; биологическая активность

EVALUATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF NOVEL HYDROXYBENZALDEHYDE DERIVATIVES OF ANABASINE AND CYTISINE ALKALOIDS

Margun E.N.

*Master's student, Junior Researcher of the Laboratory of Chemistry of Heterocyclic Compounds, State Scientific Institution "Institute of Physical and Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus
margunen0555@gmail.com*

Dikuser E.A.

*Candidate of Chemistry, Senior Researcher, Laboratory of Chemistry of Heterocyclic Compounds, State Scientific Institution "Institute of Physical and Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus
dikuser@ifoch.bas-net.by*

Mukusheva G.K.

*Candidate of Chemistry, Professor, Head of the Department of Inorganic and Technical Chemistry, Faculty of Chemistry, Karaganda National Research University named after Academician E.A. Buketova, Karaganda, Kazakhstan
mukushevagulim5@gmail.com*

Seidakhmetova R.B.

*Candidate of Medical Sciences, Professor, Karaganda Medical University, Karaganda, Kazakhstan
rozabat@mail.ru*

Potkin V.I.

*Academician, Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Chemistry of Heterocyclic Compounds, State Scientific Institution "Institute of Physical and Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus
potkin@ifoch.bas-net.by*

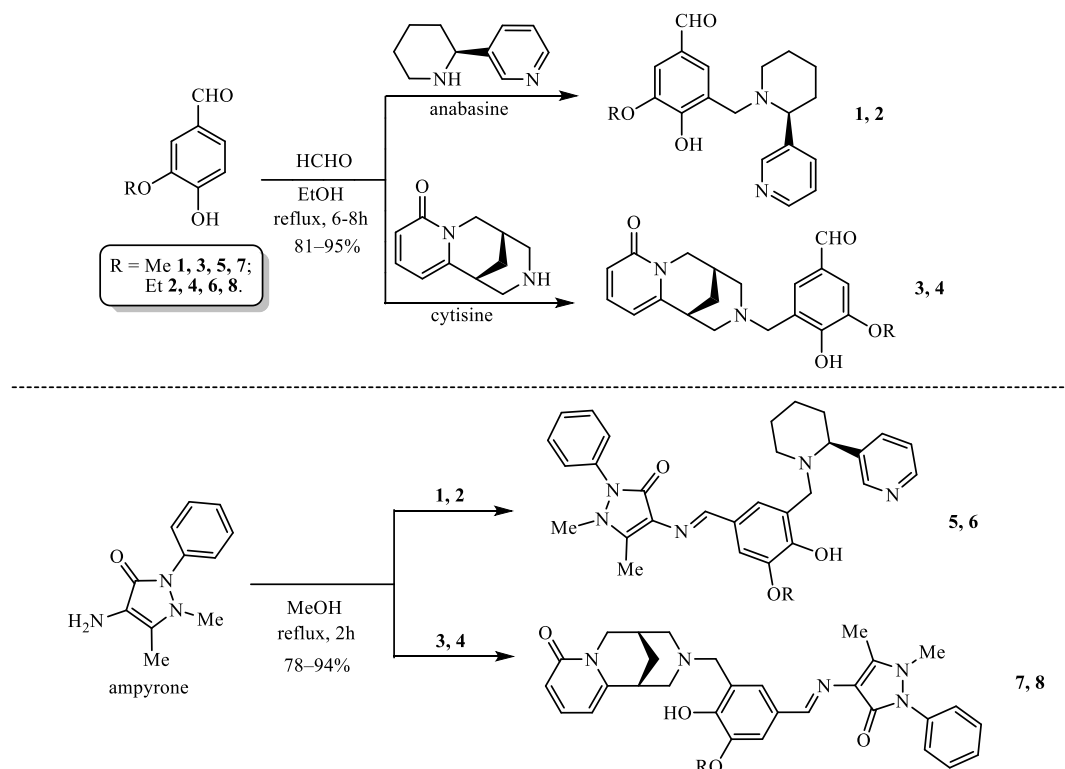
Under Mannich aminomethylation conditions, fragments of the alkaloids anabasine and cytisine were introduced into hydroxybenzaldehyde scaffolds. Based on the obtained Mannich bases, (E)-azomethines were synthesized by condensation with ampyrone. Samples of the synthesized products were tested for antimicrobial, cytotoxic, analgesic, and anti-inflammatory activity in vitro and in vivo. All tested compounds exhibited varying degrees of activity, with compound 6 demonstrating the best complex activity.

Key words: anabasine; cytisine; hydroxybenzaldehydes; Mannich bases; ampyrone; azomethines; biological activity

Введение. Одной из успешных стратегий разработки лекарственных средств является модификация природных соединений. В данном ключе особое значение имеют алкалоиды, которые имеют широкий спектр воздействия на здоровье человека [1]. Среди синтетических подходов в синтезе лекарственных соединений в течение многих лет сохраняется устойчивый интерес к основаниям Манниха. Аминометилование может быть использовано как для введения фармакофора, так и для регулирования гидрофильно-липофильных свойств лекарственных соединений, что способствует улучшению доставки лекарства в организм человека [2]. Путь разработки новых лекарственных соединений посредством объединения двух фармакофорных фрагментов с иминогруппой ($-C=N-$) в качестве связующего звена перспективен, поскольку такие конъюгаты нивелируют токсическое действие альдегидных и аминных компонентов [3].

Идея этой работы заключается в использовании удобных мультифункциональных гидроксibenзальдегидных линкеров [4] для направленного синтеза конъюгатов, содержащих различные сочетания фармакофорных фрагментов. Модифицируемые алкалоиды анабазин и цитизин воздействуют на никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (nAChR), благодаря чему применяются для лечения никотиновой зависимости [5]. Ампирон (4-аминоантипирин) известен своими обезболивающим, противовоспалительным и жаропонижающим свойствами [6], поэтому продукты его модификации обладают высоким потенциалом к проявлению биологической активности.

Результаты. По реакции Манниха был получен ряд оснований Манниха **1–4** — производных алкалоидов (анабазина и цитизина) и гидроксibenзальдегидов (ванилина и ванилаля) [7]. Выходы продуктов аминометилирования составили 81–95 %. Далее посредством конденсации между альдегидной группой оснований Манниха и аминогруппой ампирона были получены (*E*)-азометины **5–8** с выходами 78–94 % [8]. Описанные превращения схематично представлены на рисунке 1.


 Рис. 1. Схема синтеза оснований Манниха **1-4** и азометинов **5-8**

Для образцов синтезированных соединений **1-3, 5, 6** проведены исследования их антимикробной активности в отношении тест-штаммов грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, грамотрицательных бактерий *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и дрожжевого грибка *Candida albicans* методом серийных разведений с определением минимально-ингибирующей концентрации (МИК) (таблица 1). В качестве препаратов сравнения использовались антибактериальный препарат — цефтриаксон и противогрибковый препарат — нистатин.

Противовоспалительную активность образцов соединений **1-3, 5, 6** изучали на модели острой экссудативной реакции (перитонит) на белых беспородных крысах обоего пола массой 200–210 г. Противовоспалительную активность выражали в процентах уменьшения количества воспалительного экссудата в брюшной полости у опытных крыс по сравнению с контрольными. Анальгетическую активность изучали на экспериментальной модели химического раздражения брюшины, индуцированного введением уксусной кислоты (тест «Уксусные корчи») на белых беспородных мышах массой 20–25 г. Уменьшение количества корчей у животных, по сравнению с контрольной группой, служило показателем анальгетической активности исследуемых веществ. В качестве препарата сравнения использовали диклофенак натрия. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ «Statistica 8.0».

Цитотоксичность образцов оценивали в тесте выживаемости личинок морских рачков *Artemia salina* (Leach). Контроль — ДМСО в эквивалентных количествах. Тест проводили с использованием противоопухолевого препарата сравнения — дактиномицина (актиномицин D). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы FIN.

Таблица 1

**Антимикробная, противовоспалительная, анальгетическая и цитотоксическая
активность соединений 1–3, 5, 6**

Активность	№				
	1	2	3	5	6
Антимикробная активность (МИК, мкг/мл)*					
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	25	12,5	50	25	12,5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	50	-	25	-	50
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	25	50	25	25	12,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	50	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-
Противовоспалительная активность**					
Доза, мг/кг	25	25	25	25	25
Количество экссудата, мл	5,7±0,8	5,7±0,4	6,6±0,8	7,0±0,2	5,8±0,6
Уменьшение количества воспалительного экссудата, %	19,7	19,7	7,0	1,4	18,3
Анальгетическая активность***					
Доза, мг/кг	25	25	25	25	25
Количество корчей	59±9	66±10	96±11	79±9	56±9
Снижение количества корчей, %	43,8	37,2	8,2	24,2	47,8
Цитотоксическая активность****					
LD ₅₀ , мкг/мл	-	-	-	93,4	-

Примечание: *цефтриаксон (ATCC 6538 — 6,3; ATCC 6633 — 12,5; ATCC 25922 — 6,3; ATCC 27853 — 12,5), нистатин (ATCC 10231 — 12,5);

** контроль (количество воспалительного экссудата 7,1±0,3 мл, % — 100; при дозе 8 мг/кг диклофенака натрия — 4,5±0,5, уменьшение количества противовоспалительного экссудата — 36,6 %); ***контроль [снижение количества корчей — 105±9 (0 %)]; при дозе 8 мг/кг диклофенака натрия — 49±9 (52,9 %)];

****дактиномицин (актиномицин D) 45,9 мкг/мл.

Заключение. Проведено биотестирование новых оснований Манниха на основе 4-гидроксibenзальдегидов (ванилина и ванилаля) и алкалоидов (анабазина и цитизина), а также их конъюгатов с ампирином. Все испытанные продукты проявили умеренную или слабую антибактериальную активность (МИК = 12,5–50), а в случае анабазинового производного **6** минимальная ингибирующая концентрация в отношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* оказалась минимальной (МИК = 12,5). Противогрибкового действия у веществ **1–6** по отношению к *Candida albicans* не обнаружено. Среди испытанных соединений анабазиновые производные **1** и **2** проявили умеренную анальгетическую активность, а азометин **6** показал выраженный анальгетический эффект, сопоставимый с действием препарата сравнения. Вещества **1, 2, 6** также проявили слабую противовоспалительную активность. Цитотоксическое действие к *Artemia salina* (Leach) выявлено у азометина **5**. Полученные данные представляют интерес для дальнейшей направленной модификации природных соединений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, грант X25МП-011.

Список литературы

1. Heinrich, M. Alkaloids Used as Medicines: Structural Phytochemistry Meets Biodiversity – An Update and Forward Look / M. Heinrich, J. Mah, V. Amirkia // *Molecules*. – 2021. – V. 26. – №1836. – 18 p.
2. Roman, G. Mannich bases in medicinal chemistry and drug design (Mini-review) / G. Roman // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2015. – V. 89. – P. 743–816.
3. Nidhi Schiff bases and their possible therapeutic applications: A review / Nidhi [et al.] // *Results in Chemistry*. – 2025. – Vol. 13. – №101941. – 16 p.
4. Дикусар, Е. А. Методология поиска современных биологически активных соединений и перспективных лекарственных средств / Е. А. Дикусар, Е. А. Акишина, С. Г. Степин, В. А. Кульчицкий, В. И. Поткин // *Физико-химическая биология как основа современной медицины : материалы Междунар. науч.-практ. конф., 28 окт. 2022 г., г. Минск ; редкол.: В. В. Хрусталев [и др.]*. – Минск: БГМУ, 2022. – С. 61–65.
5. Mukusheva, G. K. Synthesis and Biological Activity of N-acyl Anabasine and Cytisine Derivatives with Adamantane, Pyridine and 1,2-Azole Fragments / G. K. Mukusheva [et al.] // *Molecules*. – 2022. – V. 27, №21. – №7387. – 19 p.
6. Akhmadiev, N.S. Green synthesis of new sulfanyl derivatives of ampyrone and prediction of their anti-inflammatory activity / N.S. Akhmadiev, E.S. Mescheryakova, V.R. Khairullina, V.R. Akhmetova, A.G. Ibragimov // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. – 2020. – Vol. 56, №4. – P. 473–481.
7. Маргун, Е.Н. Синтез биологически активных гидроксibenзальдегидных оснований Манниха / Е.Н. Маргун [и др.] // *Молодежь в науке – 2025: Тез. докл. XXII Международ. научной конф. молодых ученых «Молодежь в науке»*. Минск, 16-18 сентября 2025 г. В 4 частях. Часть 1. Аграрные науки, химия и науки о Земле. / Нац. акад. наук Беларуси, Совет молодых ученых; редкол. В.Л. Гурский (гл. ред.) [и др.] – Минск: «Беларуская навука», 2025. – С. 208–210.
8. Маргун, Е.Н. Синтез биологически активных азометиновых производных 4-аминоантипирина и гидроксibenзальдегидных оснований Манниха / Е.Н. Маргун [и др.] // *Тез. докл. Всероссийской молодежной научной школы-конференции «Актуальные проблемы органической химии»*. 22-27 Марта, 2026. – Шерегеш, 2026. – С. 126.

КАЛЬЦИЙФОСФАТНЫЕ БИОМАТЕРИАЛЫ В ФОРМЕ ВАТЫ

Крутько В.К., Мусская О.Н., Кулак А.И.

Крутько В.К.

*Кандидат химических наук, доцент, заведующий лабораторией, Государственное научное учреждение «Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
tsuber@igic.bas-net.by*

Мусская О.Н.

*Кандидат химических наук, доцент ведущий научный сотрудник, Государственное научное учреждение «Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
muskaja@igic.bas-net.by*

Кулак А.И.

*Доктор химических наук, академик, директор, Государственное научное учреждение «Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
kulak@igic.bas-net.by*

Целью работы являлся синтез кальцийфосфатов с волокнистой микроструктурой в форме ваты. В условиях гидротермального синтеза из растворов нитрата кальция и гидрофосфата аммония в присутствии 1 М раствора карбамида в течение 18–52 ч кипячения получен октакальцийфосфат с волокнистой микроструктурой, который при 37°C высыхает в виде кальцийфосфатаной ваты. Волокнистый октакальцийфосфат значительно гидратирован и после отжига при 800°C кристаллизуется в трикальцийфосфат (80 %) и пирофосфат кальция (20 %). Кальцийфосфатная вата может быть использована в качестве резорбируемых биоматериалов с доставкой лекарственных средств.

Ключевые слова: кальцийфосфатные биоматериалы; октакальцийфосфат, волокнистая микроструктура, резорбируемость

CALCIUM PHOSPHATE BIOMATERIALS ACTIVATED BY APATITE STRUCTURES

Krut'ko V.K.

PhD Sci. (Chemistry), Assistant Professor, Head of the Laboratory, Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk
tsuber@igic.bas-net.by

Musskaya O.N.

PhD Sci. (Chemistry), Assistant Professor, Leading Researcher, Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk
muskaja@igic.bas-net.by

Kulak A.I.

Dr. Sci. (Chemistry), Academician, Director, Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk
kulak@igic.bas-net.by

The aim of this study was to synthesize calcium phosphates with a fibrous microstructure in the form of cotton wool. Hydrothermal synthesis from calcium nitrate and ammonium hydrogen phosphate solutions in the presence of a 1 M urea solution over 18–52 hours of boiling yielded octacalcium phosphate with a fibrous microstructure, which dries at 37°C to form calcium phosphate wool. The fibrous octacalcium phosphate is significantly hydrated and, after annealing at 800°C, crystallizes into tricalcium phosphate (80 %) and calcium pyrophosphate (20 %). Calcium phosphate wool can be used as resorbable biomaterials for drug delivery.

Key words: calcium phosphate biomaterials; octacalcium phosphate, fibrous microstructure, resorbability

В последнее время многие исследования посвящены получению деформируемых кальцийфосфатных (КФ) биоматериалов [1–4] таких как гидроксиапатит и его аналоги с высокой гибкостью, мягкостью и эластичностью на основе нанопроволок. Предложены разные стратегии решения проблемы хрупкости КФ биоматериалов путем создания КФ нанопроволок в качестве деформируемых биоматериалов для регенерации костей, заживления ран кожи, создания искусственной надкостницы, биомедицинской бумаги, рассасываемой ваты и др. Гидротермальный синтез позволяет получать функциональные материалы с уникальной морфологией (наночастицы, наносферы, нанотрубки, наностержни, нанонити, наноленты) и микроструктурой [5–8]. Применяемые минерализаторы способствуют образованию наночастиц с узким распределением по размерам с контролируемой формой. Добавление модификаторов поверхности позволяет ингибировать рост кристаллов и способствует получению наночастиц заданного размера. Целью работы являлось получить мягкий КФ биоматериал в форме ваты с волокнистой микроструктурой.

Гидротермальный синтез проводили в круглодонной колбе с холодильником на кипящей водяной бане при 90°C в реакционной смеси растворов 1,14 М нитрата кальция (Sigma Aldrich), 0,10 М гидрофосфата аммония (Carl Roth), 1,0

М карбамида (ч., Реахим) и 0,5 М азотной кислоты (х.ч., ЗАО «База №1 Химреактивов») с рН 7 в течение 18–52 ч кипячения. Для идентификации рыхлые осадки высушивали при 37°C и отжигали при 800°C в течение 5 ч. Морфологию образцов после высушивания изучали на настольном сканирующем электронном микроскопе ZEM 18 (Мелитек, Россия). Рентгенофазовый анализ (РФА) проводили на дифрактометре Колибри сер. № 6 (Буревестник, Россия) при $\text{CuK}\alpha=0,15405$ нм. ИК-спектроскопию проводили на ИК-Фурье спектрометре Tensor-27 с Hyperion микроскопом (Bruker, Германия) и 15-кратным Gіr-объективом, КР-спектры записывали на 3D сканирующем лазерном Рамановском спектрометре Confotec MR350 (Solinstruments, Беларусь) при $\lambda=532$ нм (объектив $\times 100$). Термический анализ проводили на синхронном термическом анализаторе STA 409 PC LUXX (Netzsch, Германия) на воздухе при скорости нагрева 7°C/мин (28 мг масса навески).

Рыхлый КФ осадок начинал формироваться только после 5 ч кипячения, дальнейшее время кипячения способствовало образованию большего количества осадка, который высыхал до мягких конгломератов ваты (рис. 1, а). Согласно СЭМ, после 18 ч кипячения КФ вата представлена тонкими и толстыми нановолокнами (рис. 1, б), хаотично ориентированными, и околосферическими зародышами диаметром до 10 нм, из которых формируются нановолокна. Увеличение времени кипячения до 52 ч приводило к утолщению КФ волокон до 30 нм (рис. 1, в), которые собирались в плотные пучки с хаотичной ориентацией, околосферические зародыши отсутствовали.

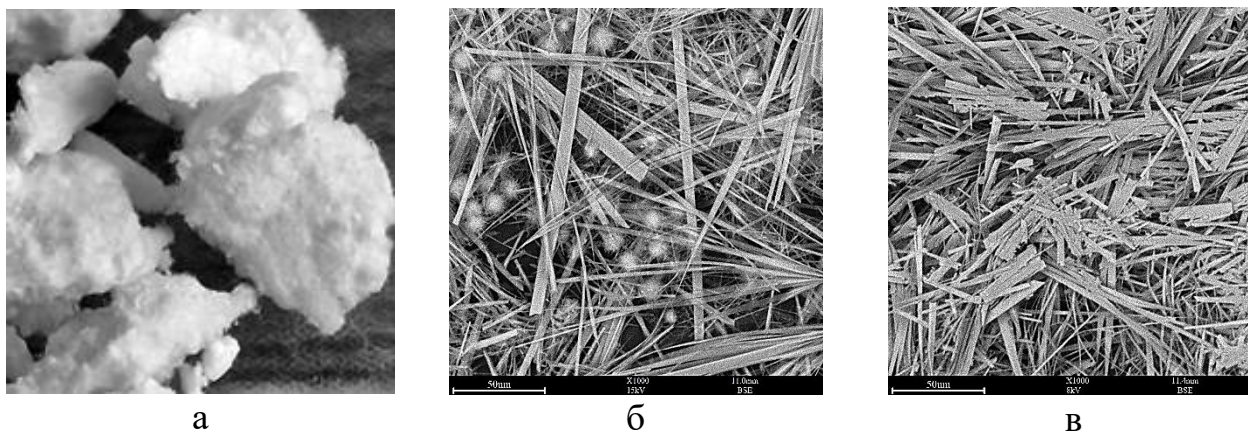


Рис. 1. Фотоснимок КФ ваты (а) и СЭМ-изображения КФ ваты после 18 ч (б) и 52 ч (в) кипячения.

Синтезированная в гидротермальных условия КФ вата представлена октакальцийфосфатом (ОКФ) формулой $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ с основным интенсивным рефлексом при 2θ 4,7° (рис. 2, а), что согласуется с картотекой эталонов PDF-2, [26-1056]. Увеличение времени кипячения с 18 ч до 52 ч приводило к увеличению размеров кристаллитов ОКФ, что проявляется на дифрактограмме значительным повышением интенсивности основных рефлексов (рис. 2, а, дифрактограмма 2) без изменения фазового состава. Отжиг при 800°C приводил к кристаллизации ОКФ преимущественно в β -трикальцийфосфат (β -ТКФ) формулой $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (80 %) с рефлексами при 2θ 29,5°, 31,0°, 34,3° и β -пирофосфат кальция (β -ПФК)

формулой $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (20 %) с основным рефлексом при 2θ $26,6^\circ$ (рис. 2, а, дифрактограмма 3). Термические превращения ОКФ протекали в несколько стадий (рис. 2 б, в), интенсивность которых зависела от длительности кипячения осадка. На первой стадии при $38\text{--}140^\circ\text{C}$ удалялась кристаллогидратная вода (16 % потеря массы) и интенсивно протекала для образца после 18 ч кипячения (рис. 2, б, кривая 1). На второй при $140\text{--}248^\circ\text{C}$ и третьей при $248\text{--}320^\circ\text{C}$ стадиях эндотермические эффекты связаны с дальнейшей дегидратацией ОКФ и разложением остатков карбамида (рис. 2 в). На четвертой стадии при $350\text{--}800^\circ\text{C}$ происходили релаксационные переходы КФ с термическим превращением ОКФ в β -ПФК и кристаллизацией β -ТКФ (рис. 2, в), что согласуется с данными РФА.

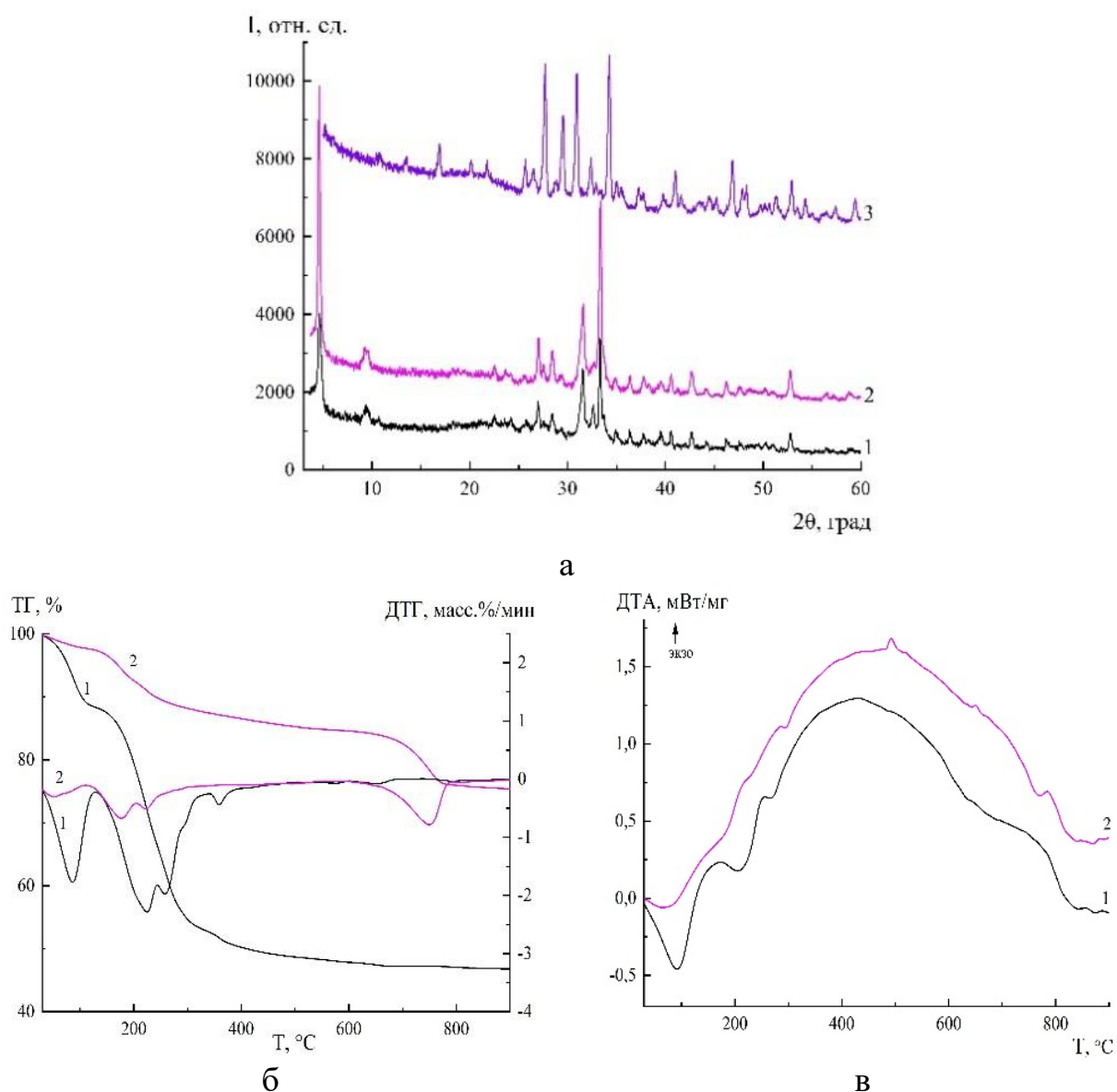


Рис. 2. Дифрактограммы (а) и термограммы, включающие ТГ-ДТГ (б) и ДТА (в) кривые, КФ образцов после: 1 — 18 ч кипячения; 2 — 52 ч кипячения; 3 — отжига при 800°C .

На ИК-спектрах высушенных образцов (рис. 3, а) проявляются характерные для ОКФ полосы: при $1245\text{--}1020\text{ см}^{-1}$ колебаний $(\text{P})\text{O}\text{--}\text{H}$ и валентных

колебаний O–P–O, при 1015–600 см⁻¹ колебаний P–O(H) и деформационных колебаний O–P–O. Широкая полоса при 3700–2800 см⁻¹ соответствуют колебаниям H–O–H кристаллогидратной воды. Полосы при 1460 см⁻¹ и 1340 см⁻¹ соответствует валеным колебаниям O–C–O карбонат-ионов, внедренных в кристаллическую решетку ОКФ. Уширенная полоса при 1680–1640 см⁻¹ относится к колебаниям C=O и N–H карбамида. На ИК-спектре ОКФ после отжига при 800°C (рис. 3, а, кривая 3) нет полос колебаний H–O–H, C=O, O–C–O, N–H за счёт удаления воды, карбонат-ионов и выгорания остатков карбамида. Присутствие на ИК-спектре полос в диапазоне при 1190–900 см⁻¹ колебаний O–P–O и при 1210, 720 см⁻¹ колебаний P–O–P свидетельствует о кристаллизации ОКФ в ПФК и ТКФ. На КР-спектрах КФ образцов после высушивания также представлены характеристические полосы ОКФ (рис. 3, б): при 437, 589 см⁻¹ деформационных колебаний и при 961, 1020, 1049 см⁻¹ валентных колебаний O–P–O, при 717 см⁻¹ колебаний карбонат-ионов в структуре ОКФ, а полоса при 1164 см⁻¹ принадлежит N–H колебаниям карбамида.

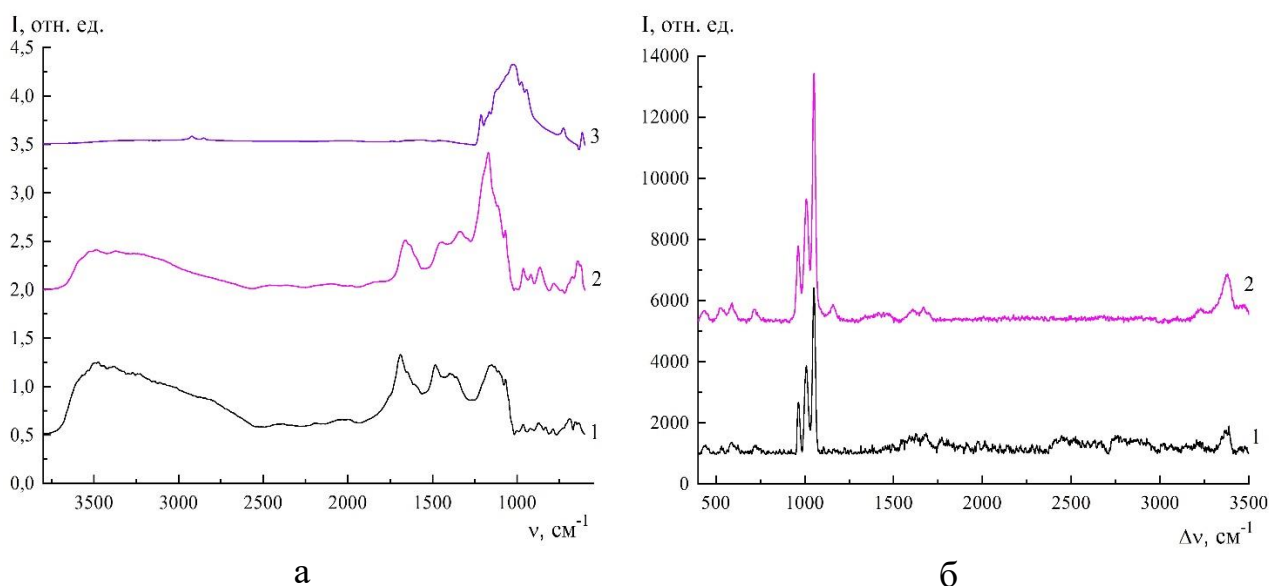


Рис. 3. ИК-спектры (а) и КР-спектры (б) КФ образцов после:
1 — 18 ч кипячения; 2 — 52 ч кипячения; 3 — отжига при 800°C.

Таким образом, гидротермальным синтезом из растворов нитрата кальция и гидрофосфата аммония в присутствии 1 М раствора карбамида при 90°C в течение 18–52 ч кипячения получен однофазный октакальцийфосфат с волокнистой микроструктурой, который при 37°C высыхает в форме ваты. Волокнистый октакальцийфосфат значительно гидратирован и после отжига при 800°C кристаллизуется в β-трикальцийфосфат (80 %) и β-пирофосфат кальция (20 %). Синтезированная кальцийфосфатная вата потенциально может быть использована в качестве резорбируемых кальцийфосфатных биоматериалов с доставкой лекарственных средств за счет высокой способности сорбировать, удерживать воду и резорбироваться.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГПНИ “Химические процессы и технологии” на 2026–2030 гг. по заданию 2.1.04.3 и гранта БРФФИ № X25MC-004.

Список литературы

1. DileepKumar, V.G. A Review on the Synthesis and Properties of Hydroxyapatite for Bio-medical Applications / V.G. DileepKumar, M.S. Sridhar, P. Aramwit, V.K. Krut'ko, O.N. Musskaya, I.E. Glazov, N. Reddy // *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. – 2022. – V. 33 (2). – P. 229–261. <https://doi.org/10.1080/09205063.2021.1980985>
2. Glazov, I.E. Formation of hydroxyapatite-based hybrid materials in the presence of platelet-poor plasma additive / I.E. Glazov, V.K. Krut'ko, T.V. Safronova, N.A. Sazhnev, N.R. Kil'deeva, R.A. Vlasov, O.N. Musskaya, A.I. Kulak // *Biomimetics*. – 2023. – Vol. 8, No. 3. – P. 297–1–12. <https://doi.org/10.3390/biomimetics8030297>
3. Zhu, Y.-J. Deformable biomaterials based on ultralong hydroxyapatite nanowires / Y.-J. Zhu, B.-Q. Lu // *ACS Biomaterials Science & Engineering*. – 2019. – Vol. 5, No. 10. – P.4951–4961. [doi:10.1021/acsbiomaterials.9b01183](https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b01183)
4. Yu, H.-P. Bioinspired fiberboard-and-mortar structural nanocomposite based on ultralong hydroxyapatite nanowires with high mechanical performance / H.-P. Yu, Y.-J. Zhu, Z.-C. Xiong, B.-Q. Lu // *Chemical Engineering Journal*. – 2020. – Vol. 399. – Article 125666. [doi:10.1016/j.cej.2020.125666](https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125666)
5. Goto, T. Simultaneous synthesis of hydroxyapatite fibres and β -tricalcium phosphate particles via a water controlled-release solvothermal process / T. Goto, S. Yin, Y. Asakura, S. H. Cho, T. Sekino // *CrystEngComm*. – 2023. – Vol. 25, No. 14. – P.2021–2026. [doi:10.1039/d2ce01703b](https://doi.org/10.1039/d2ce01703b)
6. Li, Ch. A facile hydrothermal method for synthesis of submillimeter-long octacalcium phosphate and hydroxyapatite as drug carriers with sustained release behaviors / Ch. Li, X. Ge, G. Li, Q. Gao, R. Ding // *Advanced Powder Technology*. – 2014. – Vol. 25, No. 6. – P.1661–1666. [doi:10.1016/j.appt.2014.06.001](https://doi.org/10.1016/j.appt.2014.06.001)
7. Biernat, M. Influence of low-temperature reaction time on morphology and phase composition of short calcium phosphate whiskers / M. Biernat, Z. Jaegermann, P. Tymowicz-Grzyb, G. Konopka // *Processing and Application of Ceramics* 13 [1]. – 2019. – P.57–64. [doi:10.2298/PAC1901057B](https://doi.org/10.2298/PAC1901057B)
8. Nosrati, H. Crystallographic study of hydrothermal synthesis of Hydroxyapatite nano-rods using Brushite precursors / H. Nosrati, R.S. Mamoori, F. Dabir // *Journal of Tissues and Materials*. – 2019. – Vol. 2, No. 3. – P.1–8. [doi:10.22034/jtm.2019.199830.1022](https://doi.org/10.22034/jtm.2019.199830.1022)

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ В БОРЩЕВИКЕ
СОСНОВСКОГО И БОРЩЕВИКЕ СИБИРСКОМ (HERACLEUM
SOSNOWSKYI И HERACLEUM SIBIRICUM) МЕТОДОМ
РЕНТГЕНОВСКОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ**

**Лукашов Р.И., Беляцкий В.Н., Гапанькова Е.И., Матвейчук С.В.,
Лавровский А.В., Бартош В.А.**

Лукашов Р.И.

*Кандидат фармацевтических, доцент, заведующий кафедрой
фармацевтической химии с курсом ПК и П УО «Белорусский гос-
ударственный медицинский университет»,*

*г. Минск, Беларусь
r_lukashov@mail.ru*

Беляцкий В.Н.

*Кандидат химических наук, доцент кафедры фармацев-
тической химии с курсом ПК и П
УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

*г. Минск, Беларусь
vbelyatsky@mail.ru*

Гапанькова Е.И.

*Кандидат технических наук, старший научный сотрудник
Институт физико-органической химии Национальной
Академии Наук Беларуси,*

г. Минск, Беларусь

Матвейчук С.В.

*Кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник
Институт физико-органической химии Национальной
Академии Наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

Лавровский А.В.

*Студент 5 курса фармацевтического факультета
УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

г. Минск, Беларусь

Бартош В.А.

*Студент 2 курса фармацевтического факультета
УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

г. Минск, Беларусь

Аннотация. В последнее время борщевик Сосновского и родственные виды привлекают большое внимание как эндемичные виды для флоры Республика Беларусь. В то же время появляются публикации, в которых обращается внимание на наличие физиологической активности содержащихся в этих растениях фуранокумаринов, в частности, при лечении псориаза, витилиго, онкологических заболеваний. Для характеристики фитосырья необходимы сведения не только о содержании физиологически активных соединений, но также и о наличии минеральных солей и некоторых неметаллов. Идентификацию минеральных компонентов и их концентрацию можно определять одним из новых и

эффективных методов рентгеновской флуоресценции, который был включен в фармакопею Российской Федерации.

Ключевые слова: рентгеновская флуоресценция, борщевик Сосновского, борщевик сибирский, минеральный состав.

DETERMINATION OF MINERAL COMPONENTS IN HERACLEUM SOSNOWSKYI AND HERACLEUM SIBIRICUM BY X-RAY FLUORESCENCE

Lukashou R.I.,

Candidate of Pharmacy, Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry with advanced training course and retraining Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

r_lukashov@mail.ru

Belyatsky V.N.

Candidate of Chemistry, Associate Professor Department of Pharmaceutical Chemistry with advanced training course and retraining Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

vbelyatsky@mail.ru

Hapankova A.I.

*Candidate of Engineering, senior researcher
Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

Matveichuk S.V.

*Candidate of Chemistry, leading researcher
Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

Laurouski A.V.

A fifth-year student of the Faculty of Pharmacy of the Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Бармов B.A.

*A second-year student of the Faculty of Pharmacy
Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

Annotation. Recently, *Heracleum Sosnowskyi* and related species have attracted much attention as endemic species for the flora of Republic of Belarus. At the same time, scientific publications draw attention to the presence of physiological activity of furanocoumarins contained in these plants, in particular, in the therapy of psoriasis, vitiligo, and cancer. To characterize phyto-raw materials, information is needed not only on the content of physiologically active compounds, but also on the presence of mineral salts and some non-metals. Identification of mineral components and determination of their concentration can be carried out using one of the new and effective methods of X-ray fluorescence analysis, which is included in the Russian Pharmacopoeia.

Key words: *X-ray fluorescence, Heracleum Sosnowskyi, Heracleum sibiricum, mineral composition.*

Введение. Метод рентгенофлуоресцентного анализа (РФС) основан на зависимости интенсивности рентгеновской флуоресценции от концентрации элемента в образце. При облучении образца потоком излучения рентгеновской трубки возникает характеристическое флуоресцентное излучение атомов, которое пропорционально их концентрации в образце.

Первичное излучение рентгеновской трубки спектрометра выбивает электроны на внутренних оболочках атомов, что приводит к образованию вакансии на внутреннем электронном уровне. При появлении такой вакансии на ближайшей к ядру оболочке (К-уровень) на нее начнут переходить электроны с более удаленных уровней (L-уровень). При этом будут испускаться кванты энергии с $h\nu_{1,2} = E_1 - E_2$, которая равна разности энергий электрона на исходной и конечной оболочке. Энергия этих квантов соответствует рентгеновскому диапазону, лежащему между ультрафиолетовым и γ -излучением. Спектр возникающего таким образом характеристического рентгеновского излучения состоит из групп отдельных линий, соответствующих переходам электронов между внутренними оболочками атомов. Поскольку состояние всех электронов в атоме определяется зарядом ядра, спектр вторичного флуоресцентного излучения несет в себе информацию об элементном составе пробы. Это позволяет надежно проводить качественный элементный анализ, а также количественный анализ при помощи градуирования по стандартным образцам и применении бесстандартных методик.

Метод РФС позволяет за минимальный период времени получить наиболее полную и достоверную информацию об элементном составе сложных образцов в жидком или твердом виде. Этот метод позволяет одновременно определять более 80 элементов и может быть использован для контроля содержания, как элементов матрицы, так и микропримесей элементов в различных по составу материалах. Неоспоримым достоинством метода РФС, выгодно выделяющим его от большинства современных методов исследования, является возможность получения данных о составе сложного материала без его разрушения. В отношении фитосырья возможен анализ как исходного сырья, так и продуктов его озоления.

Материалы и методы. Объектами исследования служили воздушно-сухие трава и соцветия, заготовленные в период цветения, корни, заготовленные в период отмирания наземной части борщевика Сосновского, и борщевика Сибирского.

Сырье было заготовлено в д. Новое Поле Минского района при соблюдении техники безопасности.

Методы. Для регистрации спектров применялся волнодисперсионный рентгенофлуоресцентный спектрометр «Спектроскан Макс GVM» (Россия), аналитические весы OHAUS EX125D (OHAUS Corp, USA, Assembled in China). Для количественного элементного анализа использовали метод известный как «метод фундаментальных параметров», реализующий алгоритм бесстандартного расчета содержаний элементов. Алгоритм предусматривает итерационный расчет влияния состава анализируемого материала на интенсивность аналитических линий

рентгеновской флуоресценции. Для реализации способа требуется весьма ограниченное число градуировочных образцов, закладываемых в настройку. В методе фундаментальных параметров взаимовлияния элементов в различных матрицах рассчитываются теоретически. Этот метод более универсальный и менее точный, чем эмпирический. С помощью этого метода можно анализировать неизвестные пробы без калибровки с точностью не выше 20 %. Образцы растений в растертом виде формовались в виде таблеток диаметром 20 мм на диске из борной кислоты при давлении 3 тонны. Для проведения корректных расчетов принималось, что основу растительной части образцов составляет целлюлоза (C₆H₁₀O₅)_n, которая задавалась в качестве наполнителя (неопределяемого компонента). В этом случае измеряются только интенсивности линий примесей, а содержание наполнителя будет рассчитываться вычитанием суммарного содержания примесей из 100 %.

Определение зольности образцов проводилось прокаливанием на воздухе при 600 °С в течение 3 часов.

Результаты и обсуждение. Как показывают результаты проведенных исследований, в образцах были обнаружены элементы Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe. Zn присутствовал в концентрациях ниже предела обнаружения и в таблице не показан. В траве борщевика сибирского содержание цинка было на уровне предела обнаружения. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Элементный состав борщевика Сосновского и борщевика Сибирского

Концентрация, % масс.												
№	Образец	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Ti	Mn	Fe
Борщевик Сосновского												
1	корни	<0,01*	0,21	0,28	0,23	0,13	0,31	1,68	0,58	0,01	0,06	0,07
2	трава	1,12	<0,01	0,04	0,27	0,35	0,52	2,26	1,98	<0,01	0,02	0,01
3	листья	0,83	<0,01	0,18	0,39	0,36	1,23	3,45	1,78	0,01	0,02	0,03
4	соцветия	0,74	<0,01	0,03	0,41	0,34	0,28	2,99	1,09	0,01	0,01	0,01
Борщевик сибирского												
	трава	0,81	<0,01	0,05	0,67	0,37	1,05	4,35	2,37	0,01	0,01	0,01

Примечание. * <0,01 фактически означает отсутствие элемента или его наличие в концентрациях ниже предела обнаружения

Данные по зольности изучаемых образцов приведены в таблице 2.

Таблица 2

Зольность борщевика Сосновского и борщевика Сибирского

№	Образец	Зольность, %	Сумма элементов по данным РФС, %
Борщевик Сосновского			
1	Корни	6,9	3,7
2	Трава	9,4	6,6
3	Листья	10,4	8,3
4	Соцветия	7,7	5,9
Борщевик сибирский			
5	Трава	13,1	9,7

Из данных таблицы 2 следует, что зольность и сумма обнаруженных элементов коррелируют между собой, а разница связана с наличием в золе кислорода в виде оксидов.

Заключение.

1. Методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии с использованием метода фундаментальных параметров было определено содержание минеральных компонентов в борщевике Сосновского и борщевике сибирском. Обнаружены сравнительно высокие содержания калия и кальция, в меньшей степени – алюминия, магния, серы, фосфора, кремния и в следовых количествах цинка, меди, железа, марганца.

2. Общее содержание минеральных компонентов, определенное с помощью озоления образцов (зольность) коррелирует с суммой обнаруженных элементов.

Список литературы

1. Цитостатический эффект извлечений из борщевика Сосновского. / Р. И. Лукашов [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2025. – Т. 14, № 1. – С. 39–53.
2. Лавровский, А. В. Сравнительный ТСХ-анализ извлечений из борщевика Сосновского и борщевика сибирского / А. В. Лавровский, Р. И. Лукашов // Вестник фармации. – 2024. – №3 (105). – С. 21–31.
3. Рентгеновская флуоресцентная спектрометрия : общая фармакопейная статья 1.2.1.1.0010.15 [сайт]. – М., ФГБУ «НЦЭСМП». [2025]. –URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-1-1-0010-15-rentgenovskaya-fluorestsennaya-spektrometriya/> (дата обращения: 12.05.2025).

**СПОСОБНОСТЬ ЛИГАНДИЗОВАННОГО ПОЛИСУЛЬФОНА
СВЯЗЫВАТЬ ЛИПОПОЛИСАХАРИД И ЕГО ГЕМОСОВМЕСТИМОСТЬ
ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ГЕМОСОРБЕНТА**

Макаревич Д.А., Рябцева Т.В., Дусь Д.Д., Лобачева Г.А., Куликова П.Л.

Макаревич Д.А.

*Кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник научного отдела ГУ
«Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гемато-*

логии»,

г. Минск, Беларусь

demkarevich@yandex.ru

Рябцева Т.В.

*Кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,*

г. Минск, Беларусь

ta-yana@yandex.ru

Дусь Д.Д.

Заведующий отделением экстракорпоральной детоксикации

ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гема-

тологии»,

г. Минск, Беларусь

Лобачева Г.А.

Младший научный сотрудник научного отдела ГУ «Минский научно-практиче-

ский центр, хирургии, трансплантологии и гематологии,

г. Минск, Беларусь

Куликова П.Л.

Младший научный сотрудник научного отдела ГУ «Минский научно-практиче-

ский центр, хирургии, трансплантологии и гематологии,

г. Минск, Беларусь

Аннотация. Проблема грамотрицательного сепсиса требует создания эффективных и безопасных отечественных гемосорбентов для удаления липополисахаридов. В работе впервые проведена комплексная оценка гемосовместимости и липополисахаридсвязывающей способности лигандизованного полисульфона, что позволило обосновать оптимальные условия его применения в методе биоспецифической сорбции из цельной крови: капилляры закрытого типа, время контакта 60 минут, скорость перфузии 50 ± 10 мл/мин. Установлено, что капилляры закрытого типа обладают высокой гемосовместимостью (соответствие ISO 10993-4-2020) и минимальной неспецифической адсорбцией белка. Сорбционная емкость обеспечивает связывание 24,7 [21,2; 27,9] нг эндотоксина на грамм сорбента. Полученные результаты открывают возможность создания нового отечественного специфического гемосорбента для лечения сепсиса и септического шока.

Ключевые слова: лигандизованный полисульфон, гемосорбент, полимиксин В, гемосовместимость, грамотрицательный сепсис; экстракорпоральная детоксикация, сорбционная ёмкость.

LIPOPOLYSACCHARIDE-BINDING CAPACITY AND HEMOCOMPATIBILITY OF LIGANDIZED POLYSULFONE FOR THE DEVELOPMENT OF A SPECIFIC HEMOADSORBENT

Makarevich D.A.

*PhD in Biology, Leading Researcher, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus
demkarevich@yandex.ru*

Ryabtseva T.V.

*PhD in Biology, Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
ta-yana@yandex.ru*

Dus D.D.

Head of the Department of Extracorporeal Detoxification, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus

Lobacheva G.A

Junior Researcher, Research Department, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology, and Hematology," Minsk, Belarus

Kulikova P.L.

Junior Researcher, Research Department, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology, and Hematology," Minsk, Belarus

Abstract. *The problem of gram-negative sepsis necessitates the development of effective and safe domestic hemoadsorbents for lipopolysaccharide removal. In this work, a comprehensive assessment of the hemocompatibility and lipopolysaccharide-binding capacity of ligandized polysulfone was performed for the first time, allowing to substantiate the optimal conditions for its use in the method of biospecific sorption from whole blood: closed-type capillaries, contact time 60 minutes, perfusion rate 50 ± 10 ml/min. It was found that closed-type capillaries exhibit high hemocompatibility (compliance with ISO 10993-4-2020) and minimal non-specific protein adsorption. The sorption capacity provides binding of 24.7 [21.2; 27.9] ng of endotoxin per gram of sorbent. The obtained results open up the possibility of creating a new domestic specific hemoadsorbent for the treatment of sepsis and septic shock.*

Key words: *ligandized polysulfone, hemoadsorbent, polymyxin B, hemocompatibility, gram-negative sepsis, extracorporeal detoxification, sorption capacity.*

Актуальность. Разработка высокотехнологичного метода экстракорпоральной коррекции гомеостаза у пациентов с синдромом системного воспалительного ответа (ССВО) и сепсисом, основанного на применении эффективного и безопасного отечественного гемосорбента, является актуальной задачей современной трансфузиологии и реаниматологии. Применение гемосорбентов позволяет быстро и безопасно снизить концентрацию липополисахаридов (ЛПС) грамотрицательных бактерий в крови, которые являются одним из ключевых триггеров развития неконтролируемого системного воспаления, полиорганной недостаточности и септического шока [1].

В настоящее время для удаления ЛПС из крови применяются зарубежные гемосорбенты на основе полистирол-дивинилбензола с иммобилизованным полимиксином В: Toraymixin-PMX-20R (Япония), Altesco-LPS (Швеция). В Республике Беларусь таким продуктом является отечественный гемосорбент «ЛПС-Гемо» (НПО ОДО «Фармавит», Беларусь) на основе матрицы из полиакриламидного геля. Основными недостатками существующих изделий являются высокая стоимость [2], значительная неспецифическая адсорбция белков плазмы и лекарственных препаратов [3].

Полисульфон (ПСФ) — ароматический полимер, широко применяемый в гемодиализе благодаря высокой термической и химической стойкости, механической прочности и биосовместимости. Полисульфоновые мембраны составляют более 70 % от всех синтетических диализных мембран и стали золотым стандартом в заместительной почечной терапии [4]. Поэтому нами предложено использование полисульфоновых полых волокон в качестве матрицы для иммобилизации полимиксина В с целью создания специфического гемосорбента для удаления ЛПС.

Цель данного исследования — комплексная оценка гемосовместимости и липополисахарид-связывающей способности лигандизованного полисульфона для обоснования условий оптимального применения данного полимера в методе биоспецифической сорбции липополисахарида из цельной крови.

Материалы и методы. Для проведения экспериментов использовали полисульфоновые капилляры высокого потока, упакованные в гемосорбционные колонки производства ПУП «ФреБор» (Республика Беларусь). Колонки были изготовлены с содержанием разного типа капилляров: с запаянными (блокированными) концами капилляров с обеих сторон и с открытыми концами (без блокировки).

Гемосовместимость оценивали в статических и динамических экспериментах с цельной гепаринизированной кровью здоровых доноров ($n=12$, 2-5 ЕД гепарина/мл крови). В статических экспериментах (инкубация 60 минут при 37°C) пробы крови внутри образцов колонок периодически помешивали. В динамических экспериментах кровь пропускали со скоростью 10 ± 1 мл/мин при комнатной температуре (23°C) в течение 60 мин. Концентрацию эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов определяли на клеточном анализаторе CellDynRuby (Abbott Laboratories, США), содержание свободного гемоглобина — методом кислого гематина [5].

Неспецифическую адсорбцию белка изучали в динамическом эксперименте с плазмой крови (скорость перфузии 50 ± 10 мл/мин, 60 мин, $t=23^{\circ}\text{C}$). Концентрацию общего белка, альбуминов и глобулинов определяли колориметрическими методами на биохимическом анализаторе Architect c8000 (Abbott Laboratories, США).

Липополисахарид-связывающую способность оценивали с использованием модельного раствора липополисахарида *E. coli* в концентрациях 90, 180, 270 и 360 ЕУ/мл (среда — апиrogenный физиологический раствор). Раствор пропускали через колонки, содержащие 1 г лигандизованного полисульфона со скоро-

стью 50 ± 10 мл/мин в течение 60 мин. Концентрацию ЛПС определяли хромогенным методом по конечной точке с использованием набора реактивов BIOENDO ЕС. Для оценки обратимости связывания проводили элюирование неспецифически связанного ЛПС 0,9 % раствором Рингера.

Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха [25 %; 75 %]. Статистический анализ проводили непараметрическими методами (Statistica 10.0): U-критерий Манна–Уитни, критерий Вилкоксона. Для оценки динамики в трех временных точках проводили ранговый дисперсионный анализ Фридмана. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ изменения клеточного состава крови после стендовых экспериментов показал, что полисульфоновые капилляры не оказывают клинически значимых изменений показателей крови. Концентрация эритроцитов снижалась в течение 60 мин контакта, однако абсолютное снижение не превышало 10 % от исходного уровня и оставалось в пределах референсных значений. Наиболее выраженное снижение зафиксировано в динамическом эксперименте с закрытыми капиллярами, однако медианные значения на 60-й минуте составили $3,78 [3,60; 3,88] \times 10^{12}/л$, что соответствует стандарту биосовместимости ISO 10993-4-2020 [6].

Концентрация тромбоцитов снижалась в обеих экспериментальных сериях. В динамических условиях потеря тромбоцитов за 60 мин для образцов с открытыми капиллярами составила 12–15 % и 8–11 % для образцов с закрытыми капиллярами. В статических экспериментах — 8–11 % и 6–9 % соответственно. Исходные концентрации тромбоцитов составляли $300 [263; 372] \times 10^9/л$ для модификации сорбента с закрытыми капиллярами и $270 [198; 312] \times 10^9/л$ для модификации сорбента с открытыми капиллярами полисульфона. Через 60 мин при закрытых капиллярах остаточная концентрация — $251,5 [244,2; 278,2] \times 10^9/л$, при открытых — $235,0 [180,2; 271,7] \times 10^9/л$ ($p < 0,05$). Наибольшая скорость снижения концентрации тромбоцитов наблюдалась в первые 30 мин эксперимента, что свидетельствует о преимущественно контактной активации в начале перфузии.

Снижение концентрации тромбоцитов на 12–15 % в динамических условиях с открытыми капиллярами и на 8–11 % с закрытыми капиллярами соответствует критериям стандарта ISO 10993-4-2020, который допускает снижение количества тромбоцитов до 20 % от исходного уровня при оценке гемосовместимости *in vitro*. Такая потеря не вызывает клинически значимой тромбоцитопении у пациентов с исходно нормальным уровнем тромбоцитов ($>150 \times 10^9/л$). Однако у пациентов с сепсисом, у которых часто наблюдается тромбоцитопения потребления или коагулопатия, даже умеренная дополнительная адсорбция тромбоцитов может быть нежелательной. Следовательно, предпочтительной является модификация с закрытыми капиллярами, обеспечивающая меньшую потерю тромбоцитов. Полученные результаты согласуются с полученными нами ранее данными по адсорбции тромбоцитов на полиакриламидных сорбентах (например, «ЛПС-Гемо»), где потеря составляет 10–15 %.

Лейкоциты демонстрировали сложную динамику: в статических условиях отмечалось постепенное снижение концентрации: для закрытых капилляров с $6,42 [5,89; 6,72]$ до $6,11 [5,51; 6,46] \times 10^9/л$. Для открытых капилляров снижение

лейкоцитов в статическом эксперименте было более выражено — с 5,44 [5,15; 6,51] до 5,04 [4,71; 6,01] $\times 10^9$ /л. В динамических экспериментах резкое снижение лейкоцитов к 30-й минуте сменялось тенденцией к восстановлению к 60-й минуте, что объясняется адгезией с последующей десорбцией слабо связанных клеток, либо снижением скорости прохождения лейкоцитов через полимер. Для открытых капилляров в динамике к 60-й минуте концентрация лейкоцитов не восстанавливалась, а лишь замедлялась скорость её снижения.

Сложная динамика лейкоцитов (резкое снижение в первые 30 минут с последующей стабилизацией) объясняется быстрой адгезией гранулоцитов и моноцитов к гидрофобным участкам полисульфона, что типично для полимерных мембран [7]. Восстановление концентрации в динамическом режиме для закрытых капилляров, вероятно, связано с десорбцией слабо связанных клеток под действием сдвигового напряжения потока. Для открытых капилляров, где площадь контакта больше, восстановление не наблюдается, что может указывать на более прочное закрепление клеток в порах мембраны. Этот феномен не имеет критического клинического значения, поскольку абсолютное снижение лейкоцитов не выходит за пределы физиологических колебаний.

Уровень свободного гемоглобина оставался в пределах референсных значений (0,00–0,60 г/л) во всех экспериментальных группах. Максимальная концентрация (0,30 г/л) зафиксирована в статическом эксперименте с закрытыми капиллярами, в динамических условиях гемолитический потенциал был ниже (0,20 г/л), что указывает на достаточную гемосовместимость исследуемого полимерного материала.

Неспецифическая адсорбция белка плазмы значительно различалась для капилляров разного типа. Для закрытых капилляров адсорбция общего белка составила 1,2 [0,01; 2,8] %, альбуминов — 0,01 [0,01; 1,3] %, глобулинов — 9,1 [6,8; 13,1] %. Для открытых капилляров показатели были существенно выше: 18,5 [16,75; 21,98] %, 24,83 [22,57; 27,31] % и 20,04 [17,28; 21,54] % соответственно ($p < 0,05$). Анализ элюата показал, что при промывке закрытых капилляров белок и альбумины практически полностью вымываются (2,0 [1,5; 2,9] г и 0,9 [0,8; 1,1] г со всего объема сорбента). Из открытых капилляров вымывается только 50% общего белка и 60% альбуминов, что свидетельствует о более высокой прочности связывания в пористой структуре мембраны полисульфона.

Меньшая неспецифическая адсорбция белка на закрытых (запаянных) капиллярах по сравнению с открытыми объясняется отсутствием сквозного потока через стенку полисульфонового волокна. В открытых капиллярах перфузируемый раствор проходит не только через внутренний просвет, но и через поры мембраны, что значительно увеличивает площадь контакта с полимером и способствует захвату белков как на внешней, так и на внутренней поверхности. В закрытых капиллярах контакт ограничивается только внутренней поверхностью, что снижает сорбцию альбуминов и глобулинов. Этот феномен соответствует данным литературы, где показано, что проточные мембранные системы обладают более высокой адсорбционной способностью, но при этом повышается риск нежелательного удаления полезных белков плазмы [8].

По уровню гемосовместимости разработанный лигандизованный полисульфон сопоставим с зарубежными гемосорбентами для удаления ЛПС. Так, для колонки Toxaumuxin-PMX-20R (Япония) в аналогичных экспериментах *in vitro* [9, 10]. Таким образом, модификация с закрытыми капиллярами демонстрирует более высокую селективность благодаря меньшей доступности внутренней поверхности полимера.

Для последующих экспериментов по изучению липополисахарид-связывающей способности была отобрана более подходящая для гемосорбции модификация полисульфона закрытого типа. Изучение адсорбции липополисахарида показало, что лигандизованный полисульфон закрытого типа эффективно связывает ЛПС из модельного раствора. Колонка с 1 г сорбента связывала до 25 ± 3 нг ЛПС при максимальной концентрации 360 ЕУ/мл. Удаление ЛПС составляло 52,7–73,7 % в зависимости от исходной концентрации (таблица 1). Скорость перфузии 50 ± 10 мл/мин обеспечивает пропускание до 3,0–3,6 л раствора за 60 мин, что соответствует примерно 0,6 объема циркулирующей крови взрослого пациента (который составляет примерно 5 л).

Таблица 1

Липополисахарид-связывающая способность лигандизованного полисульфона

Концентрация ЛПС, ЕУ/мл	Количество ЛПС до эксперимента, нг	Остаток ЛПС после эксперимента, ЕУ	Удаление ЛПС, %
90	9	42,5 [38,3; 47,8]	52,7 [47,7; 58,3]
180	18	56,9 [50,1; 62,4]	68,8 [62,6; 75,4]
270	27	71,0 [63,0; 79,0]	73,7 [66,1; 81,0]
360	36	124,6 [110,0; 138,2]	65,5 [59,2; 72,8]

Полученный результат сорбционной емкости составил 24,7 [21,2; 27,9] нг/г сорбента и сопоставим с характеристиками зарубежных аналогов: Toxaumuxin (Япония), Altесо-LPS (Швеция), Тохірак (Россия) и отечественного гемосорбента «ЛПС-Гемо». При этом полисульфоновая матрица с закрытыми капиллярами обладает преимуществами в виде низкой неспецифической адсорбции белка, клеток крови, высокой механической прочности.

Выводы. Отобранная модификация с закрытыми капиллярами представляет собой оптимальный баланс между эффективностью удаления ЛПС и безопасностью. Низкая адсорбция белков и тромбоцитов минимизирует риск нежелательных эффектов при клиническом применении. Скорость перфузии 50 мл/мин и продолжительность сеанса 60 мин позволяют обработать до 3 л крови, что составляет около 60 % объема циркулирующей крови взрослого пациента. Для достижения полного очищения возможно проведение двух последовательных сеансов или увеличение времени перфузии. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований на животных и в клинических условиях.

Список литературы

1. Кирковский В.В., Дзядзько А.М., Гапанович В.Н. и др. Изменение среднего артериального давления и общего периферического сопротивления при проведении ЛПС-сорбции у пациентов с септическим шоком // *Здравоохранение*. – 2019. – № 5. – С. 51–55.
2. Гендель Л.Л. и др. Первичный клинический опыт применения колонки для ЛПС-адсорбции Тохірак в лечении пациентов с сепсисом // *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. – 2017. – Т. 14, № 5. – С. 42–50.
3. Громов М.И., Пивоварова Л.П., Шляпников С.А. и др. ЛПС-индуцированная активация иммунной системы при тяжелом сепсисе и септическом шоке. Селективная ЛПС-сорбция // *Журнал инфекции в хирургии*. – 2015. – № 3. – С. 15–18.
4. Bowry S.K., Gatti E., Vienken J. Contribution of polysulfone membranes to the success of convective dialysis therapies // *Contributions to Nephrology*. – 2011. – Vol. 173. – P. 110–118.
5. Камышников В.С. Клиническая биохимия. — Москва: МЕДпресс-информ, 2009. – 552 с. – ISBN 978-5-98322-514-5.
6. ISO 10993-4:2020 Biological evaluation of medical devices – Part 4: Selection of tests for interactions with blood.
7. Koga, Y. Biocompatibility of polysulfone hemodialysis membranes and its mechanisms: involvement of fibrinogen and its integrin receptors in activation of platelets and neutrophils. / Y. Koga [et al.] // *Artificial Organs*. – 2018. – Т. 42, № 9. – С. E246–E258.
8. Ávila, E. Biocompatibility in hemodialysis: artificial membrane and human blood interactions. / E. Ávila [et al.] // *BMC Nephrology*. – 2025. – Т. 26. – С. 482.
9. Murea, M. Membrane-to-patient optimization: individualized dialyzer selection for extracorporeal dialysis. / M. Murea [et al.] // *Toxins*. – 2026. – Т. 18, № 4. – С. 156.
10. Neyra, J. A. Polymyxin B haemoadsorption in endotoxic septic shock (Tigris): a multicentre, open-label, Bayesian, randomised, controlled, phase 3 trial. / J. A. Neyra [et al.] // *The Lancet Respiratory Medicine*. – 2026.

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN SILICO* БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВЫХ ГИДРАЗОНОВ 3,4-ДИГИДРОПИРИМИДИН-2-ОНОВ

Матвейков В.А., Гордунов Г.А., Минеева И.В.

Матвейков В.А.

Студент 2 курса специальности 7-07-0531-01 Фундаментальная химия
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
vasilymatveikov@yandex.ru

Гордунов Г.А.

Магистрант 1 курса специальности 7-06-0531-01 Химия
УО «Белорусский государственный университет», стажер м.н.с.
Сектора тонкого органического синтеза учреждения Белорусского государ-
ственного университета «Научно-исследовательский институт физико-хими-
ческих проблем»,
г. Минск, Беларусь
grigory.gordunov@yandex.by

Минеева И.В.

Доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической химии
химического факультета УО «Белорусский государственный университет»,
Заведующий сектором тонкого органического синтеза учреждения Белорус-
ского государственного университета «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
i.mineyeva@yandex.ru

В данной статье при помощи модуля PassOnline был осуществлен ком-
плексный прогноз *in silico* цитотоксической активности гидразонов 3,4-дигидро-
пиримидин-2-онов на большом количестве линий раковых клеток, а также на ос-
нове 3D структур полученных соединений на сервисе PerMM была проведена
теоретическая оценка их проницаемости через липидные мембраны посред-
ством пассивной диффузии. В ходе исследования *in vitro* авторами было уста-
новлено, что данные соединения не проявляют антибактериальной активности
в отношении *E. coli*.

Ключевые слова: гидразоны 3,4-дигидропиримидин-2-онов; мультикомпо-
нентная реакция; расчеты *in silico*

IN SILICO STUDY OF THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF NEW HYDRAZONES OF 3,4-DIHYDROPYRIMIDIN-2-ONES

Matveykov V.A.

2nd-year Student, Specialty 7-07-0531-01 Fundamental Chemistry
Educational Institution "Belarusian State University",
Minsk, Belarus
vasilymatveikov@yandex.ru;

Gordunov G.A.

1st-year Master's Student, Specialty 7-06-0531-01 Chemistry
Educational Institution "Belarusian State University",
Trainee Junior Researcher,
Sector of Fine Organic Synthesis, Research Institute for Physical Chemical Problems
of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
grigory.gordunov@yandex.by;

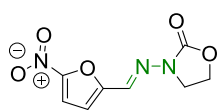
Mineyeva I.V.

Doctor of Chemical Sciences, Professor,
Professor of the Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry,
Educational Institution "Belarusian State University",
Head of the Sector of Fine Organic Synthesis,
Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
i.mineyeva@yandex.ru;

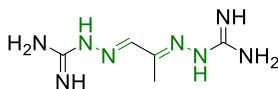
In this article, a comprehensive *in silico* prediction of the cytotoxic activity of hydrazones derived from 3,4-dihydropyrimidin-2-ones was performed using the PasOnline module across a large panel of cancer cell lines. Additionally, based on the 3D structures of the obtained compounds, a theoretical assessment of their permeability through lipid membranes via passive diffusion was carried out using the PerMM web service. In the course of *in vitro* studies, the authors established that these compounds do not exhibit antibacterial activity against *E. coli*.

Key words: 3,4-dihydropyrimidin-2-one hydrazones; multicomponent reaction; *in silico* calculations.

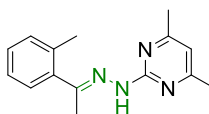
Несмотря на то, что известно довольно много соединений, включающих гидразоновый фрагмент, их биологическая активность описана слабо. Ряд гидразонов прошел клинические испытания и применяется в медицинской практике (рис. 1.).



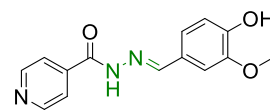
фуразолидон
(кишечный антисептик)



митогуазон
(противораковый препарат)



феримзон
(противогрибковая активность)



фтивазид
(противотуберкулезное средство)

Рис. 1. Описанные лекарственные препараты на основе гидразонового фрагмента с установленной биологической активностью

Наиболее известные препараты, такие как фуразолидон, митогуазон и феримзон (рис 1.), находят применение в качестве противомикробных, противораковых и противогрибковых средств [9]. Кроме того, гидразоны изоникотиновой кислоты (например, фтивазид) используются в терапии туберкулеза.

Подобные соединения характеризуются широким спектром биологической активности [1-10], из которого преимущественно можно выделить антибактериальную, противогрибковую и противотуберкулезную. Так, бензилиденное производное гидразона 3,4-дигидропиримидин-2-она **1** показало себя в качестве перспективного безопасного средства контроля вирусной инфекции растений против заражения вирусом табачной мозаики [6]. Ранее нами уже была описана общая биологическая активность предварительно синтезированных структурно схожих аналогов **2а-д**, **3а-в** и **4а-в**. Исследование дало начало дальнейшей работе по изучению свойств новых производных оснований Шиффа.

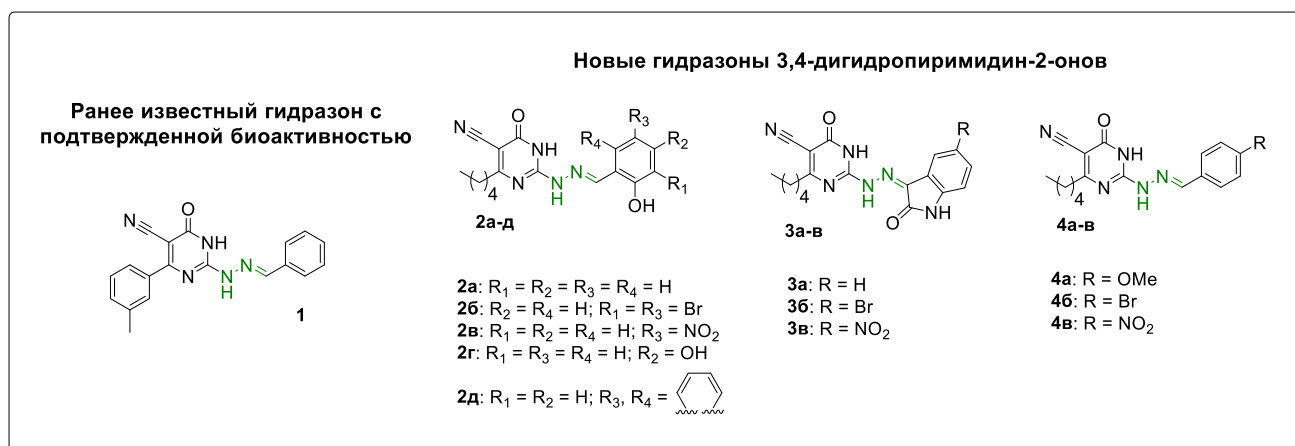


Рис. 2. Описанные лекарственные препараты на основе гидразонового фрагмента с установленной биологической активностью

Потенциальная биологическая активность полученных нами гидразонов 3,4-дигидропиримидин-2-онов **2а-д**, **3а-в**, **4а-в** была оценена методами *in silico* в программах PassOnline (прогнозирование линий раковых клеток) (таблица 1) PerMM (энергии связывания и коэффициенты проницаемости через мембраны) (таблица 2) и ALOGPS 2.1 (липо- и гидрофильность соединений) (таблица 3). Результаты расчетов приведены ниже.

Таблица 1

Результаты прогноза *in silico* цитотоксической активности

Вещество	R _a ¹	R _i ²	Клеточная линия	Полное название клеточной линии	Ткань	Тип опухоли

2а	0.41 5	0.03 2	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
	0.39 9	0.02 9	RPMI-8226	Множественная миелома	Гемопозитическая и лимфоидная ткань	Миелома
2б	0.46 3	0.06 2	MCF7	Карцинома молочной железы	Молочная железа	Карцинома
	0.33 6	0.05 5	RPMI-8226	Множественная миелома	Гемопозитическая и лимфоидная ткань	Миелома
2в	0.43 0	0.05 4	YAPC	Карцинома поджелудочной железы	Поджелудочная железа	Карцинома
	0.34 4	0.04 9	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
2г	0.41 4	0.03 2	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
	0.38 5	0.03 4	RPMI-8226	Множественная миелома	Гемопозитическая и лимфоидная ткань	Миелома
2д	0.44 3	0.02 7	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
	0.32 6	0.06 3	RPMI-8226	Множественная миелома	Гемопозитическая и лимфоидная ткань	Миелома
3а	0.51 4	0.00 5	RKO	Карцинома толстой кишки	Толстая кишка	Карцинома
	0.38 8	0.02 6	SW-620	Аденокарцинома толстой кишки	Толстая кишка	Аденокарцинома
3б	0.49 3	0.00 7	RKO	Карцинома толстой кишки	Толстая кишка	Карцинома
	0.39 6	0.02 4	SW-620	Аденокарцинома толстой кишки	Толстая кишка	Аденокарцинома
3в	0.45 7	0.011	RKO	Карцинома толстой кишки	Толстая кишка	Карцинома
	0.39 2	0.02 5	SW-620	Аденокарцинома толстой кишки	Толстая кишка	Аденокарцинома
4а	0.411	0.03 3	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
	0.32 9	0.06 0	RPMI-8226	Множественная миелома	Гемопозитическая и лимфоидная ткань	Миелома
4б	0.33 0	0.05 3	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома
	0.23 1	0.03 9	Jurkat	Т-клетки острого лейкоза	Кровь	Лейкоз
4в	0.43 6	0.04 6	YAPC	Карцинома поджелудочной железы	Поджелудочная железа	Карцинома
	0.34 2	0.05 0	NCI-H460	Немелкоклеточная карцинома легкого	Легкое	Карцинома

Примечание: 1 – вероятность быть активным;

2 – вероятность быть неактивным.

Таблица 2

Значения теоретически рассчитанной свободной энергии связывания и коэффициентов проницаемости для различных мембран при pH = 7,4 и T = 37 °C

Номер соединения	Свободная энергия связывания, ккал/моль	Логарифм коэффициента проницаемости (logP)		
		BLM ¹	BBB ²	Caco-2 ³
2a	-5.20	-4.58	-4.51	-4.65
2б	-5.43	-4.93	-4.63	-4.74
2в	-4.60	-6.21	-5.08	-5.07
2г	-3.42	-7.17	-5.42	-5.31
2д	-5.43	-3.44	-4.11	-4.36
3a	-4.94	-5.81	-4.94	-4.97
3б	-5.15	-6.08	-5.04	-5.04
3в	-4.58	-7.20	-5.43	-5.32
4a	-4.28	-3.73	-4.21	-4.44
4б	-5.88	-2.39	-3.74	-4.09
4в	-5.53	-3.05	-3.97	-4.26
Глюкоза (контроль)	-1,82	-10,44	-6,58	-6,15
Холестерин (контроль)	-9,69	6,03	-0,77	-1,94

Примечания: 1 – вероятность быть активным; 2 – вероятность быть неактивным 1 – черная липидная мембрана; 2 – гематоэнцефалический барьер; 3 – мембрана клеточной линии аденокарциномы толстой кишки.

Таблица 3

Значения logP и lgS для соединений 2a-д, 3a-в, 4a-в

Номер соединения	logP ¹	lgS ²
2a	2.81	-3.80
2б	4.42	-4.59
2в	2.89	-4.12
2г	2.47	-3.57
2д	3.87	-4.44
3a	2.58	-3.63
3б	3.31	-4.21
3в	2.67	-3.93
4a	3.13	-4.14
4б	3.75	-4.60
4в	3.18	-4.26

Примечания: 1 — логарифм коэффициента распределения в системе октанол-вода; 2 — логарифм коэффициента растворимости вещества в воде.

Наиболее высокие показатели прогнозируемой активности зафиксированы для соединений **3a-в** в отношении клеточных линий колоректального рака. Все три соединения демонстрируют также умеренную активность в отношении клеток аденокарциномы толстой кишки.

Для гидразонов **2a-д** и **4a-в** наиболее вероятностной мишенью является линия немелкоклеточной карциномы легкого NCI-H460. Максимальное значение

получено для соединения **2б**, которое также характеризуется сопоставимой активностью в отношении карциномы молочной железы MCF7. Соединения **2в** и **4в** выделяются прогнозируемой активностью в отношении карциномы поджелудочной железы (линия YAPC). Наименьший показатель P_a среди всех исследованных объектов отмечен для гидразона **4б** в отношении Т-клеточной линии острого лейкоза Jurkat.

Таким образом, анализ данных PassOnline позволяет выделить три приоритетных направления потенциального цитотоксического действия синтезированных гидразонов: немелкоклеточная карцинома легкого (**2а-д** и **4а-в**), колоректальный рак (**3а-в**) и карцинома поджелудочной железы (**2в**, **4в**). Высокая воспроизводимость предсказаний для структурно родственных соединений свидетельствует в пользу целесообразности экспериментальной проверки полученных прогнозов *in vitro*.

Согласно данным, представленным в таблицах 2 и 3, величины логарифмов коэффициентов проницаемости, рассчитанные для трех различных мембранных моделей, находятся в области довольно низких значений. В число исследованных мембран входила одна искусственная система (черная липидная мембрана, BLM) и две природные – гематоэнцефалический барьер (BBB) и линия клеток Caco-2, широко применяемая для оценки кишечной абсорбции. Полученный результат указывает на то, что пассивная диффузия исследуемых соединений через липидный бислой затруднена и не является основным путем их проникновения в цитоплазму. Вместе с тем сам по себе низкий расчетный коэффициент проницаемости не может служить доказательством полного отсутствия трансмембранного переноса. Изучаемые объекты, по-видимому, сохраняют способность достигать внутриклеточных мишеней, однако реализация этой способности с большей вероятностью будет опосредована механизмами активного транспорта с участием специфических переносчиков либо эндоцитоза. Альтернативным объяснением может служить предположение о преимущественной локализации фармакологического эффекта данных веществ во внеклеточном пространстве или на поверхности клеточной мембраны без необходимости проникновения внутрь клетки.

В то же время анализ физико-химических параметров, определенных расчетным путем *in silico* и сведенных в таблицу 3, демонстрирует хорошее соответствие исследуемого ряда соединений эмпирическим критериям, известным как правила Липинского [11]. Согласно этим критериям, значения молекулярной массы (не превышающие 500), коэффициента распределения в системе октанол-вода ($\log P \leq 5$), числа доноров водородных связей ($NHD \leq 5$) и числа акцепторов водородных связей ($NHA \leq 10$) позволяют рассматривать данные соединения как обладающие потенциально благоприятными фармакокинетическими характеристиками. Единственным параметром, значения которого выходят за рамки оптимальных для классических пероральных лекарственных средств, является растворимость в водной среде. Расчетные величины данного показателя находятся в диапазоне 10^{-4} - 10^{-5} моль/л, что характеризует соединения как малорастворимые в воде, однако не исключает возможности их дальнейшего изучения в качестве биологически активных агентов.

Для оценки антибактериальных свойств полученных соединений **2а-д**, **3а-в** и **4а-в** выращивали культуру *Escherichia coli* на твердой агаризованной (1,5 масс. %) питательной среде Эшби. Вещества растворяли в диметилформамиде в концентрации 3 мг/мл, смачивали этими растворами диски из фильтровальной бумаги ($d = 6$ мм). Смоченные диски, в количестве 5 шт., выкладывали на засеянную кишечной палочкой питательную среду. Результаты фиксировали на 5-е сутки культивирования при температуре 22–23°C. Установлено, что ни одно из полученных соединений не оказывает заметного антибактериального действия на *E. coli*.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта НИР ГПНИ «Новые полифункциональные 3-гидрокси-2-оксоиндолы и гетероциклические соединения на их основе с высоким потенциалом биологической активности для создания прототипов лекарственных средств» 2026-2030 гг.

Список литературы

1. Design, synthesis and 2D QSAR study of novel pyridine and quinolone hydrazone derivatives as potential antimicrobial and antitubercular agents / M. A. Abdelrahman, I. Salama, M. S. Gomaa, M. M. Elaasser, M. M. Abdel-Aziz, D. H. Soliman // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2017. – Vol. 138. – P. 698–714.
2. Antiproliferative and antioxidative effects of novel hydrazone derivatives bearing coumarin and chromene moiety / V. T. Angelova, N. G. Vassilev, B. Nikolova-Mladenova, J. Vitas, R. Malbasa, G. Momekov, M. Djukic, L. Saso // *Medicinal Chemistry Research*. – 2016. – Vol. 25, № 10. – P. 2082–2092.
3. Ulloora, S. Synthesis, anticonvulsant and anti-inflammatory studies of new 1,4-dihydropyridin-4-yl-phenoxyacetohydrazones / S. Ulloora, R. Shabaraya, R. Ranganathan, A. V. Adhikari // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2013. – Vol. 70. – P. 341–349.
4. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of chromone hydrazone derivatives as α -glucosidase inhibitors / G. Wang, M. Chen, J. Wang, Y. Peng, L. Li, Z. Xie, B. Deng, S. Chen, W. Li // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2017. – Vol. 27, № 13. – P. 2957–2961.
5. Synthesis and antimicrobial activity of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one derivatives containing a hydrazone moiety / H.-N. Peng, L.-M. Ye, M. Zhang, Y.-C. Yang, J. Zheng // *Heterocyclic Communications*. – 2018. – Vol. 24, № 1. – P. 25–31.
6. The curative activity of some arylidene dihydropyrimidine hydrazone against Tobacco mosaic virus infestation / A. Z. Omar, E. Hamdy, E. A. Hamed, E. Hafez, A. Abdelkhalek // *Journal of Saudi Chemical Society*. – 2022. – Vol. 26, № 4. – 101497.
7. Popiołek, Ł. Hydrazide–hydrazones as potential antimicrobial agents: overview of the literature since 2010 / Ł. Popiołek // *Medicinal Chemistry Research*. – 2017. – Vol. 26, № 2. – P. 287–301.
8. Mahanty, S. N. Mini-Review of the Importance of Hydrazides and Their Derivatives–Synthesis and Biological Activity / S. N. Mahanty, A. Prasanna, D. R. Guduru, B. R. Thakur // *Engineering Proceedings*. – 2021. – Vol. 11, iss. 1. – P. 21.
9. Antimicrobial Drugs // *Synthesis of Essential Drugs*. – [Amsterdam]: Elsevier, 2006. – P. 499–523.
10. Hydrazide–Hydrazones as Potential Antitubercular Agents: An Overview of the Literature (1999–2023) / S. N. Mali, A. Pandey, U. Shah, R. D. Jawarkar, R. Somani // *SynOpen*. – 2024. – Vol. 08, iss. 03. — P. 173–184.
11. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2001. – Vol. 46, № 1-3. – P. 3–26.

**ПРИМЕНЕНИЕ ИОННЫХ ЖИДКОСТЕЙ НА ОСНОВЕ DABCO В
СИНТЕЗЕ 2-АМИНО-4Н-ХРОМЕНОВ С ИНДОЛЬНЫМ ФРАГМЕНТОМ
И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ**

Моложавая А.А., Мисюля Д.И., Кузьмин К.А., Минеева И.В.

Моложавая А.А.

Студент 5 курса специальности 1-31 05 02 Химия лекарственных соединений,
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
Arabellazer@gmail.com

Мисюля Д.И.

магистр химических наук,
Аспирант 1-го года обучения специальности 02.00.03 органическая химия,
УО «Белорусский государственный университет»; стажер м.н.с.
сектора тонкого органического синтеза учреждения Белорусского
государственного университета «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
d.misiulia@yandex.by

Кузьмин К.А.

Курсант 2 курса специальности 6-05-0531-03 Химия (радиационная, химическая
и биологическая защита), Военный факультет,
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
gerofan02@gmail.com

Минеева И.В.

Доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической химии
химического факультета УО «Белорусского государственного университета»,
заведующий сектором тонкого органического синтеза учреждения
Белорусского государственного университета
«Научно-исследовательский институт физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
i.mineyeva@yandex.ru

В данной статье разработан высокоэффективный одностадийный метод синтеза производных 2-амино-4-(индол-3-ил)-4Н-хромена с использованием тандемной многокомпонентной реакции циклизации Кнёвенагеля–Пиннера–Михаэля. Реакцию катализируют органические основания (DABCO) и, в особенности, ионные жидкости на основе DABCO с различными анионами. Показано, что структура катализатора существенно влияет на выход целевых продуктов: максимальные выходы (91–99 %) достигнуты с ионными жидкостями DABCO-2AcOH и DABCO-1BuBr. Для соединения 5 изучена антибактериальная активность в отношении штаммов *Azotobacter*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*; установлены диаметры зон ингибирования (от 8,6 до 9,6 мм), сопоставимые с действием хлоргексидина.

Ключевые слова: ионные жидкости; мультикомпонентная реакция; 2-амино-4H-хромен; циклизация Кнёвенагеля-Пиннера-Михаэля; DABCO

APPLICATION OF IONIC LIQUIDS BASED ON DABCO IN THE SYNTHESIS OF 2-AMINO-4H-CHROMENES WITH AN INDOLE FRAGMENT AND STUDY OF THEIR ANTIBACTERIAL PROPERTIES

Molozhavaya A.A.

5th-year student, specialty 1-31 05 02 Chemistry of Medicinal Compounds,
Belarusian State University, Minsk, Belarus
Arabellazer@gmail.com

Misiulia D.I.

Master of Chemical Sciences,
First-year postgraduate student majoring in organic chemistry (02.00.03) at the
Belarusian State University, Junior Researcher Intern
Sector of Fine Organic Synthesis at the Research Institute for Physical-Chemical
Problems of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
d.misiulia@yandex.by

Kuzmin K.A.

Second-year cadet, 6-05-0531-03, Chemistry (Radiation, Chemical, and Biological
Defense), Military Faculty, Belarusian State University, Minsk, Belarus
gerofan02@gmail.com

Mineyeva I.V.

Doctor of Chemical Sciences, Professor, Professor of the Department of Organic
Chemistry, Faculty of Chemistry, Belarusian State University
Head of the Fine Organic Synthesis Sector, Research Institute for Physical-Chemical
Problems, Belarusian State University,
Minsk, Belarus
i.mineyeva@yandex.ru

This article presents a highly efficient one-step method for the synthesis of 2-amino-4-(indol-3-yl)-4H-chromene derivatives via a tandem multicomponent Knoevenagel–Pinner–Michael cyclization reaction. The reaction is catalyzed by organic bases (DABCO) and, notably, by DABCO-based ionic liquids with various anions. The catalyst structure is shown to significantly affect the yield of the target products: the highest yields (91–99 %) were achieved with the ionic liquids DABCO-2AcOH and DABCO-1BuBr. For compound 5, the antibacterial activity against *Azotobacter*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis*, and *Escherichia coli* was investigated; the inhibition zone diameters (ranging from 8.6 to 9.6 mm) were found to be comparable to those of chlorhexidine.

Key words: ionic liquids; multicomponent reaction; 2-amino-4H-chromene; Knoevenagel-Pinner-Michael cyclization; DABCO

Производные 2-амино-4*H*-хромена являются важными структурными компонентами природных и синтетических биологически активных соединений. Они находят широкое применение в качестве пигментов, агрохимикатов, компонентов косметических средств и лекарственных препаратов [1], [2]. Среди различных структурных типов 2-амино-4*H*-хромены рассматриваются как ключевые ядра в синтезе терапевтических средств и молекул, имеющих фармакологическое значение (рис. 1) [3].

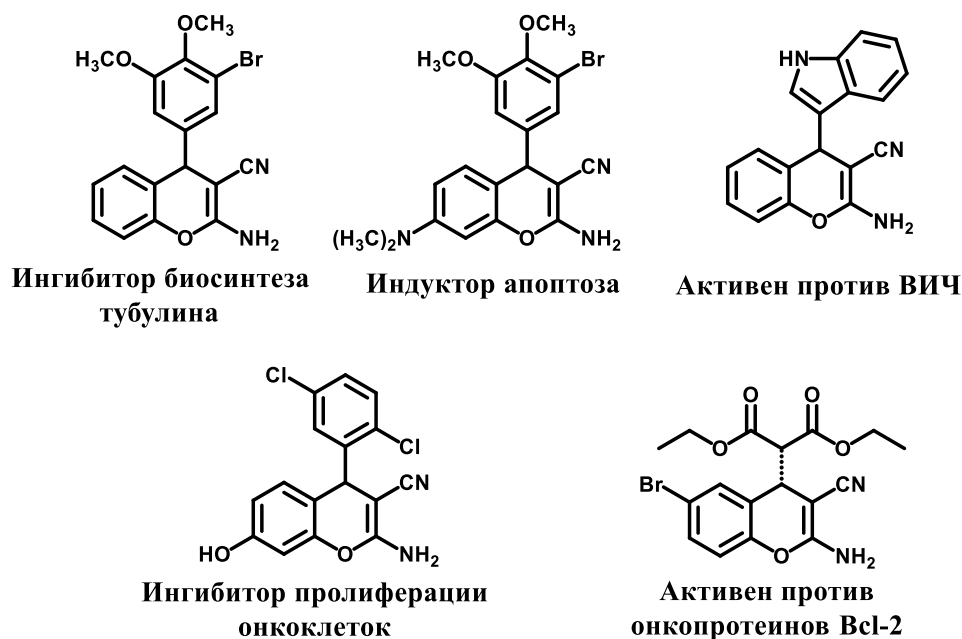


Рис. 1. Описанные производные 2-амино-3-циано-4*H*-хроменов с установленной биологической активностью

Особый интерес представляют гибридные молекулы, сочетающие хроменый и индольный фрагменты, поскольку 3-замещенные индолы сами по себе обладают широким спектром биологической активности [4], [5]. Молекулярные структуры, содержащие два типа биоактивных гетероциклов в одном ядре, могут усиливать биологическую активность или интегрировать свойства обоих типов с биологической точки зрения [6].

Традиционные методы синтеза 2-амино-4-(индол-3-ил)-4*H*-хроменов часто сопряжены с использованием переходных металлов, жесткими условиями (высокая температура, длительное время реакции) и трудоемким выделением продуктов [7]. В связи с этим разработка экологичных, эффективных и селективных подходов к получению таких соединений остается актуальной задачей. Мультикомпонентные реакции (МКР), включающие образование сложных целевых молекул из трех или более простых материалов за один синтетический этап, в последние годы стали мощным инструментом для разработки синтетических подходов к созданию лекарств [8]. МКР обладают высокой атомной экономией, простотой выполнения, упрощенными процессами очистки и возможностью автоматизации [9].

Цель работы – разработать высокоэффективный одностадийный процесс синтеза производных 2-амино-4-(индол-3-ил)-4*H*-хромена посредством тандемной многокомпонентной реакции циклизации Кнёвенагеля–Пиннера–Михаэля, катализируемой основаниями, а также ионными жидкостями на основе DABCO, и оценить зависимость антибактериальной активности получаемых продуктов от их структуры.

В качестве модельных субстратов использовали 5-нитросалициловый альдегид (**1**), малононитрил (**2**) и 1*H*-индол (**3**) и 3-метил-1*H*-индол (**4**) (рис. 2).

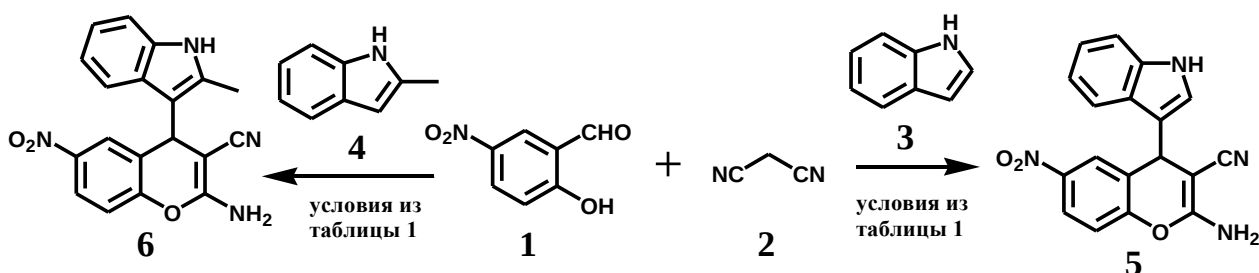


Рис. 2. Трехкомпонентная реакция циклизации Кнёвенагеля–Пиннера–Михаэля в синтезе соединений **5** и **6**

Десять ионных жидкостей на основе DABCO (диазабицикло[2.2.2]октана) были синтезированы по известным литературным методикам [10]. Реакцию проводили при кипячении в течение 6 ч в присутствии 10 мольн. % катализатора. После завершения реакцию смесь обрабатывали водой, выпавший осадок отфильтровывали, промывали и сушили на воздухе. Целевые продукты **5** и **6** в случае необходимости очищали перекристаллизацией из этанола. В ходе скрининга катализаторов (таблица 1) было испытано как органическое основание (DABCO), так и ионные жидкости на основе DABCO с различными анионами. Структуры всех полученных в результате эксперимента соединений были подтверждены спектроскопическими методами ^1H и ^{13}C ЯМР.

Таблица 1

Результаты скрининга катализаторов реакции Кнёвенагеля–Пиннера–Михаэля

№ п/п	Катализатор	Растворитель	Выход продукта 5 , %	Выход продукта 6 , %
1	DABCO	EtOH	65	64
2	DABCO-2HClO ₄	EtOH	38	94
3	DABCO-1HClO ₄	EtOH	73	¹⁾
4	DABCO-2H ₂ SO ₄	EtOH	38	97
5	DABCO-1H ₂ SO ₄	EtOH	74	-
6	DABCO-2H ₃ PO ₄	EtOH	60	42
7	DABCO-1H ₃ PO ₄	EtOH	53	-
8	DABCO-2AcOH	EtOH	91	80
9	DABCO-1AcOH	EtOH	80	99
10	DABCO-2BuBr	EtOH	69	99
11	DABCO-1BuBr	EtOH	92	-

Примечание. ¹⁾ эксперимент не проводился.

Наилучшие результаты показали ионные жидкости DABCO-2AcOH и DABCO-1BuBr, обеспечивающие выход целевого продукта 5 91 и 92 % соответственно. Для соединения 6 – DABCO-2BuBr и DABCO-1AcOH.

Каталитическая активность ионных жидкостей значительно превышает эффективность нейтрального DABCO, что может быть обусловлено синергетическим эффектом кислотно-основных центров и улучшенной растворимостью реагентов в реакционной среде. Следует отметить, что использование ионных жидкостей с анионами ClO_4^- , HSO_4^- , H_2PO_4^- даёт более низкие выходы (38–74 %), что, вероятно, связано с их меньшей способностью активировать карбонильную группу альдегида и стабилизировать интермедиаты. Кроме того, в конечной реакционной смеси возможно присутствие структур 7-13 изображенных на рисунке 3 и уменьшающих выход целевых соединений.

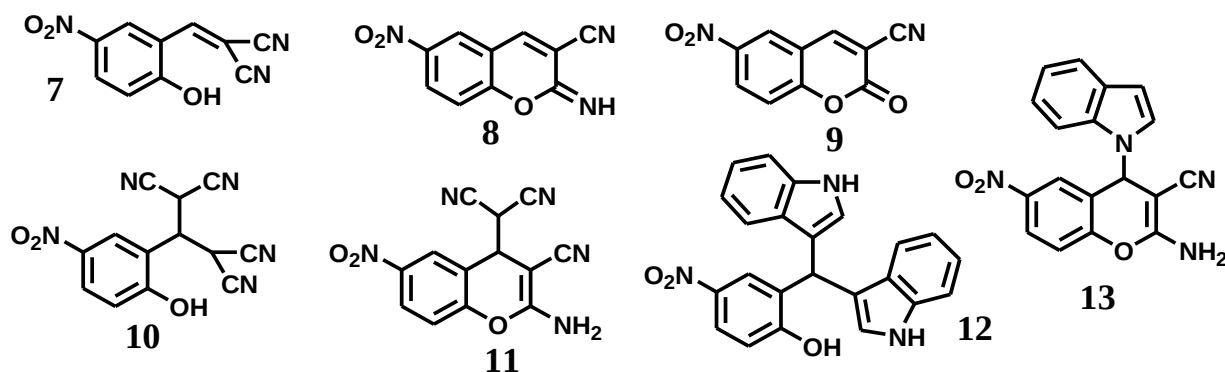


Рис. 3. Возможные побочные продукты МКР образования соединения 5

Предложенный метод обладает рядом преимуществ: мягкие условия, короткое время реакции (6 ч), простота выделения продукта (фильтрация и перекристаллизация), отсутствие переходных металлов. Использование этанола как экологически безопасного растворителя соответствует принципам «зеленой химии».

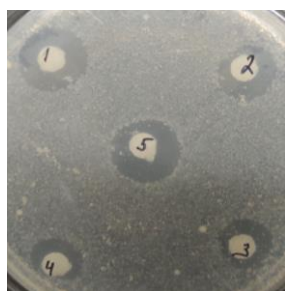
Были изучены антибактериальные свойства вещества 5 по отношению к *Azotobacter chroococcum*, *Escherichia coli* M-17, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus* (рис. 4). Культура азотобактера выращивали на твердой среде Эшби, прочих – на 2 %-ном мясо-пептонном агаре. Раствор вещества 5 был приготовлен путем растворения 3 мг образца в 1 мл DMF (N,N-диметилформамид) для бактерий *Bacillus mesentericus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* и в 1 мл DMSO (диметилсульфоксид) для *Azotobacter chroococcum*. В качестве контрольного вещества использовался хлоргексидина биглюконат концентрацией 0,5 мг\мл в воде. Образцы инкубировались в течение 3–5 суток.

Статистически (t-критерий Стьюдента) достоверно лишь отличие ($P < 0,05$) действия вещества в случае с сенной палочкой. В случае азотобактера продукт 5 действует на уровне (и даже несколько выше) хлоргексидина, хотя и характер их действия различен: сильный бактериостатик в случае контроля и слабый – в случае изучаемого вещества. Тем не менее, количественные различия между ними представляют собой интерес для дальнейшего изучения. При этом интерес представляет и видоспецифичность действия полученного продукта 5.

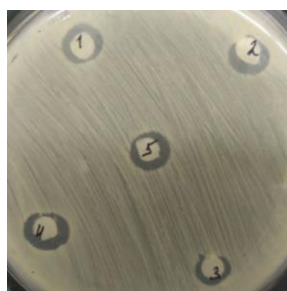
Таблица 2

Значения диаметров зон ингибирования

Вещество	Диаметр зоны ингибирования, мм			
Хлоргексидин	<i>Azotobacter chroococcum</i>	<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i> М-17
	9	10	11	14
	9	10	11	13
	8	9	11	13
	10	10	12	13
	8	10	11	14
	$8,8 \pm 0,70$	$9,8 \pm 0,40$	$11,2 \pm 0,40$	$13,4 \pm 0,50$
5	9	9	8	нет эффекта
	10	9	8	
	10	9	10	
	10	9	8	
	9	10	9	
	$9,6 \pm 0,50$	$9,2 \pm 0,40$	$8,6 \pm 0,80$	



А



Б



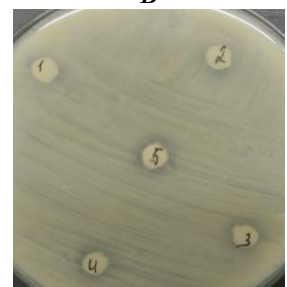
В



Г



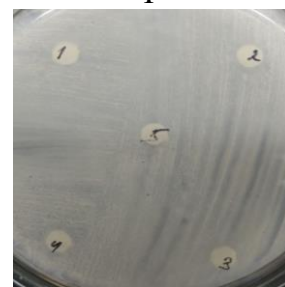
Д



Е



Ж



З

Рис. 4. Результаты инкубации с хлоргексидином:

а — *E. coli*; б — *B. mesentericus*; в — *A. chroococcum*; г — *B. subtilis*) и веществом 5 (д — *E. coli*; е — *B. mesentericus*; ж — *A. chroococcum*; з — *B. subtilis*).

Таким образом, при помощи простого метода трехкомпонентной реакции циклизации Кнёвенагеля–Пиннера–Михаэля возможно получение библиотек биологически активных 2-амино-4*H*-хроменов, содержащих индольный фрагмент. Антибактериальная активность полученного соединения, а также ее селективность, открывают перспективу к регулированию этого вида биологической активности вещества с помощью мультикомпонентных реакций.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта НИР ГПНИ «Новые полифункциональные 3-гидрокси-2-оксоиндолы и гетероциклические

соединения на их основе с высоким потенциалом биологической активности для создания прототипов лекарственных средств» 2026-2030 гг.

Список литературы

1. Bonsignore, L. Synthesis and pharmacological activity of 2-amino-4*H*-chromenes / Bonsignore L., Loy G., Secci D., Calignano A. // Eur. J. Med. Chem. – 1993. – Vol. 28, № 6. – P. 517–520.
2. Khadem, S. Chromene and chromene derivatives as anticancer agents / Khadem S., Marles R. J. // Molecules. – 2012. – Vol. 17, № 1. – P. 191–206.
3. Schweizer, E. E. The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Chromenes, Chromanes, and Chromones / Schweizer E. E., Meeder-Nycz D. // ed. G. P. Ellis. – New York : John Wiley, 2007. – Chap. II. – P. 11–141.
4. Kausar, N. An efficient one-pot synthesis of 2-amino-4*H*-chromenes catalyzed by ionic liquid under solvent-free conditions / Kausar N., Al Masum A., Islam M. M., Das A. R. // Mol. Divers. – 2017. – Vol. 21, № 2. – P. 325–332.
5. Deng, J. Dynamic pharmacophore model for HIV-1 integrase inhibitors / Sanchez T., Neamati N., Briggs J. M. // J. Med. Chem. – 2006. – Vol. 49, № 5. – P. 1684–1692.
6. Kausar, N. An efficient one-pot synthesis of 2-amino-4*H*-chromenes catalyzed by ionic liquid under solvent-free conditions / Kausar N., Al Masum A., Islam M. M., Das A. R. // Mol. Divers. – 2017. – Vol. 21, № 2. – P. 325–332.
7. Rajesh, U. C. Ionic liquid immobilized on magnetic nanoparticles: a highly efficient and reusable catalyst for the synthesis of 2-amino-4*H*-chromenes / Rajesh U. C., Wang J., Prescott S., Tsuzuki T., Rawat D. S. // ACS Sustainable Chem. Eng. – 2015. – Vol. 3, № 1. – P. 9–18.
8. Wessjohann, L. A. Multiple multicomponent reactions: a new strategy for the synthesis of complex molecules / Wessjohann L. A., Rivera D. G., Vercillo O. E. // Chem. Rev. – 2009. – Vol. 109, № 2. – P. 796–814.
9. de Graaff, C. Recent developments in asymmetric multicomponent reactions / de Graaff C., Ruijter E., Orru R. V. A. // Chem. Soc. Rev. – 2012. – Vol. 41, № 10. – P. 3969–4009.
10. Li, C.-B. An efficient and ecofriendly three-component reaction for the rapid synthesis of 2-amino-4*H*-chromenes catalyzed by a DABCO-based ionic liquid / Li C.-B., Li Y.-W., Xu D.-Z. // Synthesis. – 2018. – Vol. 50, № 18. – P. 3708–3714.
11. Lomize, A. L. Anisotropic solvent model of the lipid bilayer. 2. Energetics of insertion of small molecules, peptides, and proteins in membranes / A. L. Lomize, I. D. Pogozheva, H. I. Mosberg // J. Chem. Inf. Model. – 2011. – Vol. 51. – № 4. – P. 930–946.

**СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 2-АМИНО-3-ЦИАНО-4Н-ХРОМЕНА
МУЛЬТИКОМПОНЕНТНЫМИ РЕАКЦИЯМИ И ХАРАКТЕРИСТИКА
ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ В УСЛОВИЯХ IN VITRO**

Мисюля Д.И., Минеева И.В.

Мисюля Д.И.

Магистр химических наук,
аспирант 1-го года обучения специальности 02.00.03 органическая химия Бело-
русского государственного университета,
стажер м.н.с.

сектора тонкого органического синтеза учреждения Белорусского государ-
ственного университета «Научно-исследовательский институт физико-хими-
ческих проблем»,
г. Минск, Беларусь
d.misiulia@yandex.by

Минеева И.В.

Доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической химии
химического факультета Белорусского государственного университета,
заведующий сектором тонкого органического синтеза учреждения Белорус-
ского государственного университета «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
i.mineyeva@yandex.ru

В данной статье рассмотрен синтез различных производных 4Н-хроменов с использованием мультикомпонентной реакции (МКР) Ганча. Показано, что функционализация производных 2-амино-3-циано-4Н-хроменов может осуществляться посредством варьирования участников МКР в достаточно мягких (DMAP (20 мольн. %), EtOH, 25°C) условиях. Исследована антибактериальная активность полученных соединений на различных бактериальных культурах: *Azotobacter chroococcum*; *Escherichia coli* M-17; *Bacillus subtilis*; *Bacillus mesentericus* относительно известных антибактериальных агентов различной природы в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: 4Н-хромен; *Azotobacter chroococcum*; *Escherichia coli* M-17; *Bacillus subtilis*; *Bacillus mesentericus*; мультикомпонентная реакция; ампициллин; доксициклин; хлоргексидин; *in vitro*

SYNTHESIS OF 2-AMINO-3-CYANO-4H-CHROME DERIVATIVES BY MULTICOMPONENT REACTIONS AND CHARACTERIZATION OF THEIR ANTIBACTERIAL ACTION *IN VITRO*

Misiulia D.I.

*Master of Chemical Sciences,
First-year postgraduate student majoring in organic chemistry (02.00.03) at the Belarusian State University, Junior Researcher Intern
Sector of Fine Organic Synthesis at the Research Institute for Physical-Chemical Problems of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
d.misiulia@yandex.by*

Mineyeva I.V.

*Doctor of Chemical Sciences, Professor, Professor of the Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Belarusian State University
Head of the Fine Organic Synthesis Sector, Research Institute for Physical-Chemical Problems, Belarusian State University,
Minsk, Belarus
i.mineyeva@yandex.ru*

This article discusses the synthesis of various 4H-chromene derivatives using the Hantzsch multicomponent reaction (MCR). It is shown that the functionalization of 2-amino-3-cyano-4H-chromene derivatives can be accomplished by varying the MCR participants under fairly mild conditions (DMAP (20 mol %), EtOH, 25°C). The antibacterial activity of the obtained compounds was studied against known antibacterial agents of various origins in vitro against various bacterial cultures: Azotobacter chroococcum; Escherichia coli M-17; Bacillus subtilis; Bacillus mesentericus.

Key words: 4H-chromene; Azotobacter chroococcum; Escherichia coli M-17; Bacillus subtilis; Bacillus mesentericus; multicomponent reaction; ampicillin; doxycycline; chlorhexidine; in vitro

Среди производных хромана можно встретить достаточно большое количество веществ с самыми разными видами биологической активности. Производные хромана природного происхождения выделены из различного природного (в основном – растительного) сырья. Среди них – ингибиторы тирозиназы (глабридин), трипаноциды, антогонисты ювенильного гормона насекомых и, конечно же, самое распространенное хромановое производное в живой природе – витамин Е (α-токоферол). Рассматривая синтетические производные 4H-хромена, можно встретить в основном такие работы, в которых рассматривается их роль в качестве антимикробных агентов (бактерио-, трипано-, вирио- и фунгицидов) и онкокиллерных (онкостатических) агентов. В частности, обе роли могут совмещать производные 2-амино-3-циано-4H-хроменов (2-АЦХ) [1].

Различные хроменовые производные могут быть получены методом мультикомпонентных реакций (МКР). К мультикомпонентной реакции может быть отнесена такая многокомпонентная (2 и более участников) трансформация, при

которой из сравнительно простых субстратов в одну стадию образуется продукт с высокой молекулярной сложностью. Варьированием природы исходных участников такого многокомпонентного процесса можно добиться и функционализации образующегося продукта. Ожидаемым результатом такой функционализации может стать управляемое качественное и количественное варьирование биологической активности получаемого продукта [2].

В действительности, к настоящему времени опубликовано некоторое число работ, в которых получаемые производные 4*H*-хромена подвергаются испытаниям на антибактериальную активность. Тем не менее, в некоторых работах (например в [3]), можно встретить подходы, обходящиеся без статистической обработки количественных параметров, а также фиксирование антибактериальной активности по визуальным признакам в жидкой культуре, несмотря на гидрофобность синтезированных веществ. Кроме того, последние часто изучаются не в чистом виде, а в виде смеси изомеров. На наш взгляд, такой подход лишает возможности полноценной оценки привлекательности метода МКР в контексте изменения (качественного и количественного) биологической активности продуктов, через разнообразные структурные модификации последних.

В связи с вышесказанным, цель настоящей работы – методом МКР синтезировать ряд производных 2-амино-3-циано-4*H*-хромена и осуществить *in vitro* оценку их антибактериальной активности в зависимости от присутствия тех или иных функциональных групп, а также их комбинаций.

Общая схема проведенных нами мультикомпонентных реакций, состав и выходы продуктов, приведены на рисунке 1.

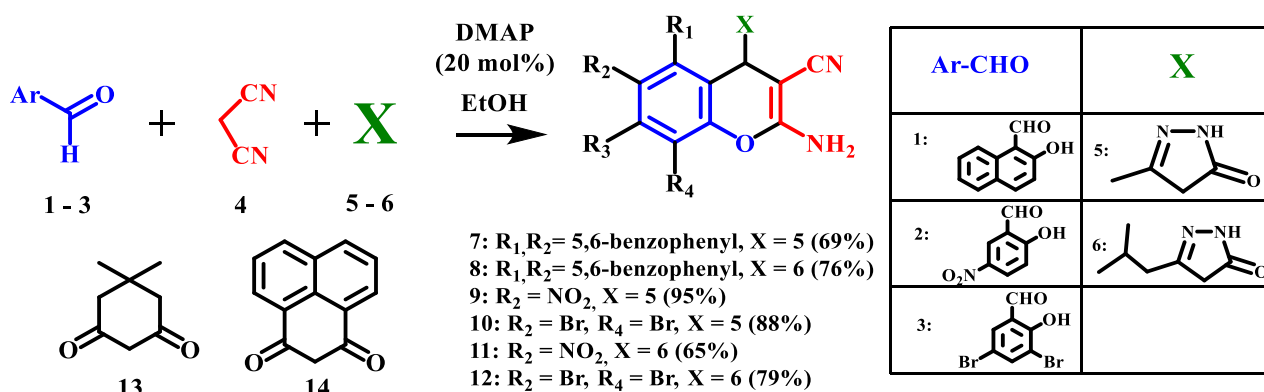


Рис. 1. Схема МКР замещенных салициловых альдегидов (1–3), малононитрила (4) и некоторых пиразолонов (5–6)

Так, в достаточно мягких и методически несложных условиях, получен ряд производных 2-АЦХ (рис. 2). Синтезированные вещества были охарактеризованы методами ИК- и ЯМР-спектроскопии. В присутствии *N,N*-диметиламинопиридина (DMAP) в среде этанола, таким образом, можно получать пиразолоновые производные 2-АЦХ с хорошими выходами в условиях комнатной температуры. При этом повышение температуры проведения данной МКР приводит к существенному снижению выхода соответствующего продукта

реакции (например, в случае продукта **7**, выход снижается до 29 % при кипячении реакционной смеси).

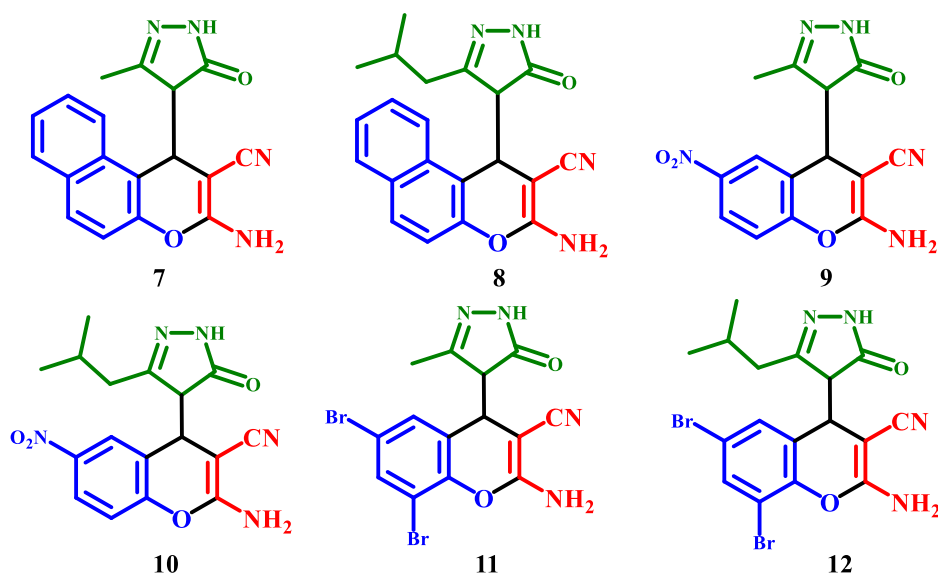


Рис. 2. Пиразолоновые производные **7-12**, полученные с помощью МКР

Функционализация производных 2-АЦХ другими 1,3-дикарбонильными соединениями, например димедоном (**13**), хотя и упоминается [4], однако реально наблюдаемые экспериментальные факты противоречат тем, которые приведены в цитируемой работе. В настоящее время нами ведутся исследования, направленные на установление закономерностей вовлечения димедона (**13**) в изучаемую МКР в качестве 1,3-дикарбонильной компоненты. Феналендион-1,3 (**14**) также не удастся вовлечь в МКР и получить соответствующие производные 2-АЦХ, что требует более детального изучения в силу как фундаментальных, так и практических причин.

Следующий этап, интересный как с точки зрения синтетической органической химии, так и с позиций биологических наук, связан с установлением того, как различные вариации структуры и функциональных групп, вводимых различными синтетическими подходами, сказываются на биологической активности продуктов. В настоящей работе это рассматривается на примере антибактериальной активности.

Антибактериальную активность оценивали относительно четырех видов микроорганизмов: двух грамотрицательных — *Azotobacter chroococcum* (**I**) и *Escherichia coli* M-17 (**II**), а также двух грамположительных — *Bacillus subtilis* (**III**) и *Bacillus mesentericus* (**IV**). Микроорганизмы **II–IV** культивировали на 2%-ом мясо-пептонном агаре, а азотобактер (**I**) — на твердой безазотной среде Эшби. Растворами исследуемых веществ в N,N-диметилформамиде (DMF) в концентрации 3 мг/мл смачивали диск ($d = 6$ мм) из фильтровальной бумаги, предварительно обработанной 70%-м изопропанолом и высушенной. Пропитанные раствором диски наносили на поверхность бактериальной культуры вскоре после

посева. Для азотобактера использовали такие же растворы, но в диметилсульфоксиде (DMSO). На одну бактериальную культуру равномерно помещали 5 таких дисков. Посев осуществлялся в условиях стерильного глав-бокса. Диаметры зон ингибирования роста микроорганизмов (мм) фиксировали на 3–7 сутки после посева. Отсутствие зон ингибирования в случае с чистыми растворителями (DMF и DMSO) показано в отдельном контрольном эксперименте. В качестве контроля (веществ с известной антибактериальной активностью) использовали: цетилтриметиламмоний бромид (ЦТМА, 3 мг/мл), хлоргексидина биглюконат (0,5 мг/мл), доксициклин (Dox, 3 мг/мл, только на I и II) ампициллин (Amp, 0,04 мг/мл, только на III и IV). Достоверность различий средних диаметров зон ингибирования оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Таблица

Антибактериальные свойства продуктов мультикомпонентных реакций 7–12 в сравнении с ЦТМА, хлоргексидином, Dox и Amp

Вид бактерий Вещество	<i>Azotobacter chroococcum</i> (I)	<i>Escherichia coli</i> M-17 (II)	<i>Bacillus subtilis</i> (III)	<i>Bacillus mesentericus</i> (IV)
Продукты мультикомпонентной реакции				
7	10,0 ± 0,60 WBS	18,8 ± 1,17 SBS	–	–
8	– ^a	–	–	–
9	–	–	9,8 ± 0,70 WBS	7,8 ± 0,40 WBS
10	–	–	–	–
11	–	25,2 ± 1,17 SBS	13,8 ± 1,70 WBS	14,8 ± 0,70 WBS
12	–	17,2 ± 0,70 WBS	–	–
Вещества-сравнения				
ЦТМА	11,4 ± 0,50 WBC	9,0 ± 0,00 WBC	12,8 ± 0,40 WBC	12,4 ± 0,80 WBC
Хлоргексидин	8,8 ± 0,70 WBC	13,4 ± 0,50 WBC	11,2 ± 0,40 WBC	9,8 ± 0,40 WBC
Dox	33,4 ± 1,20 SBC	26,8 ± 2,64 SBC	н	н
Amp	н	н	29,8 ± 1,00 SBC	26,8 ± 2,20 SBC

Примечание. ^a) «–» – вещество не обладает антибактериальным действием; ^b) «н» – эксперимент не проводился

Количественные данные *in vitro* оценки антибактериальной активности веществ приведены в таблице. На основании полученных экспериментальных данных (диаметр зон ингибирования, их характер, форма края зоны и др.), мы предлагаем следующий подход к группированию веществ по силе их антибактериального действия с учетом специфики органической химии. По культуральным признакам может быть заметно, является вещество или бактериостатиком, или бактерицидом. При этом достаточно явно прослеживается разделение

бактериостатиков на слабые (WBS) и сильные (SBS). В случае с бактерицидами ситуация несколько проще: разграничение по силе действия на сильные (SBC) и слабые (WBC) здесь условно можно осуществлять на основании количественных данных – диаметров зон ингибирования (рис. 3).

(Нет активности)	Слабый бактериостатик (WBS)	Сильный бактериостатик (SBS)	Бактерицид (WBC или SBC)
Зоны ингибирования не просматриваются	1) зона ингибирования роста трудно, но различима; 2) край зоны ингибирования просматривается с трудом (не четко); 3) диаметр зоны может быть измерен.	1) зона ингибирования явно различима; 2) край зоны ингибирования просматривается, но он не четкий; 3) диаметр зоны может быть измерен.	1) зона ингибирования явно и четко различима; 2) край зоны ингибирования четкий и резкий; 3) диаметр зоны может быть легко измерен.

По возрастанию силы антибактериального действия 

Рис. 3. Параметры, на основании которых осуществлялось отнесение веществ к той или иной группе антибактериального действия

Кроме того, нами была проведена оценка антибактериального эффекта исходных субстратов МКР. Установлено, что ни исходные субстраты, ни некоторые из промежуточных продуктов МКР, не обладают антибактериальными свойствами *in vitro* (за исключением 3,5-дибромсалицилового альдегида, который действует достоверно (при $P < 0,01$) слабее соответствующего продукта **11**). Некоторые примеры антибактериальных свойств веществ в описанных периодических культурах показаны на рисунке 4.

Структура **7** активна против **I** и **II**, но неактивна относительно грамположительных бактерий. Напротив, **9** активно против **III** и **IV**, но видимой активности относительно грамотрицательных бактерий не проявляет. Интересно антибактериальное действие вещества **11**: оно активно против **III** и **IV**, а относительно **II** и вовсе действует почти на уровне антибиотика доксициклина (статистически достоверных различий между ними нет); тем не менее, видимой активности против **I** данное вещество не проявляет. Этот же продукт (**11**), хотя и без подтвержденной статистической достоверности, действует на уровне ЦТМА, даже несколько превышая его по количественному эффекту. В отличие от грамотрицательной кишечной палочки, среди двух грамположительных бактерий, **11** не достиг эффекта, сопоставимого с ампициллином. Производное **10** не проявляет никакого видимого эффекта на все вышеперечисленные бактериальные культуры. В то же время, **12** обладает выраженным действием против **II**, хотя и не проявляет активности относительно **I**, **III** и **IV**. Большинство продуктов работают на уровне антибактериальной активности хлоргексидина, даже несколько превышая его. Такие факты могут свидетельствовать о видоспецифичности дей-

ствия полученных производных в зависимости от варьирования вводимых функциональных групп. Таким образом, синтетический метод МКР может считаться эффективным подходом в создании биологически активных молекул.

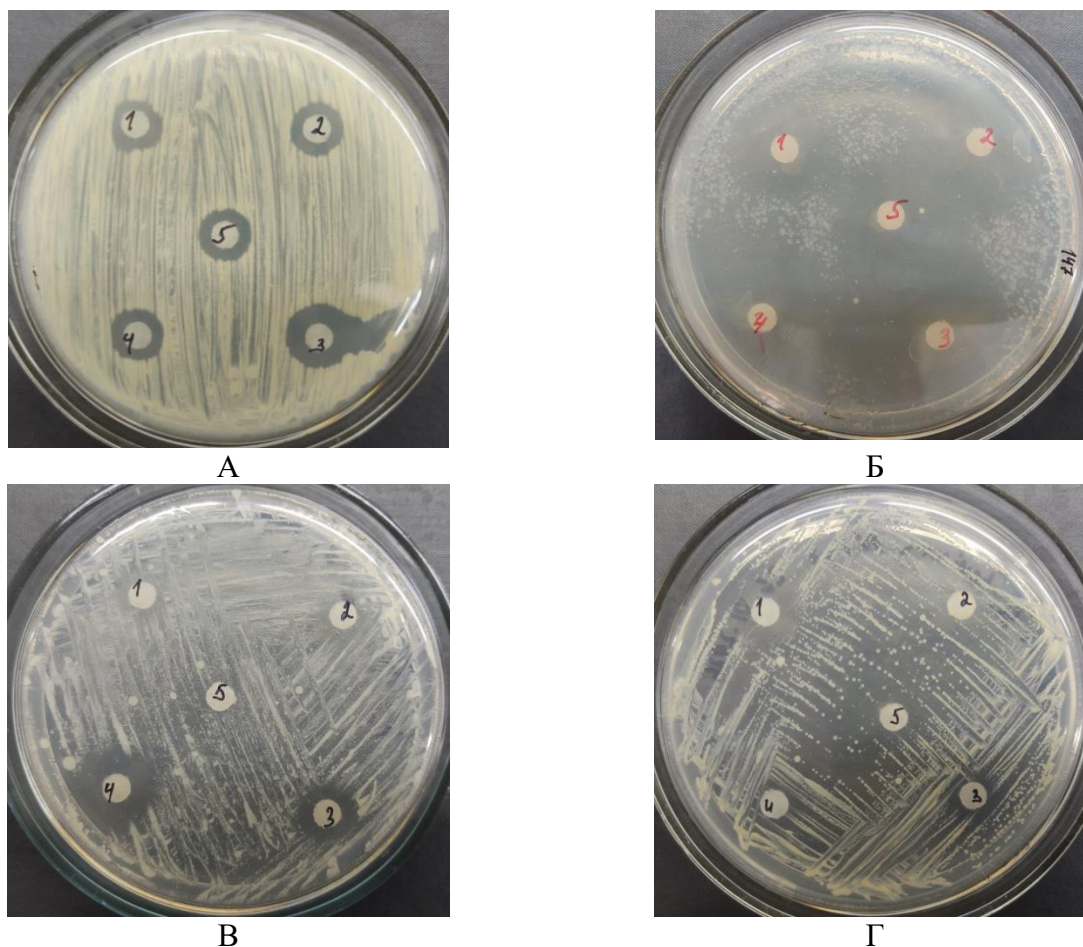


Рис. 4. Антибактериальные свойства ЦТМА относительно **III** (контроль), а также действие продукта **11** относительно **II** (Б), **III** (В) и **IV** (Г)

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта БРФФИ (№ гос. регистрации 20250778) и проекта НИР ГПНИ «Новые полифункциональные 3-гидрокси-2-оксоиндолы и гетероциклические соединения на их основе с высоким потенциалом биологической активности для создания прототипов лекарственных средств» 2026–2030 гг.

Список литературы

1. Batista, J. Jr. Natural chromenes and chromene derivatives as potential anti-trypanosomal agents / J. Batista Jr., D. Ambrosio, A. Lopes, L. Regasini // Bio-logical & Pharmaceutical Bulletin. – 2008. – Vol. 31, № 3. – P. 538–540.
2. Nissi Sharon, K. A brief review on the synthesis of 4H-chromene-embedded heterocycles / K. Nissi Sharon, P. Padmaja, P. Narayana Reddy // ChemistrySelect. – 2024. – vol. 9. – P. 1–18.
3. Aminkhani, A. One-Pot Three-Component Synthesis and Antimicrobial Activity of 2-Amino-4H-chromene Derivatives / Aminkhani A., M. Talati, R. Sharifi et al. // Journal of Heterocyclic Chemistry. – 2019. – DOI: 10.1002/jhet.
4. Lakshmi, Neelakandan V. A Rapid and Efficient Access to 4-Substituted 2-Amino-4H-chromenes Catalyzed by InCl₃ / Neelakandan V. Lakshmi, Selvarangam E. Kiruthika, Paramasivan T. Perumal // Synlett. – 2011. – №10. – P. 1389–1394.

**ПРИМЕНЕНИЕ БЕЛКОВ ЛАКТОФЕРРИНОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ
МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В ТКАНИ МОЗГА САМЦОВ И
САМОК КРЫС ПРИ ВЫСОКОКАЛОРИЙНОЙ ДИЕТЕ**

Митюкова Т.А., Басалай А.А., Полулях О.Е., Бартош А.Е.

Митюкова Т.А.

*Кандидат биологических наук, доцент, главный научный сотрудник
лаборатории физиологии питания и спорта
государственного научного учреждения «Институт физиологии
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
mityukovat@gmail.com*

Басалай А.А.

*Старший научный сотрудник лаборатории физиологии питания и спорта
государственного научного учреждения «Институт физиологии
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
anastasiya.basalay@gmail.com*

Полулях О.Е.

*Старший научный сотрудник лаборатории физиологии питания и спорта
государственного научного учреждения «Институт физиологии
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
oilipol@yandex.ru*

Бартош А.Е.

*младший научный сотрудник лаборатории физиологии питания и спорта
государственного научного учреждения «Институт физиологии
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
tajrihsa@mail.ru*

Рассмотрены особенности метаболических процессов мозга у крыс при высококалорийной диете (ВКД) и проведена попытка коррекции неблагоприятных сдвигов с использованием белков лактоферринов в сравнении с бычьим сывороточным альбумином (БСА). Применение БСА предотвращало нарастание перекисного окисления липидов в мозге у самцов, но не у самок крыс. Введение рекомбинантного человеческого лактоферрина (рчЛФ) вызывало повышение концентрации GLUT3 у самцов и самок крыс в ткани мозга. Стимулирующее влияние коровьего лактоферрина (кЛФ) на GLUT3 при ВКД было отмечено только у самок крыс.

Ключевые слова: высококалорийная диета; лактоферрин; перекисное окисление липидов; транспорт глюкозы; мозг

USE OF LACTOFERRIN PROTEINS TO CORRECT METABOLIC DISORDERS IN THE BRAIN TISSUE OF MALE AND FEMALE RATS MAINTAINED ON A HIGH-CALORIE DIET

Mityukova T.A.

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Chief Researcher of the Laboratory of Nutrition and Sports Physiology of the State Scientific Institution "Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus",
Minsk, Belarus
mityukovat@gmail.com

Basalai A.A.

Senior Researcher of the Laboratory of Nutrition and Sports Physiology of the State Scientific Institution "Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus
anastasiya.basalay@gmail.com

Poluliakh O.Y.

Senior Researcher of the Laboratory of Nutrition and Sports Physiology of the State Scientific Institution "Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus
oilipol@yandex.ru

Bartosh A.E.

Junior Researcher of the Laboratory of Nutrition and Sports Physiology of the State Scientific Institution "Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus
tajrihsa@mail.ru

The metabolic processes in the brain of rats maintained on a high-calorie diet (HCD) were examined, and an attempt was made to correct the adverse changes using lactoferrin proteins in comparison with bovine serum albumin (BSA). BSA prevented the increase in lipid peroxidation in the brain of male but not female rats. Administration of recombinant human lactoferrin (rhLF) increased GLUT3 concentrations in brain tissue in both male and female rats. A stimulating effect of bovine lactoferrin (bLF) on GLUT3 during HCD was observed only in female rats.

Key words: high-calorie diet; lactoferrin; lipid peroxidation; glucose transport; brain.

Введение. В настоящее время ожирение рассматривается, как глобальная проблема здравоохранения, и признано фактором риска для целого ряда заболеваний, таких как сердечно-сосудистая патология, жировой гепатоз, диабет и др. Показано, что ожирение вызывает нарастание активных форм кислорода, причем, не только в периферических тканях, но и в цереброкортикальной ткани, что играет существенную роль в развитии нейрональной дисфункции [1]. Учитывая связь ожирения с патологическими процессами в ткани мозга, актуальной проблемой является поиск биологически активных молекул, способных подавлять свободно-радикальное окисление и нормализовать основные метаболические

процессы в нервной ткани. В этом плане привлекает внимание белок лактоферрин (ЛФ), присутствующий в молоке млекопитающих и имеющий видовую специфичность.

Цель работы — изучить особенности метаболических процессов мозга у самцов и самок крыс при диет-индуцированном висцеральном ожирении и оценить возможность их коррекции с использованием белков лактоферринов.

Методы исследования. Все манипуляции соответствовали требованиям биоэтики о защите позвоночных животных. Экспериментальная работа была проведена на самцах и самках крыс Вистар в течение 16-ти недель и состояла из 2-х этапов — по 8 недель каждый. На первом этапе группа контроля получала стандартную диету (СтД), а экспериментальная — высококалорийную диету (ВКД): дополнительное включение жиров животного происхождения — 45 % от суточной калорийности корма и 10 % раствор фруктозы. На втором этапе методом рандомизации проводилось разделение животных на подгруппы в зависимости от перорально вводимой субстанции, причем исследование влияния рекомбинантного человеческого лактоферрина (рчЛФ) и коровьего лактоферрина (кЛФ) проводилось в сопоставлении с бычьим сывороточным альбумином (БСА). Применение высококалорийной диеты продолжалось на протяжении всего второго этапа в соответствующих группах («ВКД», «ВКД + БСА», «ВКД + рчЛФ», «ВКД + кЛФ»).

Все субстанции, включая растворитель (физиологический раствор) вводили в объеме 500 мкл/кг массы тела, а исследуемые вещества — БСА, рчЛФ и кЛФ — в дозе 100 мг/кг массы тела. Использовали белки лактоферрины производства РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству».

На заключительном этапе эксперимента проводили тест Порсолта. После некропсии оценивали массу висцеральной жировой ткани. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОС) определяли спектрофотометрическими методами в гомогенатах ткани головного мозга: малоновый диальдегид (МДА), активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Наряду с этим определяли содержание переносчика глюкозы GLUT3 иммуноферментным методом.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы Statistica 12.0. Результаты выражали в виде средней величины и средней стандартной ошибки ($M \pm SEM$). Статистическую значимость межгрупповых отличий оценивали с помощью дисперсионного анализа ANOVA с последующим *post-hoc* анализом по *F*-критерию Фишера. Отличия между группами считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У животных обоего пола, получавших ВКД, было зарегистрировано нарастание массы висцеральной жировой ткани во всех экспериментальных группах. Проведение теста Порсолта выявило признаки депрессивности только у самок крыс, содержавшихся на ВКД, независимо от коррекции рчЛФ, кЛФ и БСА.

Показатели системы ПОЛ-АОС в ткани мозга крыс всех экспериментальных групп представлены в таблице 1. У самок крыс, получавших стандартную

диету, отмечено статистически значимое нарастание активности каталазы в ткани мозга после курсового введения рчЛФ по сравнению с группой контроля.

Биохимические исследования показали повышение уровня МДА в ткани мозга у самцов и самок крыс при ВКД на фоне сниженной активности СОД у самок. Курсовое введение БСА предотвращало нарастание МДА в ткани мозга у самцов, но не у самок крыс, однако рчЛФ и кЛФ таким эффектом не обладали. Введение рчЛФ самцам, но не самкам крыс, получавшим ВКД, приводило к статистически значимому нарастанию активности СОД на 20,3 % по сравнению с группой «СтД», при этом кЛФ не оказывал влияния на ферменты антиоксидантной защиты. Обращает на себя внимание устойчивая депрессивность у самок крыс и выраженные нарушения в системе ПОЛ-АОС во всех группах, получавших ВКД, вне зависимости от вводимых препаратов.

Таблица 1

Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в гомогенатах головного мозга крыс всех экспериментальных групп

Группы	Показатель		
	САМЦЫ		
	МДА, мкмоль/г ткани	СОД, усл. ед.	Каталаза, нмоль/мин на г ткани
СтД	7,99 ± 0,39	37,40 ± 3,08	3,71 ± 0,17
СтД + БСА	8,33 ± 0,35	42,82 ± 2,41	3,87 ± 0,2
СтД + рчЛФ	8,38 ± 0,66	39,59 ± 2,74	3,77 ± 0,16
СтД + кЛФ	8,28 ± 0,35	42,17 ± 1,68	4,12 ± 0,18
ВКД	9,29 ± 0,59 *	43,03 ± 2,40	3,84 ± 0,24
ВКД + БСА	8,63 ± 0,33	42,91 ± 3,16	3,51 ± 0,17 &
ВКД + рчЛФ	9,53 ± 0,53 *	45,01 ± 2,83 *	3,94 ± 0,15
ВКД + кЛФ	10,14 ± 0,42 *[#] Δ&\$	41,58 ± 2,22	3,80 ± 0,18
САМКИ			
СтД	5,12 ± 0,37	42,91 ± 1,91	3,23 ± 0,13
СтД + БСА	6,44 ± 0,42	46,13 ± 1,63	3,67 ± 0,12
СтД + рчЛФ	5,91 ± 0,94	41,77 ± 1,70	3,90 ± 0,52 *
СтД + кЛФ	5,62 ± 0,48	44,68 ± 1,03	3,80 ± 0,14
ВКД	7,39 ± 0,41 *^{&}	37,01 ± 1,82 *^{#&}	3,15 ± 0,12 ^{Δ&}
ВКД + БСА	6,99 ± 0,40 *	38,10 ± 1,87^{#&}	3,19 ± 0,15 ^Δ
ВКД + рчЛФ	7,25 ± 0,86 *	36,73 ± 2,48*^{#&}	3,45 ± 0,17
ВКД + кЛФ	7,46 ± 0,53 *^{&}	39,02 ± 2,10^{#&}	3,37 ± 0,15

Примечание. Статистически значимые различия при $p < 0,05$: * – от «СтД», [#] – от «СтД + БСА», ^Δ – от «СтД + рчЛФ», [&] – от «СтД + кЛФ», ^{\$} – от «ВКД + БСА»

Учитывая важную роль нейротрофического обеспечения для адекватной функциональной активности мозга, было проведено определение содержания переносчика глюкозы GLUT3 в гомогенатах мозга крыс. Показано, что курсовое

введение рчЛФ вызывает повышение уровня GLUT3 в ткани мозга у крыс самцов, получавших ВКД (рис. 1, а). У самок крыс, находившихся на ВКД, наблюдалось повышение уровня GLUT3 в гомогенатах мозга после курсового введения рчЛФ и кЛФ по сравнению с группой контроля (рис. 1, в).

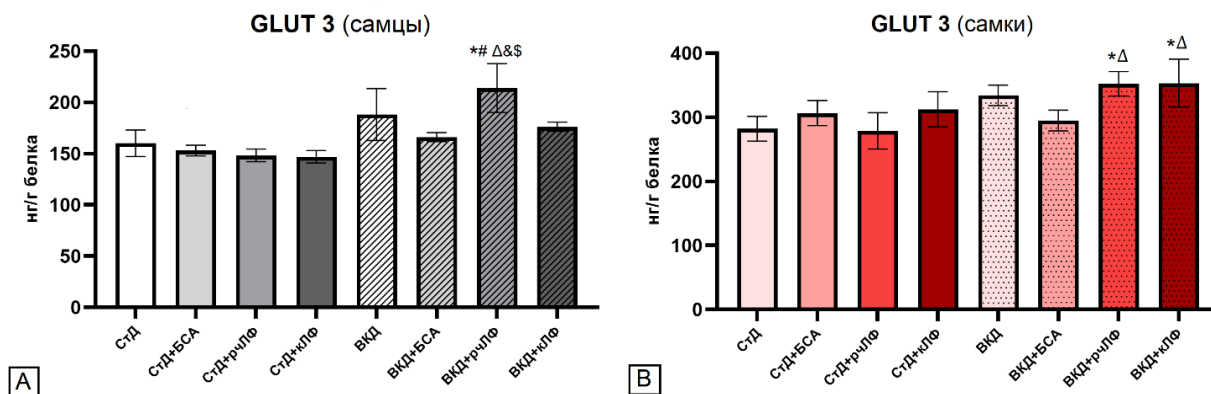


Рис. 1. Уровень GLUT3 в гомогенатах головного мозга самцов (А) и самок (В) крыс. Статистически значимые различия при $p < 0,05$: * – от «СтД», # – от «СтД + БСА», Δ – от «СтД + рчЛФ», & – от «СтД + кЛФ», \$ – от «ВКД + БСА»

GLUT3 является высокоаффинным транспортером глюкозы в нейронах ЦНС, от которого зависит поступление этого энергетического субстрата в мозг. Транспортер стабилизирует поглощение и утилизацию глюкозы нейронами, влияет на развитие и функционирование мозга и замедляет старение. Показано, что регуляция активности GLUT3 зависит от синаптической активности, уровня нейrogормонов, характера питания, инсулина, IGF1 и гипоксии-ишемии [2]. В настоящем исследовании впервые показано, что белки лактоферрины могут повышать содержание GLUT3 в ткани мозга крыс на фоне висцерального ожирения.

Заключение. Проведенные эксперименты демонстрируют, что длительная 16-недельная высококалорийная диета приводит к висцеральному ожирению, а также к нарастанию перекисного окисления липидов в ткани головного мозга у крыс Вистар обоего пола.

Подавление перекисного окисления липидов в ткани мозга крыс-самцов с висцеральным ожирением достигалось при курсовом введении БСА в дозе 100 мг/кг массы тела. Статистически значимое повышение антиоксидантной защиты за счет активации СОД в ткани мозга было обнаружено только при использовании рчЛФ у крыс-самцов, получавших ВКД. Негативные сдвиги в системе ПОЛ-АОС были наиболее выраженными и стабильными у самок крыс по сравнению с самцами, что может объяснять не поддающиеся коррекции проявления депрессивности у самок крыс на фоне ВКД.

Курсовое применение рчЛФ в дозе 100 мг/кг массы тела приводило к повышению содержания глюкозного транспортера GLUT3 в ткани мозга животных обоего пола с висцеральным ожирением, что свидетельствует об улучшении трофического обеспечения мозга. Стимулирующее влияние кЛФ в дозе 100 мг/кг массы тела на транспорт глюкозы в мозг на фоне ВКД было зарегистрировано только у самок крыс.

Список литературы

1. Neural underpinnings of obesity: the role of oxidative stress and inflammation in the brain / C.A. Mullins, R.B. Gannaban, M.S. Khan [et al.] // Antioxidants (Basel). – 2020. – Vol. 9. – Art. 1018. – P. 1–21.
2. Glucose transporter 3 in neuronal glucose metabolism: Health and diseases / W. Peng, C. Tan, L. Mo [et al.] // Metabolism. – 2021. – Vol. 123. – Art. 154869.

**РЕЗОРБИРУЕМЫЕ ПЛЕНОЧНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА
ОСНОВЕ НАТРИЙКАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ И
ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА**

Мусская О.Н., Крутько Е.Н., Крутько В.К., Глазов И.Е., Кулак А.И.

Мусская О.Н.

*Кандидат химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, Институт
общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
г. Минск, Беларусь
musskaja@igic.bas-net.by*

Крутько Е.Н.

*Старший научный сотрудник, Институт общей и неорганической химии Наци-
ональной академии наук Беларуси,
г. Минск, Беларусь
ev_krutsko@igic.bas-net.by*

Крутько В.К.

*Кандидат химических наук, доцент, заведующий лабораторией, Институт об-
щей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
г. Минск, Беларусь
tsuber@igic.bas-net.by*

Глазов И.Е.

*Кандидат химических наук, старший научный сотрудник, Институт общей и
неорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
г. Минск, Беларусь
che.glazov@mail.ru*

Кулак А.И.

*Доктор химических наук, академик, директор, Институт общей и неорганиче-
ской химии Национальной академии наук Беларуси,
г. Минск, Беларусь
kulak@igic.bas-net.by*

*Разработаны резорбируемые пленочные полимерные материалы на основе
натрийкарбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) и поливинилового спирта (ПВС).
Показана возможность регулирования гидрофильно-гидрофобных свойств, а
также степени резорбции пленочных материалов Na-КМЦ / ПВС в зависимости
от их состава и термической обработки. Выдерживание образцов в модельном
растворе синтетической межтканевой жидкости в течение месяца выявило их
повышенную степень резорбции (более 50 %). Полученные материалы перспек-
тивны в качестве резорбируемых носителей для биоактивных компонентов.*

Ключевые слова: *резорбируемые пленочные полимерные материалы;
натрийкарбоксиметилцеллюлоза; поливиниловый спирт.*

RESORBABLE FILM POLYMERIC MATERIALS BASED ON SODIUM CARBOXYMETHYLCELLULOSE AND POLYVINYL ALCOHOL

Musskaya O.N.

*PhD Sci. (Chemistry), Assistant Professor, Leading Researcher, Institute of General and Inorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk
musskaja@igic.bas-net.by*

Krutsko E.N.

*Senior researcher, Institute of General and Inorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk
ev_krutsko@igic.bas-net.by*

Krut'ko V.K.

*PhD Sci. (Chemistry), Assistant Professor, Head of the Laboratory, Institute of General and Inorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk
tsuber@igic.bas-net.by*

Glazov I.E.

*PhD Sci. (Chemistry), Senior researcher, Institute of General and Inorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk
che.glazov@mail.ru*

Kulak A.I.

*Dr. Sci. (Chemistry), academician, director Institute of General and Inorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk
kulak@igic.bas-net.by*

Resorbable film polymer materials based on sodium carboxymethylcellulose (Na-CMC) and polyvinyl alcohol (PVA) have been developed. The ability to control the hydrophilic-hydrophobic properties and resorption degree of Na-CMC/PVA film materials depending on their composition and heat treatment has been demonstrated. Exposure of the samples to a solution simulating synthetic interstitial fluid for a month demonstrated an increased resorption degree (over 50 %). The resulting materials hold promise as resorbable carriers for bioactive components.

Key words: *resorbable film polymer materials; sodium carboxymethylcellulose; polyvinyl alcohol.*

Полимерные пленки представляют собой гибкие и эластичные материалы, которые находят широкое применение в качестве упаковочных материалов, барьерных и изоляционных мембран, носителей биоактивных компонентов и др. [1-3]. Область применения полимерных пленок определяется природой полимера, особенностями его физико-химических свойств, а также способом получения таких материалов. Известно, что в случае образования интерполимерных комплексов происходит заметное изменение их физико-химических свойств, что особенно актуально при разработке материалов на их основе с улучшенными характеристиками, например, повышенной механической прочностью. В случае разработки материалов медицинского назначения полимеры не должны вызывать аллергию, воспаление и отторжение, обеспечивая оптимальный терапевтический

эффект. Целью данной работы являлась разработка резорбируемых пленочных полимерных материалов на основе интерполимерных комплексов биосовместимых полимеров – натрийкарбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) и поливинилового спирта (ПВС) в качестве носителей для активных компонентов.

Пленочные полимерные материалы получали методом полива 7 мас. % растворов Na-КМЦ (ультразыской вязкости – 15–50 мПа·с для 4 % раствора) и ПВС (M_r 72000 г/моль) при различных объемных соотношениях 1:(0,3–3,0), содержащих 0,1–3,0 об.% глицерина в качестве пластификатора. Растворы полимеров наносили на стеклянную поверхность в количестве 80–230 мкл/см² в виде одного или нескольких слоев. Каждый слой высушивали на воздухе при комнатной температуре в течение 1–2 суток. При получении многослойных полимерных материалов количество раствора полимера для первого слоя составляло 80 мкл/см². Дополнительно часть образцов выдерживали при 85°C в течение 1–2 ч, особенно в случае многослойных пленочных полимерных материалов Na-КМЦ / ПВС для предотвращения их деформации при нанесении второго слоя.

Гидрофильно-гидрофобные свойства пленочных материалов оценивали методом лежащей капли [4], измеряя краевые углы смачивания с использованием фотографических изображений осесимметричных лежащих капель. В качестве смачивающей жидкости использовали дистиллированную воду. Рентгенофазовый анализ образцов проводили на дифрактометре ДРОН-3 с излучением $\text{CuK}_\alpha=1,5405\text{\AA}$. ИК-спектроскопию образцов осуществляли на ИК-Фурье-спектрометре Tensor-27 (Bruker, Германия) в диапазоне 400–4000 см⁻¹, используя метод нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) с кристаллом германия, охлаждаемым жидким азотом. Оптические спектры пропускания пленочных полимерных материалов регистрировали на спектрофотометре Agilent 8453. Оценку резорбируемости образцов проводили путем выдерживания в модельном растворе синтетической межтканевой жидкости SBF (Simulated Body Fluid), приготовленным согласно методике [5], в течение от одних суток до месяца.

Выявлено, что механические свойства полученных пленочных материалов зависят, как от природы полимеров, так и толщины готовых образцов. При использовании растворов полимеров в небольшом количестве (80 мкл/см²) получают тонкие пленки (толщина 0,04 мм), которые легко рвутся при отделении их от стеклянной поверхности. Повышенной жесткостью обладают толстые пленки (толщина 0,2 мм), полученные при использовании растворов полимеров в количестве 230 мкл/см². В случае использования растворов полимеров в количестве 150 мкл/см² получают эластичные пленки толщиной 0,1 мм, которые достаточно прочные и не рвутся при снятии их со стеклянной поверхности. Пленки на основе Na-КМЦ по сравнению с ПВС являются жесткими, неэластичными. В случае смеси полимеров эластичные пленки получают при содержании ПВС больше 50 % (соответствует соотношениям Na-КМЦ / ПВС 1:(1–3)). Дополнительная температурная обработка при 85°C не приводит к заметному изменению механических свойств полимерных пленок, определяющих их деформируемость и способность восстанавливать форму при отделении от стеклянной поверхности.

Полимерные пленки после высушивания при комнатной температуре характеризуются контактным углом смачивания $30\text{--}51^\circ$, что свидетельствует об их высокой гидрофильности. Следует отметить, что пленочные материалы на основе Na-КМЦ являются хорошо растворимыми и более гидрофильными по сравнению с ПВС. В случае использования интерполимерных комплексов Na-КМЦ / ПВС, как правило, гидрофильно-гидрофобные свойства пленок на их основе определяются количеством ПВС. Дополнительное выдерживание пленочных полимерных материалов при 85°C (соответствует температуре стеклования ПВС) приводит к снижению гидрофильности поверхности с увеличением продолжительности от 1 до 2 ч, как для ПВС, так и Na-КМЦ / ПВС за счет структурирования полимеров. Характерно, что контактный угол многослойных пленок ($43\text{--}62^\circ$) меньше по сравнению с однослойными пленками аналогичного состава (46°), поскольку поверхность первого слоя является гидрофильной и хорошо смачивается при последующем нанесении нового слоя из водного раствора полимера, что приводит к изменению надмолекулярной структуры полимеров.

Согласно данным рентгенофазового анализа пленочные материалы (рис. 1) содержат аморфные (рефлексы Na-КМЦ при $21,6^\circ$, ПВС – при $2\theta\ 19,7^\circ$) и кристаллические (рефлексы полимеров при $2\theta\ 12,6^\circ$, $25,1^\circ$ и $29,7^\circ$) области, что согласуется с литературными данными [6–8]. Термическая обработка при 85°C пленок, содержащих ПВС, сопровождается формированием более кристаллической структуры полимера и проявляется в снижении смачиваемости их поверхности (рис. 2).

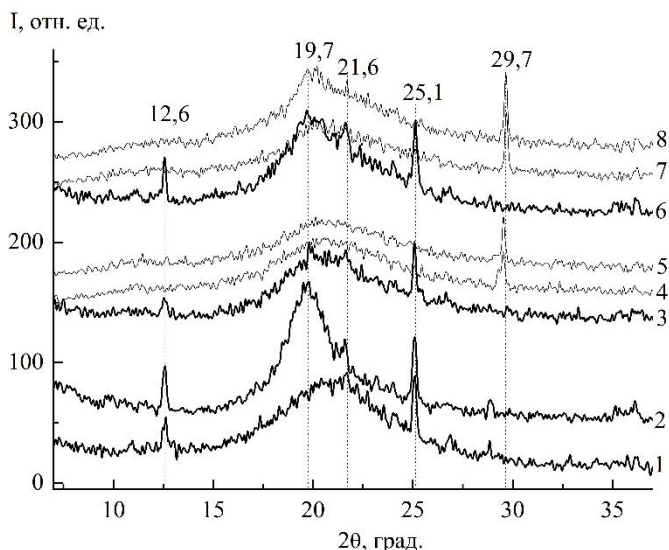


Рис. 1. Дифрактограммы пленочных полимерных материалов с содержанием глицерина 1,5 об.% в различных соотношениях Na-КМЦ/ПВС и времени термической обработки при 85°C :
1 – 1:0, без обработки; 2 – 0:1, без обработки;
3 – 1:0,4, без обработки;
4 – 1:0,4, 1 ч; 5 – 1:0,4, 2 ч; 6 – 1:1, без обработки;
7 – 1:1, 1 ч; 8 – 1:1, 2 ч

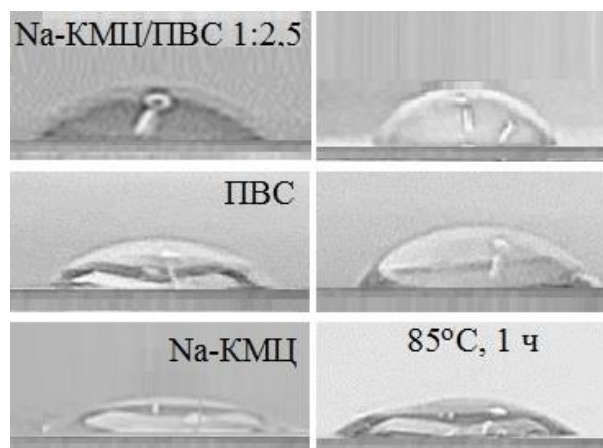


Рис. 2. Фотографические изображения водных капель на поверхности пленочных полимерных материалов (Na-КМЦ, ПВС и Na-КМЦ/ПВС при соотношении 1:2,5), высушенных при комнатной температуре и прогретых при 85°C в течение 1 ч

Температурная обработка при 85°C образцов с разными соотношениями полимеров Na-КМЦ/ПВС (1:0,4 и 1:1) приводит к исчезновению рефлекса при 2θ 12,6° и смещению некоторых рефлексов в область больших углов, что свидетельствует о взаимодействии полимеров с изменением надмолекулярной структуры, что согласуется с данными ИК-спектроскопии и спектрофотометрии.

Выдерживание пленочных полимерных материалов в растворе SBF в течение от одних суток до месяца показало, что степень резорбции образцов, прогретых при 85°C в течение 2 ч, при большом количестве Na-КМЦ через одни сутки составляет практически 57 мас.%, что связано с повышенной гидрофильностью данного полимера. В случае пленочных образцов ПВС или Na-КМЦ/ПВС общей закономерности в изменении массы при растворении не наблюдается, что, вероятно, связано, как с резорбцией, так и образованием апатитового соединения на поверхности пленки за счет наличия в растворе SBF ионов кальция и фосфата, а также значения величины pH 7,4, способствующем образованию биоapatитового слоя. В случае смеси полимеров Na-КМЦ/ПВС растворение пленок происходит более заметно (скорость растворения выше в 5 раз) по сравнению с пленками на основе индивидуального ПВС.

Введение биоактивных компонентов в состав таких материалов позволит их использовать при лечении различных заболеваний. В частности, ранее нами [8] были разработаны пленочные композиты на основе ПВС и гидроксиапатита (ГА, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) – основного неорганического компонента костной и зубной ткани человека и животных. Установлено ингибирующее действие ГА на процессы дегидратации ПВС в температурном интервале 80–210°C без изменения положения спектральных полос оптического поглощения, а также улучшение механических свойств полимерных пленок в присутствии 2–9 мас. % ГА. Включение фосфатных частиц в биополимерную матрицу позволяет добиться как улучшения биосовместимости, так и увеличения прочности. Таким образом, пленочные полимерные материалы, содержащие аморфизированные фосфаты кальция, преимущественно ГА, выполняя временную барьерную функцию, могут постепенно высвобождать ионы кальция и фосфата, что обеспечит эффективность регенерации поврежденных твердых тканей. В случае введения наночастиц серебра дополнительно может быть достигнута противомикробная защита таких биоматериалов.

Пленочные материалы на основе Na-КМЦ являются хорошо растворимыми в водных растворах и характеризуются повышенной гидрофильностью по сравнению с ПВС и Na-КМЦ / ПВС. Показана возможность повышения гидрофобных свойств, а также регулирования степени резорбции пленочных композиционных материалов Na-КМЦ / ПВС в зависимости от их состава и термической обработки при 85°C. Выдерживание пленочных полимерных материалов в модельном растворе SBF в течение 1–30 суток выявило повышенную степень резорбции (более 50 %) образцов, содержащих Na-КМЦ. Пленочные полимерные материалы Na-КМЦ / ПВС перспективны в качестве носителей для активных компонентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГПНИ “Химические процессы и технологии” на 2026–2030 гг. по заданию 2.1.04.3 и гранта БРФФИ № T25ИНДА-001.

Список литературы

1. Kalita, H. Fabrication and characterization of polyvinyl alcohol/metal (Ca, Mg, Ti) doped zirconium phosphate nanocomposite films for scaffold-guided tissue engineering application / H. Kalita, P. Pal, S. Dhara, A. Pathak // *Materials Science and Engineering C*. – 2017. – V. 71. – P. 363–371.
2. Rokaya, D. Polymeric materials and films in dentistry: An overview / D. Rokaya, V. Srimaneepong, J. Sapkota, J. Qin, K. Siraleartmukul, V. Siriwongrungson // *Journal of Advanced Research*. – 2018. – V. 14. – P. 25–34.
3. Hasimi, A. Transport of water in polyvinyl alcohol films: Effect of thermal treatment and chemical crosslinking / A. Hasimi, A. Stavropoulou, K.G. Papadokostaki, M. Sanopoulou // *European Polymer Journal*. – 2008. – V. 44. – P. 4098–4107.
4. Stalder, A.F. Low-bond axisymmetric drop shape analysis for surface tension and contact angle measurements of sessile drops / A.F. Stalder, T. Melchior, M. Müller, D. Sage, Th. Blu, M. Unser // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2010. – V. 364, № 1–3. – P. 72–81.
5. Kokubo, T. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? / T. Kokubo, H. Takadama // *Biomaterials*. – 2006. – V. 27, I. 15. – P. 2907–2915.
6. Мусская, О.Н. Модифицирование волоконных целлюлозных материалов аморфизированными фосфатами кальция и наночастицами меди / О.Н. Мусская, В.К. Крутько, А.И. Кулак, Е.Н. Крутько // *Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов*. – 2022. – Вып. 14. – С. 811–819.
7. Ушаков, С.Н. Поливиниловый спирт и его производные / С.Н. Ушаков. – Л.: Изд-во АН СССР. – в 2 т. – Т. 1. 1960. – 552 с.
8. Мусская, О.Н. Пленочные композиты на основе гидроксиапатита и поливинилового спирта / О.Н. Мусская, В.К. Крутько, А.И. Кулак, Ю.А. Лесникович // *Полимерные материалы и технологии*. – 2017. – Т. 3, № 2. – С. 28–33.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ КАК КАРДИОПРОТЕКТОРОВ

Надольник Л.И., Полубок В.Ч., Белоновская Е.Б., Борох Н.В., Бородина Т.А.

Надольник Л.И.

*Доктор биологических наук, доцент, заведующий отделом
доклинического и экспериментального исследования государственного предпри-
ятия «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной
академии наук Беларуси»,
г. Гродно, Беларусь
lnadolnik@gmail.com*

Полубок В.Ч.

*Магистр биологических наук, научный сотрудник отдела доклинического и экс-
периментального исследования государственного предприятия
«Институт биохимии биологически активных соединений
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Гродно, Беларусь
slavapolubok@maim.ru*

Белоновская Е.Б.

*Старший научный сотрудник отдела доклинического и экспериментального ис-
следования государственного предприятия
«Институт биохимии биологически активных соединений
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Гродно, Беларусь
ms.belonovskaya@yandex.by*

Борох Н.В.

*Магистр биологических наук, младший научный сотрудник отдела доклиниче-
ского и экспериментального исследования государственного предприятия
«Институт биохимии биологически активных соединений
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Гродно, Беларусь
nikitaboroch@gmail.com*

Бородина Т.А.

*Магистр биологических наук, научный сотрудник отдела доклинического
и экспериментального исследования государственного предприятия
«Институт биохимии биологически активных соединений
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Гродно, Беларусь
tatsyana.baradzina@mail.ru*

*В данной статье проведен анализ кардиопротекторных эффектов расти-
тельных полифенолов – хлорогеновой кислоты и нарингина при комбинированной
хронической алкогольной интоксикации (ХАИ), которая была использована для
моделирования алкогольной кардиомиопатии (АКМП) у самцов крыс. Показано,
что введение в течение 4 недель растительных полифенолов и их композиций на*

фоне ХАИ снижало степень метаболических и структурных повреждений миокарда крыс. Растительные полифенолы могут использоваться для создания кардиопротекторных средств.

Ключевые слова: комбинированная хроническая алкогольная интоксикация, алкогольная кардиомиопатия, кардиопротекция, растительные полифенолы.

PROSPECTS FOR USING PLANT POLYPHENOLS AS CARDIOPROTECTORS

Nadolnik L.I.

Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Preclinical and Experimental Research, State Enterprise "Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus," Grodno, Belarus
lnadolnik@gmail.com

Polubok V.Ch.

Master of Biological Sciences, Researcher, Department of Preclinical and Experimental Research, State Enterprise "Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus," Grodno, Belarus
slavapolubok@maim.ru

Belonovskaya E.B.

Senior Researcher, Department of Preclinical and Experimental Research, State Enterprise "Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds, National Academy of Sciences of Belarus," Grodno, Belarus
ms.belonovskaya@yandex.by

Borokh N.V.

Master of Biological Sciences, Junior Researcher, Department of Preclinical and Experimental Research, State Enterprise "Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus," Grodno, Belarus
nikitaboroch@gmail.com

Borodina T.A.

Master of Biological Sciences, Researcher, Department of Preclinical and Experimental Research, State Enterprise "Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus," Grodno, Belarus
tatsyana.baradzina@mail.ru

This article analyzes the cardioprotective effects of plant polyphenols—chlorogenic acid and naringin—in combined chronic alcohol intoxication (CAI), which was used to model alcoholic cardiomyopathy (ACM) in male rats. It was shown that 4-week administration of plant polyphenols and their compositions during CAI reduced the

degree of metabolic and structural damage to the rat myocardium. Plant polyphenols have potential for use in the development of cardioprotective agents.

Key words: *combined chronic alcohol intoxication, alcoholic cardiomyopathy, cardioprotection, plant polyphenols.*

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются серьезной угрозой для человечества из-за растущей заболеваемости и смертности. Причиной выраженного роста уровня ССЗ может являться очень высокий темп жизни, высокий уровень стресса в среде обитания человека на фоне гиподинамии и нарушения принципов здорового питания. Кроме того, полезные профилактические мероприятия, которые бы являлись нормой жизни, не всегда находят отклик у современного человека.

Весьма привлекательным направлением, которое в настоящее время активно развивается, является использование биологически активных и пищевых добавок, полученных из растительного сырья, обладающего кардиопротекторными свойствами. Нельзя не отметить, что лекарственные растения и ягоды содержат в значительных концентрациях витамины, минералы [1, 2], вторичные метаболиты, которые обладают выраженными антиоксидантными свойствами [3], также снижают окислительное и воспалительное повреждение эндотелия за счет подавления высвобождения воспалительных медиаторов. Они обеспечивают защиту миокарда от ишемического повреждения, также повышают антиоксидантный потенциал кардиомиоцитов [4], улучшая окислительный метаболизм митохондрий и обладают множеством других полезных свойств [5].

Антиоксидантные защитные эффекты фруктов и овощей первоначально приписывались наличию витаминов и каротиноидов, но в более поздних работах повышенное внимание уделяется полифенолам. Однако результаты неубедительны из-за их структурного разнообразия, широкого распространения в продуктах питания и ограничений экспериментальных исследований. Поэтому для установления эффективности полифенолов необходимы их дополнительные экспериментальные исследования.

В ряде краткосрочных, маломасштабных исследований с участием людей изучалось влияние продуктов, богатых полифенолами, особенно содержащих полифенолы черники, на общепризнанные, имеющие медицинское значение биомаркеры сердечно-сосудистых заболеваний, включая гипертонию, эндотелиальную дисфункцию, липидный обмен [6].

Цель исследования: изучить кардиопротекторные свойства растительных полифенолов (хлорогеновой кислоты и нарингина) при моделировании алкогольного поражения сердца с использованием комбинированного способа хронической алкогольной интоксикации (ХАИ).

Материалы и методы исследования. Исследования были выполнены на самцах крыс с исходной массой тела 245–260 г. В ходе исследования экспериментальным животным был обеспечен пищевой рацион, состоящий только из сухого корма. На первом этапе исследования животных рандомизировали случайным образом на 2 группы: 1 – интактные животные, получавшие сухой корм и свободный доступ к воде; 2 – животные, содержащиеся на сухом корме и получавшие

этанол для моделирования алкогольной кардиомиопатии (АКМП). Далее были сформированы следующие группы:

1. Контроль интактный
2. АКМП – контроль
3. АКМП + ХГК в дозе 40 мг/кг
4. АКМП + НГ в дозе 40 мг/кг
5. АКМП + композиция 1 (ХГК в дозе 40 мг/кг + НГ в дозе 40 мг/кг)
6. АКМП + композиция 2 (ХГК в дозе 40 мг/кг + НГ в дозе 20 мг/кг)

Комбинированная хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) включала интрагастральное введение этанола и употребление его в качестве единственного источника жидкости, была использована следующая схема интоксикации:

– первую неделю животным внутрижелудочно вводили 20 % водный раствор этанола из расчета 4 г/кг массы в сутки на фоне употребления per os 3–5 % раствора этанола в поилках в качестве единственного источника питья;

– вторую неделю животным внутрижелудочно вводили 30 % водный раствор этанола из расчета 4 г/кг массы в сутки на фоне употребления per os 10 % раствора этанола в качестве единственного источника питья;

– третью неделю животным внутрижелудочно вводили 40 % водный раствор этанола из расчета 6 г/кг массы в сутки на фоне употребления per os 15 % раствора этанола в качестве единственного источника питья;

– четвертую неделю животным внутрижелудочно вводили 40 % водный раствор этанола из расчета 6 г/кг массы в сутки на фоне употребления per os 20 % раствора этанола в качестве единственного источника питья;

– с шестой недели животным внутрижелудочно вводили 40 % водный раствор этанола из расчета 6 г/кг массы в сутки на фоне употребления per os 3 % раствора этанола в качестве единственного источника питья.

Продолжительность внутрижелудочного введения этанола составила 18 недель. С 19 недели эксперимента на фоне 10 % водного раствора этанола в поилках животным вводили исследуемые растительные полифенолы и их комбинации в дозах, описанных ранее, в течение 4-х недель. Хлорогеновая кислота (ХГК) и нарингин (НГ) вводились в дозе 40 мг/кг; было проведено тестирование двух композиций ХГК+НГ (40+40 мг/кг) и (40+20 мг/кг).

В опытах использованы: нарингин (Naringin hydrate, >95,0 % (TCI CO., LTD.Tokyo, Japan), хлорогеновая кислота (>98,0 % (Glenthams, Life Sciences, United Kingdom).

Результаты и обсуждение. Длительная алкоголизация животных (в течение 22 недель) проявлялась достоверным снижением массы тела у крыс на 11,4 % по сравнению с контрольной группой, это снижение сохранялось у всех групп на фоне введения препаратов растительных полифенолов и их композиций. Масса сердца и других внутренних органов не изменялась на фоне ХАИ, но можно отметить снижение массы сердца, по сравнению с контрольной группой, на 17,1 % и 12,8 % соответственно в группах АКМП+НГ и АКМП+ХГК+НГ (40+40).

Расчет массовых коэффициентов внутренних органов показал повышение массового коэффициента печени у крыс (на 7,8–13,3 %, $p < 0,05$) по сравнению с группой контроль; массового коэффициента селезенки (на 19,8–43,4 %, $p < 0,05$)

практически у всех опытных групп, массового коэффициента почек (на 9,2–11,1 %, $p < 0,05$) у двух групп (ХАИ+ХГК и ХАИ+НГ), массового коэффициента надпочечников (на 22,8 %, $p < 0,05$) только в группе ХАИ+ХГК+НГ (40+40 мг). Повышение коэффициентов внутренних органов — проявление токсичности употребляемых животными доз этанола.

После 8 недель ХАИ, включающей внутрижелудочное введение 40 % раствора этанола в дозе 6 г/кг, а также использования в качестве единственного источника жидкости 3 % раствора этанола, ткани сердца и печени были взяты для контроля гистологических изменений. Показано, что при ХАИ в сердце отмечаются полнокровие сосудов, единичные очаги лейкоцитарной инфильтрации. В печени выявлены дисциркуляторные изменения в виде расширения и полнокровия кровеносных сосудов и синусоидов, признаки мелкокапельной жировой дистрофии гепатоцитов без четкой локализации, очаговая инфильтрация в перипортальных зонах долек.

При комбинированной ХАИ было проведено исследование влияния растительных полифенолов на показатели антиоксидантной системы и маркеры ПОЛ в сердце крыс. В ткани сердца и печени крыс определялась концентрация альдегидных продуктов ПОЛ и восстановленного глутатиона (GSH).

Эффекты растительных полифенолов проявлялись выраженным снижением концентрации альдегидных продуктов ПОЛ, взаимодействующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), повышенной в ткани сердца на 34 %, соответственно, на 28,73 и 24,37 % на фоне введения ХГК и НГ. Эффекты композиций полифенолов проявлялись в меньшей степени. В ткани сердца выраженных изменений концентрации GSH не обнаружено.

В печени крыс концентрация GSH снижалась при ХАИ на 32,4 % и повышалась на фоне введения ХГК, НГ и их композиций на 15–20 %, но не до контрольных значений. Концентрация альдегидных продуктов ПОЛ в ткани печени была повышена в группе ХАИ на 29,98 %, введение на протяжении 4 недель ХГК в дозе 40 мг/кг снижало данный показатель на 28,84 %, введение НГ в той же дозе было значительно менее эффективным, в отличие от композиций ХГК+НГ, где выявлены равнозначные эффекты двух композиций (снижение на 20 % по сравнению с группой ХАИ).

Полученные результаты подтверждают хорошие антиоксидантные свойства ХГК при ХАИ и менее значимые антиоксидантные эффекты НГ. ХАИ — весьма специфическое воздействие на организм, механизмы антиоксидантных свойств ХГК и НГ и их композиции при ХАИ представляют значительный интерес. Согласно литературным данным, развитие окислительного стресса в сердце рассматривается как ключевой механизм развития АКМП.

Исследование эффектов растительных полифенолов на общие биохимические показатели крови крыс. В сыворотке крови контрольных и опытных животных определялась концентрация глюкозы, триглицеридов (ТГ), общего холестерина (ОХЛ), печеночных ферментов АЛТ, АСТ, а также креатинфосфокиназы (КФК-МВ). ХАИ не влияла на уровень ТГ, содержание ОХЛ было снижено при ХАИ, но повышалось на фоне введения НГ и композиций ХГК+НГ; на фоне вве-

дения ХГК в меньшей степени. Глюкоза в крови при ХАИ повышалась незначительно ($6,43 \pm 0,29$ ммоль/л) и не корректировалась при введении исследуемых препаратов, незначительные изменения выявлены только на фоне композиции (ХГК+НГ, 40+40 мг/кг).

Можно отметить, что повышенная при ХАИ концентрация АЛТ снижалась до контрольных значений только на фоне введения ХГК (но не НГ) и композиций на основе ХГК; изменения активности АСТ не обнаружено. В сыворотке крови при ХАИ повысилась активность креатинфосфокиназы (КФК-МВ), которая снижалась наиболее эффективно при введении ХГК, также показано её снижение при введении НГ и тестируемых композиций ХГК+НГ, что может свидетельствовать о кардиопротекторных свойствах исследуемых полифенолов.

Влияние растительных полифенолов на гистологическую структуру сердца крыс. У животных группы АКМП в миокарде отмечается венозное полнокровие, преимущественно субэндокардиальных зон. Периваскулярно наблюдается разрастание зрелой соединительной ткани, которая местами распространяется вширь по межмышечным пространствам. В некоторых случаях определяется скудная периваскулярная лимфоидно-гистеοцитарная инфильтрация. Среди клеток определяются округлой формы клетки с зернистой цитоплазмой, возможно тучные.

В сердце животных из группы (АКМП+ХГК) при окраске гематоксилином-эозином интрамурально местами определяется очаговая клеточная инфильтрация, большинство клеток имеет овальную форму, зернистость цитоплазмы (вероятно, тучные клетки), оставшиеся являются лимфоцитами и гистиоцитами. При окраске по Маллори определяется периваскулярный и распространенный по ходу мышечных волокон фиброз преимущественно в субэндокардиальных зонах. Во всех препаратах сердца крыс из группы (АКМП+НГ) определяется аналогичная по составу клеточная инфильтрация, что и в вышеописанных группах. Выражено венозное полнокровие, преимущественно в субэндокардиальных зонах. Межмышечный фиброз имеет место, но носит очаговый характер и менее выражен. В сердце крыс на фоне АКМП введение композиций ХГК+НГ (1:1 и 2:1) клеточная реакция более выражена, чем в группе (АКМП+ХГК) и (АКМП+НГ), как по количеству клеток в клеточных скоплениях, так и по количеству очагов. На фоне лейкоинфильтрации определяются выраженный фиброз, очаговое венозное полнокровие в субэндокардиальных и субэпикардиальных зонах.

Морфометрический анализ препаратов сердца показал наблюдаемое уменьшение площади мышечной части сердца крыс с АКМП и тенденцию к увеличению просвета левого желудочка на 19 % на фоне снижения толщины его стенки, что свидетельствует о наличии признаков атрофии левых отделов сердца и возможном развитии левожелудочковой дилатации вследствие цитотоксического действия этанола на кардиомиοциты. Уменьшение просвета правого желудочка на 11 % на фоне увеличения толщины его стенки на 21 % у животных данной группы свидетельствует о развивающейся гипертрофии правого желудочка. Изменение соотношения ЛЖ/ПЖ сердца в сторону увеличения (на 18 %) является морфометрическим маркером дисбаланса в работе обоих желудочков и дилатации левого желудочка.

Введение ХГК оказывало значительное нормализующее действие на сердце: просвет левого желудочка не отличался от контроля, отмечено увеличение просвета правого желудочка на 36 %, уменьшение толщины стенки правого желудочка на 21 %. Интересным является мощное влияние ХГК на показатель соотношения ЛЖ/ПЖ в пользу правого желудочка: выявлено достоверное снижение этого показателя на 34,6 %. При введении НГ животным с АКМП выявлены положительные изменения, направленность эффекта свидетельствует о благоприятном влиянии нарингина на архитектуру сердца и нормализацию ключевых пропорций. Показано, что композиции препаратов обладали кардиопротекторными свойствами в условиях экспериментальной АКМП, обе композиции нормализовали межжелудочковый баланс и препятствовали гипертрофии МЖП и стенки правого желудочка, тем самым осуществляя разгрузку правых отделов сердца.

Заключение. Растительные полифенолы обладают значительными кардиопротекторными свойствами при моделировании АКМП с использованием методики комбинированной ХАИ. Протекторные эффекты ХГК и НГ проявляются снижением в миокарде проявлений оксидативного стресса, улучшением биохимических показателей крови, включая креатинфосфокиназу (КФК-МВ), а также значительным улучшением структуры сердца и его морфометрических показателей. Необходимо отметить, что высокое содержание ХГК показано в зернах кофе, и меньшее в ягодах черники, яблоках и других фруктах; НГ богаты цитрусовые, он содержится в кожуре. Полученные результаты свидетельствуют, что растительные полифенолы представляют интерес для создания на их основе кардиопротекторных средств.

Список литературы

1. Ягоды: химический состав, антиоксидантная активность / Яншин А.Я., [и др.] // Аналитика. – 2019. – Т 9, № 3. – С. 222 – 230.
2. Степанова Е.М., Луговая Е.А. Минеральный профиль черной смородины (*Ribes nigrum* L.), произрастающей на Крайнем Северо-Востоке России // Вопр. питания, – 2019. – Т. 88, № 4. – С. 83–87.
3. Vahapoglu B, Erskine E, Gultekin Subasi B, Capanoglu E. Recent Studies on Berry Bioactives and Their Health-Promoting Roles. / B. Vahapoglu, E. Erskine, B. Gultekin Subasi, E. Capanoglu //Molecules. – 2021. – Vol. 27, № 1. – P. 108.
4. Kępińska-Pacelik J, Biel W. Hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.): A Review of Therapeutic Potential and Applications / Molecules. – 2026. – Vol. –31(2). – P. 226.
5. Role of berries in vascular function: a systematic review of human intervention studies. / D. Martini, [et al.] // Nutr Rev. – 2020. – V. 78, № 3. – P. 189–206.].
6. Onuh, J.O., Dawkins, N.L., Aluko, R.E. Cardiovascular disease protective properties of blueberry polyphenols (*Vaccinium corymbosum*): a concise review / Food Prod Process and Nutr. – 2023. – Vol. – 5 (27)

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ИЗУЧЕНИЮ
ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И БИОДЕГРАДИРУЕМОСТИ
ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ «ОКИСЛЕННАЯ
ЦЕЛЛЮЛОЗА» С ОБРАЗЦОМ В КОНТРОЛЕ «СУРГИТАМП»**

**Ославский А.И., Колоцей В.Н., Бычковский П.М., Юркитовч Т.Л.,
Дрепаков Е.Г., Кузич А.А., Юркевич С.В., Глизнуца А.С., Рутко А.А.**

Ославский А.И.

*Кандидат медицинских наук, старший преподаватель 2-й кафедры
хирургических болезней УО «Гродненский государственный медицинский уни-
верситет»,*

*г. Гродно, Беларусь
oslawski.a@mail.ru*

Колоцей В.Н.

*Заведующий 2-й кафедрой хирургических болезней УО «Гродненский государ-
ственный медицинский университет», доцент,*

*г. Гродно, Беларусь
hi2@grsmu.by*

Бычковский П.М.

*Кандидат химических наук, доцент, главный специалист по научной
и научно-инновационной деятельности ООО «ЖивицаФарм»*

bychkovsky@tyt.by

Юркитовч Т.Л.

*Кандидат химических наук, доцент, заведующий лабораторией химии полисаха-
ридов Учреждения Белорусского государственного университета*

*«Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем» (НИИ ФХП БГУ),*

yurksht@gmail.com

Дрепаков Е.Г.

*Начальник производственного сектора научно-производственного центра фар-
мацевтической деятельности Учебно-научно-производственное республикан-
ское унитарное предприятие «УНИТЕХПРОМ БГУ»*

drepakov.evgeniy@mail.ru

Кузич А.А.

*Научный сотрудник, магистр наук, Учебно-научно-производственное респуб-
ликанское унитарное предприятие «УНИТЕХПРОМ БГУ»*

an-kuzich@mail.ru

Юркевич С.В.

*Заместитель главного врача Учреждения здравоохранения «Городская клиниче-
ская больница скорой медицинской помощи г. Гродно», *mail@bsmprogdno.by**

Глизнуца А.С.

*Студент педиатрического факультета УО «Гродненский государственный
медицинский университет»,*

*г. Гродно, Беларусь
hannagliznutsa@gmail.com*

Рутко А.А.

Студент педиатрического факультета УО «Гродненский государственный
медицинский университет»,
г. Гродно, Беларусь
Linatop2002@mail.ru

Аннотация. Изучены различия в скорости и выраженности гемостатических свойств изделий медицинского назначения «Окисленная целлюлоза» с образцом в контроле «Сургитамп», в ранах печени экспериментальных животных (крыс), а также исследована полнота биodeградируемости вышеперечисленных изделий медицинского назначения на 7-е, 14-е и 21-е сутки после создания ран печени экспериментальным животным путем изучения гистологических микропрепаратов.

Ключевые слова: крысы, «окисленная целлюлоза», «Сургитамп», биodeградируемость, гемостатические свойства.

EXPERIMENTAL STUDIES OF THE HEMOSTATIC PROPERTIES AND BIODEGRADABILITY OF OXIDIZED CELLULOSE MEDICAL DEVICES WITH THE SURGITAMP CONTROL SAMPLE

A. I. Aslauski

Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer, 2nd Department
of Surgical Diseases, Grodno State Medical University, Grodno, Belarus
oslawski.a@mail.ru

V. N. Kolotsey,

Head of the 2nd Department of Surgical Diseases, Grodno State Medical Uni-
versity, Associate Professor, Grodno, Belarus
hi2@grsmu.by

Bychkovsky P. M.

PhD (Chemistry), Associate Professor, Chief Specialist for Research and Inno-
vation, ZhivitsaPharm LLC,
bychkovsky@tyt.by

T. L. Yurkshtovch

PhD (Chemistry), Associate Professor, Head of the Polysaccharide Chemistry
Laboratory, Research Institute for Physical and Chemical Problems,
Belarusian State University,
yurksht@gmail.com

E. G. Drepaikov

Head of the Production Sector, Research and Production Center for Pharma-
ceutical Activities, Educational, Scientific and Production Republican Unitary Enter-
prise UNITECHPROM BSU
drepaikov.evgeniy@mail.ru

A. A. Kuzich

Researcher, Master of Science, Educational, Scientific, and Production Republican Unitary Enterprise "UNITEKHPROM BSU"
an-kuzich@mail.ru

S. V. Yurkevich

Deputy Chief Physician, Grodno City Clinical Emergency Hospital,
mail@bsmpgrodno.by

A. S. Gliznutsa

Student, Pediatrics Department, Grodno State Medical University,
Grodno, Belarus
hannagliznutsa@gmail.com

A. A. Rutko

Student, Faculty of Pediatrics, Grodno State Medical University,
Grodno, Belarus
Linatop2002@mail.ru

Abstract. *The differences in the rate and severity of hemostatic properties of the medical device "Oxidized cellulose" and the control sample "Surgitamp" were studied in liver wounds of experimental animals (rats). The completeness of biodegradability of these medical devices was also assessed on days 7, 14, and 21 after liver wounds were created in experimental animals by examining histological micropreparations.*

Key words: *rats, "Oxidized cellulose," "Surgitamp," biodegradability, hemostatic properties.*

На сегодняшний день неконтролируемое посттравматическое кровотечение из паренхиматозных органов остается ведущей предотвратимой причиной летальности. Массивное кровотечение – одно из самых опасных осложнений в операции и после нее [1]. Даже при благоприятном исходе кровопотеря ведет к послеоперационным осложнениям, иммуносупрессии (из-за гемотрансфузий), увеличению сроков госпитализации, стоимости лечения и ухудшению отдаленных результатов [2]. Операции на печени особо опасны из-за риска обильных кровотечений, что связано с ее кровоснабжением, отсутствием гладкой мускулатуры и невозможностью вазоконстрикции [2-7]. Поэтому при резекции печени критически важно снижать интраоперационную кровопотерю и потребность в гемотрансфузиях [7]. Существующие технические приемы облегчают гемостаз, однако после пересечения печени остается обширная рана с множеством источников диффузного кровотечения, не всегда поддающихся ушиванию или коагуляции. В таких случаях оправдано применение местных гемостатических средств [6].

Приоритет современной медицины — разработка и внедрение новых местных гемостатиков с адгезивными свойствами, способных закрывать рану, стимулировать коагуляцию и вызывать вазоконстрикцию. Они должны соответствовать требованиям [6]:

1. Быстро и полностью останавливать кровотечение.

2. Не раздражать окружающие ткани и не оказывать вредного системного действия.

3. Не влиять на общий гемостаз.

4. Быть удобными в применении, равномерно закрывать рану и легко удаляться при отсутствии резорбции.

Профилактика и остановка кровотечений критически важны во многих областях медицины (хирургия, гематология, травматология и др.). В связи с этим поиск новых средств местного гемостаза остается, бесспорно, актуальным [6].

Целью нашего исследования было изучение гемостатических свойств и биodeградируемости изделия медицинского назначения «Окисленная целлюлоза» (далее ОТЦ) с образцом в контроле «Сургитамп» (далее – «СУР»), в эксперименте по договору от 12.04.2022 г. № 30-24/125-22 и договору о сотрудничестве от 21.01.2023 г. между Учебно-научно-производственным республиканским унитарным предприятием «УНИТЕХПРОМ БГУ», и учреждением образования «Гродненский государственный медицинский университет».

Задачами нашего исследования было:

1. Установление различия в скорости и выраженности гемостатических свойств изделий медицинского назначения «ОТЦ» с образцом в контроле «СУР» и определить из них материал с наиболее выраженными вышеперечисленными качествами.

2. Изучение скорости биodeградации изделий медицинского назначения, «ОТЦ» с образцом в контроле «СУР», в ранах печени экспериментальных животных (крыс).

3. Исследование полноты биodeградируемости изделий медицинского назначения, «ОТЦ» с образцом в контроле «СУР» на 7-е, 14-е и 21-е сутки после создания ран печени экспериментальным животным путем изучения гистологических микропрепаратов.

Материалами и методами было исследование гемостатических и свойств биodeградируемости изделий медицинского назначения «ОТЦ» с образцом в контроле «СУР» выполнены на 45 крысах. Для исследования использовался дизайн гемостатического действия изделий медицинского назначения, разработанный в УП «УНИТЕХПРОМ БГУ».

Для исследований гемостатических свойств были использованы половозрелые крысы-самцы (таблица 1). Проведены сравнительные исследования гемостатического действия изделий медицинского назначения «ОТЦ» производства УП «Унитехпром БГУ», с образцом в контроле «СУР».

Все крысы были разделены на следующие группы:

1 — крысы, кровотечение из резецированного фрагмента печени которых остановлено применением изделия медицинского назначения «СУР», далее группа «СУР», группа контроля (20 крыс).

2 — крысы, кровотечение из резецированного фрагмента печени которых остановлено применением изделия медицинского назначения «ОТЦ», далее — группа «ОТЦ» (20 крыс);

5 — интактных крыс выведены из эксперимента с целью контроля забора лабораторных показателей.

Для оценки скорости биodeградации изделий медицинского назначения, в ранах печени экспериментальных животных (крыс) из опыта выводились животные путем передозировки тиопентала натрия на 3,7,14 и 21 сутки от начала эксперимента. Оценка проводилась макроскопически.

Для оценки **полноты биodeградации** забирались участки печени крыс, выведенных из опыта на 3,7,14 и 21 сутки от начала эксперимента, фиксировались в фиксирующей среде Буэна (фиксатор для экспериментальных исследований; состав: насыщенный раствор пикриновой кислоты 75мл; нейтральный 40 % формалин 25мл; ледяная уксусная кислота 5мл) и доставлялись в патологоанатомическое отделение, для дальнейшей морфологической верификации. Продолжительность фиксации составила 24 часа, затем образцы отмывались в 70 % спирте от избытка пикриновой кислоты, с последующей заливкой в парафин, изготовлением срезов толщиной 4-6 мкм с окрашиванием гематоксилином и эозином, по Массону и Ван-Гизону.

Вид животного: *Rattus norvegicus* f. *Domesticus*. Линия: беспородные крысы. Пол: самцы. Возраст к исследованию: 4 – 6 месяцев. Вес тела к исследованию: 280 - 300 грамм. Количество животных в каждой группе - 20. Общее количество животных 45. Наркоз: внутрибрюшинное введение тиопентала натрия. После анестезии крысам производили срединную лапаротомию, для наилучшей визуализации и доступа к печени брюшную стенку пересекали поперек на 1 см в каждую сторону от срединного разреза. Проводили гепатопексию проводят путем рассечения серповидной связки печени, между диафрагмой и левой долей печени помещали марлевую турунду, которая оттесняет рану. Затем под левую боковую долю печени подводили стерильную марлевую салфетку с известной массой и выполняли резекцию доли, отступив от ее края 10 мм (размеры резецированного фрагмента 10x10x5 мм). Тестируемые образцы размером 2,0x1,0 см с известной массой накладывали на кровоточащую поверхность. Время остановки кровотечения регистрировали визуально с помощью секундомера.

Массу кровопотери определяли гравиметрическим методом с помощью аналитических весов, по разнице массы крови впитанной салфеткой с известной массой.

Результаты исследования.

При **сравнении времени наступления гемостаза** получены следующие данные: в 1-й группе – у крыс, кровотечение из резецированного фрагмента печени которых остановлено применением изделия медицинского назначения «СУР» время кровотечения составило 73.2 ± 2.3 секунды ($M \pm m$).

У крыс группы «ОТЦ», кровотечение из резецированного фрагмента печени которых остановлено применением изделия медицинского назначения «ОТЦ», время кровотечения составило 104 ± 4.8 секунды ($M \pm m$); Пик кровотечения - во 2-й группе ($p < 0,05$), спад – в 1-й.

При сравнении **времени кровотечения** в группах, установлено, что все исследованные материалы соответствуют стандарту ISO-10993-4-2020 времени кровотечения, и не превышают 4 минут). Также установлено, что нетканые материалы превосходят по скорости остановки кровотечения тканевые изделия медицинского назначения ($p < 0,05$).

При сравнении **объема кровопотери** получены следующие данные:

В группе «СУР» - объем кровопотери был равен $1388,7 \pm 66,7$ мг, в группе «ОТЦ» - 992 (910;1030) мг, ($p < 0,05$).

При макроскопической оценке биodeградации исследуемых материалов установлено, полное отсутствие их в макропрепаратах на 21 сутки исследования.

Полноту биodeградируемости изделий оценили микроскопическим методом - морфологически, для этого были выбраны интервалы на 3 сутки, 7 сутки, 14 сутки, 21 сутки:

В 1-й группе – «СУР» на ранние сутки материал представлен крупными частицами толщиной 35-85 мкм. Визуализировался на протяжении всего периода наблюдения без тенденции к фрагментации и деградации, окруженный фиброцеллюлярной капсулой. Гематома также оставалась без тенденции к организации, к 14-ым суткам нарастала гранулематозная воспалительная реакция с зоной некроза гепатоцитов в отдельных полях зрения на месте приложения материала, в центре гематомы образовывались микроабсцессы. К 21-ым суткам началась медленная фрагментация материала с частичной деградацией.

Во 2-й группе – «ОТЦ» на третьи, седьмые сутки материал представлен мелкими нитями сетчатого вида, меньше 5 мкм. На 14 сутки материал не визуализируется, что показывает высокую скорость биodeградации. К 21-ым суткам гематома рассосалась более чем на 90 %, из-за высокой скорости деградации материала отсутствовала бурная сосудисто-мезенхимальная реакция, которая наблюдалась в другой исследуемой группе. На дополнительных наблюдениях, проведенных на 28 сутки, наблюдалось 100%-ная организация гематомы.

Также проводилась сравнительная оценка между группами во временном интервале: На 3-и сутки признаки частичной биodeградации наблюдались – «ОТЦ» и без признаков деградации в группе «СУР». На 7-ые сутки наилучшая скорость биodeградации наблюдалась – «ОТЦ», без тенденции к деградации в контрольной группе 1 «СУР». На 14 сутки в группе 2 «ОТЦ» полностью произошла биodeградация материала, единичные обрывки материала и с фрагментацией материала в контрольной группе 1 «СУР». Во всех исследуемых образцах наблюдалась сосудисто-мезенхимальная реакция разной выраженности: гранулематозная воспалительная реакция на инородное тело, которая на прямую была связана с размером частиц. Прямая связь между биodeградацией материала и организацией гематомы не было выявлено, тем не менее в исследуемой группе «ОТЦ» мы наблюдали, не только высокую скорость деградации, но и организации гематомы. Наибольшая скорость биodeградации наблюдается в исследуемой группе № 2 «ОТЦ», наименьшая в группе «СУР». На 21 сутки биodeградация материала была 100 % во всех группах, кроме 1-й группы – «СУР».

Были сделаны следующие выводы.

Изучены различия в скорости и выраженности гемостатических свойств изделий медицинского назначения «Окисленная целлюлоза» с образцом в контроле «Сургитамп» в ранах печени экспериментальных животных (крыс), а также исследована полнота биodeградируемости вышеперечисленных изделий медицинского назначения на 7-е, 14-е и 21-е сутки после создания ран печени экспериментальным животным путем изучения гистологических микропрепаратов.

Список литературы

1. World Health Organization. Cause-specific mortality and morbidity. 2009. URL: http://www.who.int/whosis/whostat/EN_WHS09_Table2.pdf. Accessed 30 Jan 2015.
2. Kooby D, Stockman J, Ben-Porat L et al. Influence of transfusions on perioperative and long-term outcome in patients following hepatic resection for colorectal metastases. *Ann Surg* 2003; 237: 860–70.
3. Capussotti L, Ferrero A, Vigano L et al. Bile leakage and liver resection. Where is the risk? *Arch Surg* 2006; 141: 690–4.
4. Патютко Ю.И., Пылев А. Л., Сагайдак И.В., Котельников А.Г. Расширенные резекции печени при злокачественных опухолях. *Хирургия*. 2009; 2: 16–21.
5. Boonstra EA, Molenaar IQ, Porte RJ, de Boer MT. Topical haemostatic agents in liver surgery: do we need them? *HPB* 2009; 11: 306–10. 13. Berrevoet F, de Hemptinne B. Use of topical hemostatic agents during liver resection. *Dig Surg* 2007; 24: 288–93.
6. Гемостатические средства местного действия (обзор) / Г.Г. Белозерская [и др.] // *Хим-фарм. журн.* – 2006. – № 7. – С. 9–15.
7. Nakajima Y, Shimamura T, Kamiyama T et al. Control of intraoperative bleeding during liver resection: analysis of a questionnaire sent to 231 Japanese hospitals. *Surg Today* 2002; 32 (1): 48–52.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФЕРРОКИНЕТИКИ И АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ПРИ ДЕФИЦИТЕ ЖЕЛЕЗА

Пашкова О.Л., Кабаева Е.Н., Гармаза Ю.М.

Пашкова О.Л.

*Старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии антител и цитокинов государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»,
г. Минск, Республика Беларусь
pashkova@blood.by*

Кабаева Е.Н.

*Кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической гематологии и трансфузиологии государственного УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь
kate_kabaeva@mail.ru*

Гармаза Ю.М.

*кандидат биологических наук, доцент,
Ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии антител и цитокинов государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»,
г. Минск, Республика Беларусь
garmaza@yandex.com*

Понимание патогенетических механизмов развития анемий различного генеза является краеугольным камнем для разработки эффективных стратегий диагностики и лечения. Однако, традиционные методы оценки часто не в полной мере отражают сложность происходящих в организме процессов. Представленные в данной статье результаты комплексного исследования основных биомаркеров феррокинетики и антиоксидантного статуса впервые демонстрируют значимость именно сочетанного анализа данных показателей в углубленном понимании патогенетических механизмов анемического процесса. Выявленная взаимосвязь между феррокинетикой, антиоксидантным статусом и степенью повреждения тканей подтверждает необходимость внедрения подобных комплексных оценок для более точного определения генеза и тяжести анемий, что, в свою очередь, критически важно для персонализированной терапии.

Ключевые слова: растворимый рецептор трансферрина; ферритин; общая антиоксидантная активность; метаболизм железа; железodefицитная анемия; анемия хронических заболеваний; анемия неуточненная

A STUDY OF FERROKINETICS AND ANTIOXIDANT STATUS INDICATORS IN IRON DEFICIENCY

Pashkova O.L.

Senior Researcher of the Laboratory of Biotechnology of Antibodies and Cytokines of the State Institution «Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies», Minsk, Republic of Belarus
pashkova@blood.by

Cabaeva E.N.

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Clinical Hematology and Transfusiology of the State Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Republic of Belarus
kate_kabaeva@mail.ru

Harmaza Y.M.

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher of the Laboratory of Biotechnology of Antibodies and Cytokines of the State Institution «Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies», Minsk, Republic of Belarus
garmaza@yandex.com

Understanding the pathogenetic mechanisms underlying the development of anemias of various origins is a cornerstone for developing effective diagnostic and treatment strategies. However, traditional assessment methods often fail to fully capture the complexity of the processes occurring in the body. The results of a comprehensive study of key biomarkers of ferrokinetics and antioxidant status presented in this article demonstrate for the first time the importance of a combined analysis of these parameters for a deeper understanding of the pathogenetic mechanisms of anemia. The identified relationship between ferrokinetics, antioxidant status, and the degree of tissue damage confirms the need for such comprehensive assessments to more accurately determine the genesis and severity of anemia, which, in turn, is critical for personalized therapy.

Key words: *soluble transferrin receptor; ferritin; total antioxidant activity; iron metabolism; iron deficiency anemia; anemia of chronic diseases; anemia of unspecified origin.*

Актуальность. Дефицит железа – это не просто низкий гемоглобин, это системный сбой метаболизма, который лишает человека энергии на клеточном уровне. Это “тихий” процесс, проходящий через три стадии развития, постепенно подрывая работу всех систем организма. Постановка диагноза анемия также может быть осложнена наличием у пациентов сопутствующих патологий, таких как воспалительные и аутоиммунные заболевания, злокачественные новообразования или инфекции (острые или хронические) [1]. И довольно часто анемия, возникающая в этих условиях, может являться как причиной, так и осложнением основного заболевания, создавая “порочный круг”.

Биохимическим тестом первого уровня для диагностики анемии является определение концентрации ферритина в сыворотке крови, который отражает запасы железа в организме. Дополнительным биомаркером, на который не влияет одновременное наличие хронического заболевания и воспаления и, следовательно, способным идентифицировать анемию, является растворимый рецептор трансферрина (sTfR), который, в первую очередь, экспрессируется на поверхности клеток (в 80 % случаев на эритроцитах), нуждающихся в железе [2,3].

При любом виде анемии страдает основная кислородтранспортная функция эритроцитов, в результате чего нарушаются окислительные процессы в организме и развивается гипоксия. Гипоксия – это типовой патологический процесс, характеризующийся кислородной недостаточностью в тканях с развитием патологических и защитно-компенсаторных реакций [4]. Гипоксия и воспаление являются взаимосвязанными патологическими процессами. Активный воспалительный процесс потребляет большое количество кислорода. Анемия любого генеза вызывает тканевую гипоксию, что в свою очередь запускает адаптивные механизмы [5]. Эритроциты, играют жизненно важную роль в адаптации к гипоксии; они могут поглощать кислород в легких и транспортировать его в ткани с низким содержанием кислорода, тем самым поддерживая функции тканей и выживаемость [6].

Целью нашего исследования явилось проведение комплексного исследования показателей феррокинетики и антиоксидантного статуса и изучение взаимосвязи между дефицитом железа и изменениями общей антиоксидантной активности плазмы крови у пациентов с анемиями различной этиологии для оценки адаптационного резерва организма.

Материалы и методы исследования. В работе использовалась периферическая кровь практически здоровых доноров (n=15), полученная в ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» (группа сравнения). Периферическая кровь пациентов с диагнозом (группы исследования): 1) анемия хронических заболеваний (АХЗ, D63) (n=15); 2) железодефицитная анемия (ЖДА, D50) (n=15); 3) анемия неуточненная (АН, D64.9) (n=15) была предоставлена отделениями гематологии №1, 2 и 4 ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».

Предмет исследования: общая антиоксидантная активность плазмы крови (ОАА), концентрация ферритина, растворимого рецептора трансферрина (sTfR), ферритиновый индекс (sTfR/log ферритина).

Методы исследования:

- оценка концентрации ферритина в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью коммерческого набора реагентов фирмы «Вектор-Бест», РФ. Измерение концентрации sTfR – с помощью ИФА-набора собственного производства «Растворимый рецептор трансферрина – ИФА» (РНПЦ ТМБ, РБ);

- определение общей антиоксидантной активности плазмы периферической крови проводили с помощью метода «тролокс-эквивалент антиоксидантной активности», основанный на модельной системе «миоглобин-пероксид водорода-

(2,2'-азино-бис-(3-этилбензтиозолин-6-сульфоукислоты) диаммониевая соль)-тролокс».

Измерение оптической плотности проводили на планшеточном спектрофотометре Sunrise Micro Plate Reader Standart («TECAN», Швейцария).

Результаты экспериментов анализировали методом вариационной статистики с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,001$ в программе STATISTICA 8.0.

Результаты и обсуждение. В таблице 1 представлены результаты определения маркеров феррокинетики и гипоксии в периферической крови доноров и пациентов с анемиями различного генеза.

Показано, что при ЖДА наблюдается достоверное снижение уровня ферритина – белка, отражающего запасы железа в депо (гепатоциты, макрофаги, сидеробласты). Уровень ферритина падает первым на стадии латентного дефицита железа еще до снижения гемоглобина. При этом минимальные значения концентрации данного белка в сыворотке крови лиц с железодефицитной анемией находились в диапазоне 5-6 нг/мл. Оценка концентрации sTfR в исследуемой группе выявила, что в плазме крови пациентов с ЖДА растет, поскольку в условиях, когда уровень железа в клетке падает, она начинает синтезировать и экспрессировать на своей поверхности больше рецепторов, чтобы «поймать» больше молекул Fe^{3+} , отражая тем самым степень «клеточного голода». Расчет ферритинового индекса по этим двум показателям позволяет оценить содержание железа в организме в широком диапазоне нормальных и истощенных запасов железа. В нашем случае в группу пациентов с ЖДА включены лица, у которых индекс sTfR/log ферритина был выше 2,5.

При АХЗ концентрация ферритина осталась на уровне нормы, поскольку это белок острой фазы воспаления и не всегда отражает реальный дефицит железа, которое остается запертым в клетке и недоступным для синтеза гема. Выход Fe из депо блокирует выработка под действием воспалительных цитокинов (особенно интерлейкина-6) гепсидина. Железо остается внутри клеток в виде ферритина, его уровень растет в крови, создавая ложное впечатление избытка, в то время, когда эритроциты «голодают». sTfR также не изменился, остался в норме, поскольку синтез рецепторов резко не увеличивается либо тормозится самим воспалительным процессом. Эти результаты могут опосредованно свидетельствовать о наличии странной зависимости экспрессии TfR от содержания накопленного железа в теле человека: уровень sTfR резко возрастет только в тех случаях, когда резервы микроэлемента не кончатся полностью. Расчет sTfR/log ферритина индекса (низкий, < 1) подтвердил диагноз АХЗ.

При изучении содержания ферритина в сыворотке крови лиц с АН было установлено, что он находился в диапазоне 290,02-862,40 нг/мл. Стоит отметить, что у 13 из 15 пациентов, находящихся в выборке для исследования, наблюдалась умеренная гиперферритинемия. Оценка концентрации sTfR в плазме крови пациентов с неуточненной формой анемии установила значения в пределах нормы. Расчет ферритинового индекса составил в среднем 0,531 [1,561;0,294], что ниже физиологических значений и может свидетельствовать об избытке доступного железа.

Таблица 1

Показатели феррокинетики и гипоксии в исследуемых группах

	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %	Ферритин, нг/мл	sTfR, мг/л	Феррити-но- вый индекс (sTfR/log ferritin)	ОАА, мМ/л
пациенты с ЖДА (n=15)	80,45±9,05***	24,14±2,72***	24,22±6,74***	3,55±0,77 *	2,92±1,67***	0,18±0,09***
пациенты с АХЗ (n=16)	84,17±3,73***	23,45±6,83***	127,46±96,64***	1,49±0,53	0,79±0,31	0,58±0,13*
пациенты с АН (n=15)	84,31±1,93***	28,10±0,79***	651,39±49,44***	1,45±0,21	0,53±0,09*	0,55±0,06*
доноры (n=15)	152,87±1,66	45,72±0,48	45,86±13,13	1,82±0,19	0,80±0,09	0,34±0,10
Норма	мужчины 130-170 женщины 120-150	мужчины 39-50 женщины 35-45	мужчины 20-350 женщины 10-150	0,76-1,76	0,8-2,2	-

Примечание: 1. Значения показателей приводятся как $\bar{X}_{\text{ср.}} \pm \text{SD}$;

2. Критический уровень статистической значимости между показателями у доноров и пациентов с анемией неутонченной по критерию U-критерия Манна-Уитни: * - $p < 0,05$; *** - $p < 0,001$.

Известно, что живые организмы имеют развитую антиоксидантную сеть, которая противостоит действию активных форм кислорода, при этом плазма крови является сложной химической системой в отношении антиоксидантной активности. Неферментативные антиоксиданты, такие как альбумин, α -токоферол, аскорбиновая кислота, мочевая кислота, глутатион, билирубин и флавоноиды формируют сеть плазменных антиоксидантов, изучение которых необходимо для оценки антиоксидантного статуса организма человека *in vivo* [6], а также может быть важным показателем при мониторинге клинического статуса пациента и являться полезной мерой для решения вопроса о необходимости применения антиоксидантных препаратов. По этой причине в последнее десятилетие предложены самые разнообразные методы интегральной оценки общей антиоксидантной активности биологических жидкостей, но так как наиболее удачным считается метод «тролокс-эквивалент антиоксидантной активности» (ТЭАА), основанный на модельной системе «метмиоглобин– H_2O_2 –АБТС–тролокс» [6], в данной работе нами проведена оценка ОАА плазмы крови у обследованных групп доноров и пациентов. Как видно из таблицы 1, у пациентов АХЗ наблюдается достоверное ($p < 0,001$) увеличение ОАА плазмы крови в среднем на 50-80 %, которое составило в ТЭАА $0,58 \pm 0,13$ мМ/л относительно $0,34 \pm 0,10$ мМ/л в группе доноров. Данный факт можно объяснить адаптацией организма к хроническому воспалению: при системном воспалительном процессе повышается концентрация определенных белков и молекул (церрулоплазмин, билирубин, мочевая кислота), обладающих антиоксидантными свойствами, а также гиперферритинемией, при которой снижается количество «свободного» железа в плазме, и тем самым уменьшается интенсивность перекисного окисления липидов, что может отражаться как рост ОАА. Происходит развитие компенсаторной реакции организма на хронический стресс. При этом, у пациентов с ЖДА наблюдается достоверное

снижение ОАА плазмы крови в среднем на 80-100 %, которое составило в ТЭАА $0,18 \pm 0,09$ мМ/л относительно группы доноров. Дефицит железа приводит к дефициту антиоксидантных ферментов (например, каталазы), активно расходуются низкомолекулярные антиоксиданты, что отражается на суммарном показателе ОАА. У пациентов с АН наблюдается также достоверное увеличение ОАА плазмы крови в среднем в 1,55 раза, которое составило в ТЭАА $0,55 \pm 0,06$ мМ/л относительно группы доноров ($p=0,057$), что показывает общее состояние компенсации при скрытом воспалительном процессе. Данный показатель позволяет перевести анемию из неуточненной в анемию хронических заболеваний.

Проведенный корреляционный анализ между параметрами обмена железа и редокс-баланса плазмы крови у доноров и пациентов с АХЗ выявил статистически достоверную обратную взаимосвязь между концентрацией ферритина и уровнем ОАА в плазме крови доноров ($R_s = -0,56$, $p=0,048$), в то время как в группе пациентов была выявлена положительная статистически достоверная корреляция ($R_s = 0,66$, $p=0,038$). Объяснением этого результата может явиться тот факт, что, несмотря на то, что уровень ферритина в обеих группах находится в пределах нормальных значений, пациенты с анемическими состояниями характеризуются сниженной концентрацией гемоглобина в эритроцитах и измененными параметрами МСНС (средняя концентрация гемоглобина в одном эритроците) и МСV (средний объем эритроцита), что имеет непосредственную связь с нарушенной функцией транспорта кислорода и активацией окислительных процессов в клетке [4]. А повышение ОАА плазмы в группе пациентов с АХЗ – это лишь результат адаптативных реакций организма на развивающийся окислительный стресс, который помогает поддерживать баланс оксиданты–прооксиданты, а также рН крови.

В свою очередь, корреляционный анализ между концентрацией растворимого рецептора трансферрина в плазме крови и общей антиоксидантной активностью, как в случае группы доноров ($R_s = -0,7$, $p=0,012$), так и в случае группы пациентов с АХЗ ($R_s = -0,84$, $p=0,00064$) выявил достоверную обратную корреляцию. Корреляционный анализ между концентрациями ферритина и низкомолекулярных антиоксидантов в плазме пациентов с ЖДА ($R_s = 0,348$, $p=0,243$), так и между концентрациями растворимого рецептора трансферрина и низкомолекулярными антиоксидантами ($R_s = -0,104$, $p=0,700$) не выявил статистически значимых корреляций. Эти результаты могут опосредованно подтверждать тот факт, что истинный дефицит железа влияет на синтез не только классических Fe^{2+} -зависимых белков (ферритин и трансферрин), но и на синтез других Fe^{2+} -содержащих белков, таких как цитохромы, миоглобин, каталаза и пероксидаза [5].

Проведенный корреляционный анализ как между концентрациями ферритина и низкомолекулярных антиоксидантов в плазме крови пациентов с анемией неуточненной, так и между концентрациями растворимого рецептора трансферрина и низкомолекулярными антиоксидантами не выявил статистически значимых корреляций.

Заключение. Таким образом, в ходе выполнения исследования были получены следующие фундаментальные результаты:

– полученный в ходе исследования комплекс изменений концентрации ферритина и растворимого рецептора трансферрина, ферритинового индекса и ОАА при железодефицитной анемии является классическим патогенетическим профилем истинного дефицита железа и свидетельствует о глубоком системном нарушении гомеостаза Fe. Обнаруженное 2-кратное снижение содержания низкомолекулярных антиоксидантов в плазме крови пациентов с ЖДА является следствием смещения баланса «окислитель-восстановитель» в пользу первого, что свидетельствует о несостоятельности защитных систем организма и о вкладе свободнорадикальных процессов в этиопатогенез ЖДА.

– оценка концентрации ферритина и sTfR в крови пациентов с АХЗ выявила, что для данной группы исследования характерна функциональная блокада железа, при которой сохранение нормальных показателей обмена железа сочетается с активацией системной антиоксидантной защиты.

– оценка комплекса исследуемых показателей в крови пациентов с анемией неуточненной позволяет уточнить диагноз анемии и перевести из ранга «неуточненной» в АХЗ или ЖДА в зависимости от значения ферритинового индекса.

– установлено, что сочетанное изучение ферритина, sTfR, sTfR/log ферритина индекса и ОАА позволяет сформировать уникальный метаболический профиль для каждого типа анемии, что важно для дифференциальной диагностики и корректировки проводимой терапии.

Список литературы

1. Haas, J.D. Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship / J.D. Haas, T. Brownlie // J. Nutr. – 2001. – Vol. 131, № 2S-2. – P. 676S-688S.
2. Coyer, S.M. Anemia: diagnosis and management / S.M. Coyer // J. Pediatr. Health Care. – 2005. – Vol. 19, № 6. – P. 380-385.
3. The Role of iron regulation in immunometabolism and immune-related disease / S.J. Cronin [et al.] // Front. Mol. Biosci. – 2019. – Vol. 6. – P. 116.
4. Red blood cell function and dysfunction: redox regulation, nitric oxide metabolism: anemia / V. Kuhn [et al.] // Antioxid. Redox. Signal. – 2017. – Vol. 26, №13. – P. 718-742.
5. Hypoxic storage of red blood cells improves metabolism and post-transfusion recovery / A. D'Alessandro [et al.] // Transfusion. – 2020. – Vol. 9999. – P.1-13.
6. Lovasova, E. Total antioxidant status – a possible marker of environmental influences on animal organisms / E. Lovasova, E. Sesztakova // Slovak J. Anim. Sci. – 2009. – Vol. 42, Suppl. 1. – P. 42-45.
7. Anaemia and antioxidant defence of the red blood cells / A. Kumerova [et al.] // Mater. Med. Pol. – 1998. – Vol. 30. – P. 12-15.

БИОАКТИВНЫЕ АЗОЛИПИРИДИНЫ И МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСЫ С ИЗОТИАЗОЛЬНЫМИ И ПИРИДИНОВЫМИ ЛИГАНДАМИ

Поткин В.И., Колесник И.А., Акишина Е.А., Хадарович А.А., Дубойская А.В.

Поткин В.И.

*Доктор химических наук, профессор, академик НАН Беларуси,
заведующий лабораторией химии гетероциклических соединений
Института физико-органической химии НАН Беларуси,
г.Минск, Беларусь
potkin@ifoch.bas-net.by*

Колесник И.А.

*Кандидат химических наук, старший научный сотрудник
лаборатории химии гетероциклических соединений
Института физико-органической химии НАН Беларуси,
г.Минск, Беларусь
irynakolesnik93@gmail.com*

Акишина Е.А.

*Научный сотрудник лаборатории химии гетероциклических соединений
Института физико-органической химии НАН Беларуси,
г.Минск, Беларусь
akishinaea@ifoch.bas-net.by*

Хадарович А.А.

*Младший научный сотрудник лаборатории химии гетероциклических соедине-
ний Института физико-органической химии НАН Беларуси,
г.Минск, Беларусь
artem.hadarovich@gmail.com*

Дубойская А.В.

*Студентка Химического факультета
Белорусского государственного университета
anastasiadubojaska4@gmail.com*

Разработаны эффективные подходы к синтезу функционализированных производных пиридина, в которых пиридиновый фрагмент связан с изоксазольным, изотиазольным или оксадиазольным гетероциклами. Получены комплексы меди (II) с дихлоризотиазол-3-карбоновой кислотой и N-донорными лигандами, содержащими пиридиновый гетероцикл. В ряду синтезированных веществ выявлены представители с высокой противоопухолевой активностью. Для оксадиазолилпиридинов выполнен молекулярный докинг и определены сайты связывания с белковыми мишенями.

Ключевые слова: пиридины; изоксазолы; изотиазолы; оксадиазолы; противоопухолевая активность; молекулярный докинг.

BIOACTIVE AZOLYL PYRIDINES AND METAL COMPLEXES WITH ISOTHIAZOLE AND PYRIDINE LIGANDS

Potkin V.I.

Doctor of Sciences (Chemistry), Professor, Academician of the National Academy of Sciences of Belarus, Head of the Laboratory of Chemistry of Heterocyclic Compounds Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
potkin@ifoch.bas-net.by

Kolesnik I.A.

*PhD (Chemistry), Senior Researcher
Laboratory of Chemistry of Heterocyclic Compounds
Institute of Physical Organic Chemistry of
the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*
irynakolesnik93@gmail.com

Akishina E.A.

Researcher, Laboratory of Heterocyclic Chemistry Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
akishinaea@ifoch.bas-net.by

Khadarovich A.A.

Junior Researcher, Laboratory of Heterocyclic Chemistry, Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
artem.hadarovich@gmail.com

Duboisakaya A.

*Student of the Chemical Department
Belarusian State University*
anastasiaduboisakaa4@gmail.com

Efficient approaches to the synthesis of functionalized pyridine derivatives with pyridine moiety linked to isoxazole, isothiazole, or oxadiazole heterocycles have been developed. Copper(II) complexes with dichloroisothiazole-3-carboxylic acid and N-donor ligands containing a pyridine heterocycle were obtained. Among the synthesized compounds, representatives with high antitumor activity were identified. Molecular docking was performed for oxadiazolylpyridines, and their binding sites with protein targets were identified.

Key words: *pyridines; isoxazoles; isothiazoles; oxadiazoles; antitumor activity; molecular docking.*

Гетероциклические соединения составляют самую многочисленную группу среди медицинских субстанций. В их ряду широко представлены производные пиридина, а также азолов (изоксазолов, изотиазолов, оксадиазолов и др.), которые являются привилегированными скаффолдами для конструирования биологически активных молекул. Пиридиновый, изоксазольный, изотиазольный и оксадиазольный гетероциклы входят в структуры молекул аналептических, анти-

гистаминных, антигипертензивных, антибактериальных, антиоксидантных, антистрессовых, иммуномодулирующих, противовирусных и противоопухолевых средств [1-3]. Примерами являются антибиотики сульфаметоксазол, сульфизоксазол, оксациллин, противовоспалительные препараты валдекоксиб и лефлуномид, антипсихотики палиперидон, зипразидон, пероспирон и другие. Функциональное окружение гетероцикла имеет большое значение в регулировании биологической активности вещества, поэтому одной из стратегий в разработке новых лекарственных средств, является целенаправленное формирование экзофункциональности гетероциклических молекул с использованием как данных биоскрининга, так и компьютерного моделирования для установления связи структура – активность.

За последние годы разработано большое количество новых фармацевтических препаратов, однако к ряду медицинских субстанций, используемых в клинической практике, развивается множественная лекарственная устойчивость, и обнаруживаются побочные эффекты, сопровождающие их применение. Комбинация двух или более фармакофоров в одной молекуле стала многообещающей стратегией в исследованиях по созданию лекарственных средств. Гибридные противоопухолевые препараты представляют большой терапевтический интерес, поскольку они действуют на разные мишени и потенциально могут преодолеть большинство фармакокинетических недостатков, с которыми сталкиваются обычные терапевтические препараты.

Целью наших работ является синтез функционализированных азагетероциклических соединений, содержащих в одной молекуле фармакофорные пиридиновый и азольный гетероциклы, каждый из которых характеризуется высоким потенциалом биологического действия. Нами разработаны удобные эффективные подходы к конструированию азольных гетероциклов на основе доступного трихлорэтилена. Маршрут синтеза включает несколько легко масштабируемых последовательных стадий, не требующих особых условий и труднодоступных дорогих реактивов (схема 1).

В случае изоксазола это радикальная дегидродимеризация трихлорэтилена, алкоголиз димера с получением трихлорбутеновой кислоты, ацилирование арен-ов ее хлорангидридом по Фриделю-Крафтсу и гетероциклизация в изоксазольную систему по реакции с гидросиламином, приводящая к 5-арилизоксазолу с оксимной группой в положении 3 (путь А, схема 1). Конструирование изотиазольного гетероцикла включает дегидрохлорирование димера трихлорэтилена, нитрование образующегося 2*H*-пентахлорбутадиена и последующую высокотемпературную гетероциклизацию 2-нитропентахлор-1,3-бутадиена под действием элементарной серы с образованием 4,5-дихлор-3-трихлорметилизотиазола (путь В, схема 1). Дальнейший синтез целевых производных изоксазолов и изотиазолов, в том числе, их конъюгатов с пиридинами и оксадиазолами включал реакции с участием реакционноспособных экзоциклических заместителей.

Одним из наиболее распространенных подходов к формированию дигидропиридинового цикла является реакция Ганча, которая в классическом виде представляет собой конденсацию альдегидов и β -дикарбонильных соединений в присутствии аммиака или аммонийных солей. Изоксазоллил-3-карбальдегиды

получали трансформацией оксимной группы в положении 3 изоксазольного гетероцикла под действием 20%-ной серной кислоты в присутствии параформа. 4,5-Дихлоризотиазол-3-карбальдегид получали трансформацией трихлорметильной группы 3-трихлорметилдихлоризотиазола путем первоначального гидролиза в карбоксильную, с последующим косстановлением диметилсульфидным комплексом борана и окислением образующегося спирта диоксидом марганца.

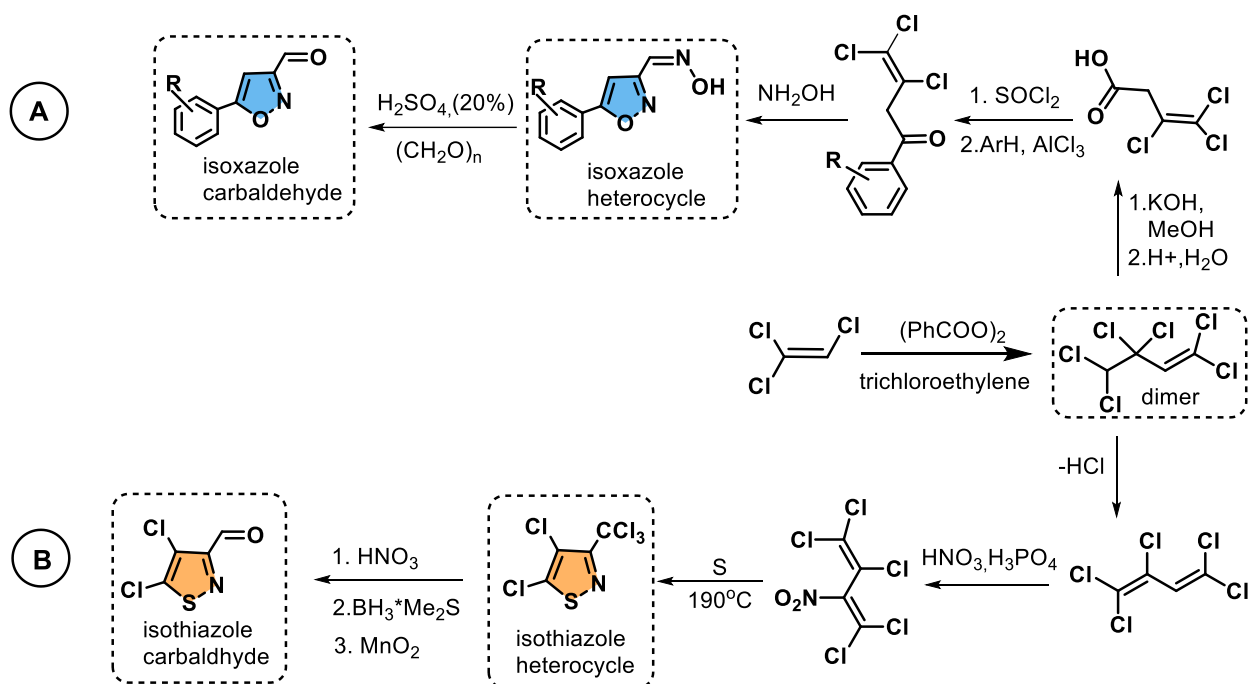


Схема 1

Конденсация 5-арилизоксазолил- и 4,5-дихлоризотиазо-3-карбальдегидов с ацетилацетоном (или ацетоуксусным эфиром) и ацетатом аммония в соотношении 5 : 11 : 11 в этаноле приводила к образованию симметрично замещенных производных 4-азолил-1,4-дигидропиридина. Синтез несимметрично замещенных 4-азолил-1,4-дигидропиридинов проводили в две стадии. Вначале по реакции Кневенагеля осуществляли конденсацию азолил-3-карбальдегидов с ацетилацетоном или ацетоуксусным эфиром, в результате которой получали соответствующие β -дикарбонильные конъюгаты. В случае ацетоуксусного эфира реакцию предпочтительнее проводить в изопропанол, а конденсацию с ацетилацетоном – в трет-бутаноле (схема 2).

Взаимодействием полученных β -дикарбонильных конъюгатов с 3-этиламино-критоноатом были синтезированы 3,5-несимметрично замещенные 4-азолилдигидропиридины. Окисление дигидропиридинов нитритом натрия приводило к соответствующим полизамещенным 4-азолилпиридинам (схема 2).

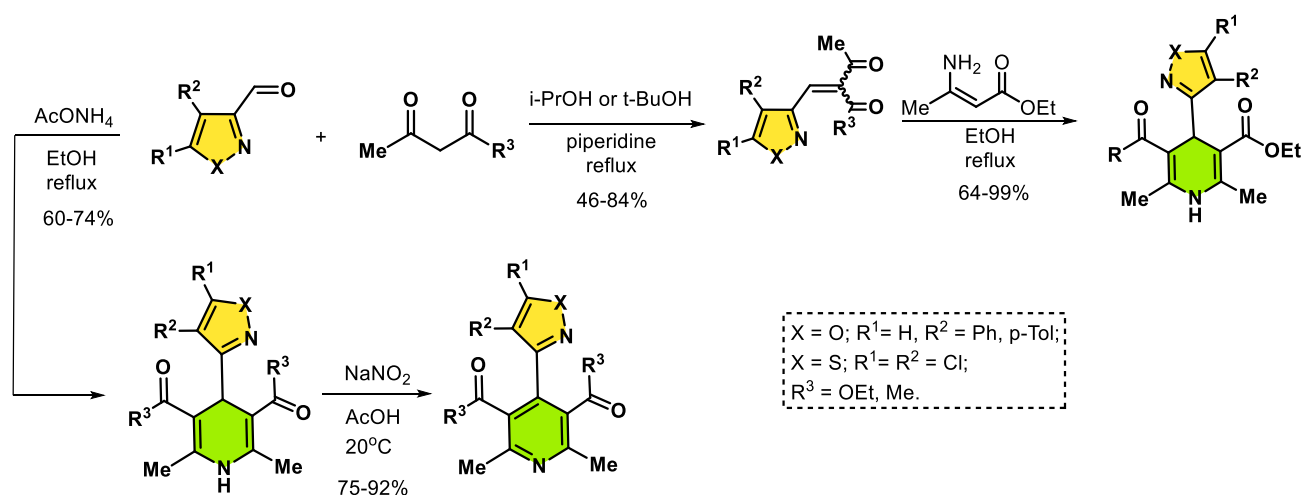


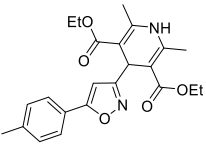
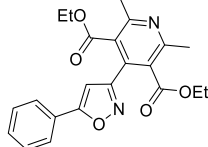
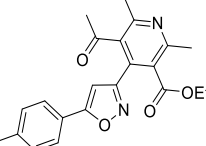
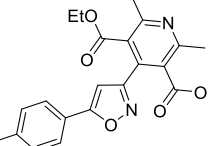
Схема 2

Десять представителей синтезированных производных 4-(5-арилизоксазол-3-ил)-пиридинов и 1,4-дигидропиридинов прошли биотестирование на клеточных линиях меланомы SK-MEL-28, карциномы легких NCI-H460, аденокарциномы DU-145 и HS-5. Оценивали *in vitro* % гибели клеток через 72 ч (Таблица 1). Оказалось, что все вещества обладают высоким цитотоксическим действием. Трансформация дигидропиридинового гетероцикла в пиридиновый, как и замена фенильного фрагмента на *n*-толильный, как правило, приводила к снижению цитотоксической активности. Вместе с тем, приведенных данных недостаточно, чтобы заявлять об установлении взаимосвязи структура-активность. Можно лишь утверждать, что полученные соединения представляют интерес для дальнейшего исследования в качестве перспективных противоопухолевых субстанций.

Таблица 1

Результаты испытаний противоопухолевой активности производных 4-(5-арилизоксазол-3-ил)-пиридинов и 1,4-дигидропиридинов

Структура	Клеточная линия	% гибели клеток	Структура	Клеточная линия	% гибели клеток
	SK-MEL-28	100		SK-MEL-28	100
	NCI-H460	100		NCI-H460	95
	DU-145	100		DU-145	100
	HS-5	100		HS-5	100
	SK-MEL-28	98		SK-MEL-28	82
	NCI-H460	100		NCI-H460	100
	DU-145	93		DU-145	86
	HS-5	100		HS-5	100
	SK-MEL-28	72		SK-MEL-28	79
	NCI-H460	86		NCI-H460	95
	DU-145	82		DU-145	80
	HS-5	100		HS-5	100

	SK-MEL-28	92		SK-MEL-28	100
	NCI-H460	100		NCI-H460	100
	DU-145	79		DU-145	100
	HS-5	100		HS-5	73
	SK-MEL-28	100		SK-MEL-28	84
	NCI-H460	76		NCI-H460	100
	DU-145	88		DU-145	88
	HS-5	81		HS-5	49

На основе азолил-3-карбонилхлоридов, пиколинонитрила и никотиновой кислоты нами синтезированы полициклические пиридино-2,4- и 3,4-оксадиазолилзоксазолы и - изотиазолы (схема 3).

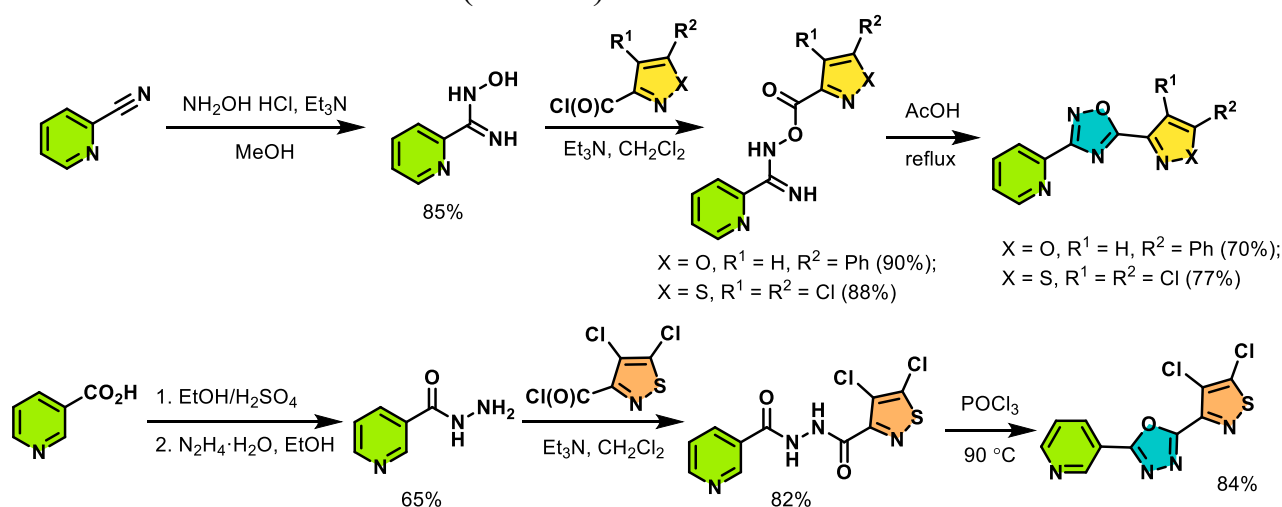


Схема 3

С использованием МТТ-тестов оценен противораковый потенциал полученных изоксазолил(изотиазолил)пиридилзамещенных 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазолов на клеточных линиях рака шейки матки человека и глиомы крысы С6. Наиболее выраженный ингибирующий эффект был обнаружен в отношении глиомы С6. С использованием процедуры молекулярного докинга было показано, что синтезированные производные оксадиазола обладают значительным потенциалом для ингибирования взаимодействия с белковыми сайтами НА-CD44.

Совместно с новосибирскими коллегами из Института неорганической химии СО РАН, Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала Института цитологии и генетики, СО РАН, Института молекулярной биологии и биофизики СО РАН и Новосибирского государственного университета синтезированы смешанные комплексы меди (II) с N-донорными лигандами и дихлоризотиазол-3-карбоновой кислотой. В качестве N-донорных лигандов были выбраны 1,10-фенантролин и 4,7-диметил-1,10-фенантролин. Смешанные комплексы меди(II) с лигандами ряда 1,10-фенантролина и родственных соединений представляют интерес благодаря высокому потенциалу биологического действия.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИЙ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА В ПОДГОТОВКЕ ПРОВИЗОРОВ

Прохорова Т.В., Побойнев В.В., Юзефович О.Н.

Прохорова Т.В.

*Кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
tprochorova343@gmail.com*

Побойнев В.В.

*Кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
dremozzew@mail.ru*

Юзефович О.Н.

*Старший преподаватель кафедры общей химии УО «Белорусский госу-
дарственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
o.yuzefovi4@gmail.com*

*В работе проанализировано современное состояние применения студен-
тами первого курса фармацевтического факультета технологий искусствен-
ного интеллекта при изучении учебной дисциплины «Общая и неорганическая хи-
мия». Показано, что 93 % студентов прибегают к использованию технологий
искусственного интеллекта при подготовке к экзаменам и коллоквиумам, а
также при решении задач. При этом взаимосвязи между применением искус-
ственного интеллекта и академической успеваемостью не установлено.*

Ключевые слова: *медицинский университет; фармацевтический факуль-
тет; искусственный интеллект; академическая успеваемость.*

ASSESSMENT OF THE POSSIBILITY OF USING ARTIFICIAL INTELLIGENCE TECHNOLOGIES IN THE TRAINING OF PHARMACISTS

Prochorova T. V.

*Candidate of Technical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of General Chemistry of the Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk
tprochorova343@gmail.com*

Poboinev V. V.

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of General Chemistry of the Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk
dremozzew@mail.ru*

Yuzefovich O. N.

*Assistant Professor of the Department of General Chemistry of the Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk
o.yuzefovi4@gmail.com*

In this paper we have analyzed the current state of the application of artificial intelligence technologies by first year students of the Faculty of Pharmacy in the study of the academic discipline «General and Inorganic Chemistry». It is shown that 93 % of students resort to the use of artificial intelligence technologies when preparing for exams and colloquiums, as well as when solving problems. At the same time, the relationship between the usage of artificial intelligence and academic performance has not been established.

Key words: *medical university; the faculty of Farmacy; artificial intelligence; artificial intelligence.*

В настоящий момент образование в Республике Беларусь проходит цифровую трансформацию. В частности для студентов разных факультетов разрабатываются отдельные электронные учебно-методические комплексы (ЭУМК), в которых представлены не только учебники, учебные пособия, но лекции в аудио и видео форматах, что позволяет несколько раз в удобное время прослушать объяснения лекторами ключевых аспектов каждой темы. Необходимость отдельных ЭУМК связана с особенностями учебных программ для каждого факультета [1]. С 2025 года началось активное внедрение технологий искусственного интеллекта (ИИ) в систему образования. Развитие ИИ закреплено Указом Президента № 135 от 1 апреля 2025 года, определяющим приоритетные направления научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2026–2030 годы.

Подготовка будущих провизоров на ранних этапах обучения в медицинском университете сопровождается значительной нагрузкой, связанной с освоением базовых фундаментальных дисциплин. Одной из ключевых учебных дисциплин является «Общая и неорганическая химия», формирующая фундамент для последующего изучения профильных фармацевтических дисциплин. Практика

преподавания показывает, что наибольшие затруднения у студентов вызывает не столько запоминание теории, сколько её применение при решении расчётных задач, анализе химических процессов и понимания хода лабораторных работ. Поэтому целью данной статьи явилась оценка возможности использования технологий ИИ в подготовке будущих провизоров.

На основе анкетирования 75 студентов первого курса фармацевтического факультета выявлены основные трудности при изучении учебной дисциплины «Общая и неорганическая химия» и произведена оценка возможности использования ИИ в подготовке будущих провизоров.

Инструментом сбора данных стала авторская структурированная анкета, включающая блоки вопросов, направленные на выявление трудностей освоения химических дисциплин, особенностей самостоятельной подготовки студентов, их отношения к использованию технологий ИИ в обучении. Вопросы анкеты включали варианты альтернативного и множественного выбора. Обработка результатов проводилась методами описательной статистики с расчётом относительных показателей и средних значений. Полученные данные позволили выявить ключевые проблемы учебного процесса и определить направления возможной модернизации обучения.

В разные годы на фармацевтический факультет зачислялись от 50 % до 70 % студентов по целевым договорам (2020 год – 50 %, 2021 год – 50 %, 2022 год – 50 %, 2023 год – 60 %, 2024 год – 70 %). В 2025/2026 учебном году на дневную форму обучения фармацевтического факультета учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» было зачислено 90 абитуриентов. 80 абитуриентов были зачислены на бюджетную форму обучения, 64 (80 %) из которых заключили целевые договоры, и 10 абитуриентов зачислены на платную форму обучения. При этом в последние годы абитуриенты целевой формы обучения для поступления в университет сдавали только устный экзамен по химии без включения расчётных задач в билеты.

С первой недели обучения в университете будущие провизоры приступают к изучению учебной дисциплины «Общая и неорганическая химия». Как показали результаты анонимного анкетирования, большинство студентов воспринимают учебную дисциплину «Общая и неорганическая химия» как дисциплину средней или повышенной сложности. Так, 61 % респондентов оценили сложность предмета как среднюю, 15 % считают его сложным, тогда как лишь 21 % студентов характеризуют дисциплину как скорее лёгкую. Доля студентов, считающих предмет очень лёгким, составила всего 3 %. При ответе на вопрос «Какую оценку Вы получили на последнем коллоквиуме по химии?» получены следующие результаты: 15 % студентов получили отметку 9-10, 48 % студентов получили отметку 7-8, 17 % студентов получили отметку 5-6, 15 % студентов получили отметку 4 и 5 % студентов вовсе не сдали коллоквиум с первого раза. При ответе на вопрос: «Приходилось ли Вам использовать доступные ИИ-сервисы при самостоятельной подготовке к химии?» оказалось, что 52 % респондентов используют такие инструменты периодически, 25 % использовали их несколько раз, а 16 % используют регулярно. Лишь 7 % студентов никогда не обращались к

подобным технологиям. Таким образом, 93 % участников исследования уже взаимодействовали с ИИ-сервисами в образовательной деятельности. В качестве наиболее полезных форм поддержки студенты отмечали возможность использования ИИ в пошаговом разборе задач (80 %), в объяснении теории (63 %), в подготовке к коллоквиуму (49 %) и экзамену (36 %). Действительно, решение расчётных задач вызывает затруднение у 47 % респондентов, около 37 % студентов указали на трудности, связанные с запоминанием формул и химических реакций, а также с пониманием теоретического материала. 27 % студентов отмечают, что только частично понимают, что будет происходить в ходе лабораторных работ. При этом связи между успеваемостью и использованием ИИ по критерию χ^2 не установлено ($\chi^2=14,457$; $p=0,273$).

Таким образом, студенты всё чаще используют ИИ в качестве дополнительного источника получения информации при подготовке к занятиям. Однако такое использование в большинстве случаев носит стихийный характер. Использование технологий ИИ приводит к противоречивой ситуации: с одной стороны, технологии ИИ обладают значительным потенциалом для индивидуализации процесса обучения, а с другой – их неконтролируемое применение может подменять самостоятельную учебную деятельность. Показано, что использование ИИ в данный момент не связано статистически с улучшением академических результатов. ИИ чаще используют студенты, испытывающие трудности в обучении, демонстрируя, что ИИ выполняет компенсаторную функцию, а не является инструментом повышения успеваемости.

Учитывая неизбежную цифровую трансформацию образовательного процесса, повсеместное внедрение искусственного интеллекта важным элементом модернизации учебного процесса может стать разработка методических рекомендаций по использованию технологий ИИ в образовательной деятельности. Такие рекомендации могут включать примеры допустимых сценариев использования ИИ, а также указания на недопустимые формы его применения.

При этом необходимо отметить, что как использование технологий ИИ, так и разработка методических рекомендаций возможно только при условии повышения уровня фундаментальной подготовки абитуриентов до момента их поступления в медицинские университеты. Только при таком условии контролируемая интеграция ИИ-инструментов в учебный процесс сохранит ведущую роль преподавателя и одновременно расширит возможности самостоятельной подготовки студентов, а, следовательно, повысит эффективность учебного процесса.

Список литературы

1. Научный и образовательный процесс на кафедре общей химии БГМУ в условиях глобальных вызовов и цифровизации / Т. В. Прохорова [и др.] // Проблемы устойчивого развития регионов Республики Беларусь и сопредельных стран: сб. науч. статей XI Междунар. науч.-практ. интернет-конф., 1–30 июня 2022 г., г. Могилев / под ред. Н. В. Маковской. – Могилев: МГУ имени А. А. Кулешова. – 2022. – С. 108–111.

СТАНОВЛЕНИЕ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРЕПОДАВАНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ «БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ» В БГМУ

Ринейская О.Н., Романовский И.В.

Ринейская О.Н.

*Кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей химии,
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
ryneiskaya@mail.ru*

Романовский И.В.

*Кандидат медицинских наук, профессор кафедры общей химии,
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
ryneiskaya@mail.ru*

В статье представлены сведения о ключевых моментах становления преподавания дисциплины «Биоорганическая химия». Рассмотрены исторические аспекты и различные подходы к оптимизации структуры и методики преподавания курса биоорганической химии студентам медицинских специальностей БГМУ.

Ключевые слова: *биоорганическая химия; история БГМУ; практико-ориентированное обучение.*

DEVELOPMENT AND IMPROVEMENT OF TEACHING THE DISCIPLINE «BIOORGANIC CHEMISTRY» AT BSMU

Ryneiskaya O.N.

*MD, PhD, Associate Professor, Department of General Chemistry,
Belarusian State Medical University, Minsk
ryneiskaya@mail.ru*

Romanovski I.V.

*MD, PhD, Professor, Department of General Chemistry,
Belarusian State Medical University, Minsk*

This article presents key moments in the development of the Bioorganic Chemistry course. It examines historical aspects and various approaches to optimizing the structure and teaching methods of the Bioorganic Chemistry course for medical students at Belarusian State Medical University.

Key words: *bioorganic chemistry; history of BSMU; practice-oriented learning.*

Биоорганическая химия представляет собой междисциплинарную область знаний, исследующую структурно-функциональную организацию, физико-химические свойства и молекулярные механизмы действия биологически активных соединений, преимущественно биополимеров и низкомолекулярных биорегуляторов. Центральной задачей дисциплины является установление взаимоотноше-

ний между пространственным строением органических молекул и их специфической биологической активностью. Современная парадигма рассматривает жизнь как высокоупорядоченную форму существования биополимерных систем, обладающих хиральной чистотой, способностью к самоорганизации и репликации в условиях гомеостатического обмена веществом, энергией и информацией с внешней средой. В связи с этим фундаментальная химическая подготовка становится базисом медицинского образования. Интерпретация физиологических процессов и патогенеза на молекулярном уровне является необходимым фундаментом для формирования клинического мышления современного врача.

Особую актуальность приобретает изучение молекулярной сигнализации, рецепции и передачи информации. Жизнедеятельность клетки детерминирована генетической программой, закодированной в нуклеотидных последовательностях, реализация которой осуществляется посредством протеома. Сохранность генома и стабильность систем экспрессии генов определяют точность передачи наследственных признаков и общее состояние здоровья индивида. Специфика биоорганического подхода заключается в интегративном анализе химических превращений соединений углерода в контексте их биологических функций. Подобный подход позволяет не только раскрыть закономерности эволюционного отбора конкретных молекул для обеспечения метаболических процессов, но и идентифицировать структурные особенности, лежащие в основе развития патологии на молекулярном уровне.

С первых дней организации медицинского факультета при Белорусском государственном университете и до 1930 года курс органической химии на медицинском факультете читал чл.-корр. АН СССР, академик АН БССР, профессор Николай Александрович Прилежаев. Основным направлением его научных интересов являлось изучение реакций окисления непредельных соединений прямым окислением двойных связей гидроперекисью бензоила. Реакция взаимодействия алкенов и надкислот с образованием эпоксидов получила мировое признание («реакция Прилежаева»). В 1930 году в структуре Белорусского (Минского) медицинского института были организованы две кафедры химического профиля: кафедра общей химии, где преподавались основы неорганической, аналитической, физической и коллоидной химии (заведующий - профессор Николай Федорович Ермоленко), а также кафедра биологической и органической химии, которую возглавил профессор Георгий Валерианович Дervиз – известный специалист в области клинической биохимии и лабораторного дела. Помимо серьёзных научных достижений он обладал редким обаянием и высокой общей культурой, имел духовные связи с выдающимися деятелями искусства и науки (художник Валентин Александрович Серов, химик Алексей Евграфович Фаворский, лауреат Нобелевской премии микробиолог Андрей Львов). Ассистентами по курсу органической химии были назначены Николай Митрофанович Маленок (1930 г.) и И. В. Сологуб (с 1931 г.). После ухода профессора Г. В. Дervиза кафедрой заведовали доцент Л. Е. Таранович (1932–1933, 1935–1941 гг.), профессор Н. С. Козлов (1933–1935 г.). В 1939 году Н. М. Малёнок защитил кандидатскую диссертацию «Конденсация фенилацетилена с ациклическими альдегидами», и в 1940 г. был

назначен заведующим кафедрой органической химии, которой руководил на протяжении 23 лет. Николаем Митрофановичем был синтезирован ряд новых ацетиленовых спиртов и их производных, разработаны методы синтеза некоторых биологически активных соединений и лекарственных средств, изучались процессы сорбции и очистки лекарственных препаратов на ионообменных смолах. В 50-60-е годы программой преподавания органической химии было предусмотрено 90 часов аудиторных занятий: 15 лекций, 42 часа семинарских и 18 часов практических занятий. Н.М. Маленок как руководитель, лектор и педагог отличался высокой организованностью, собранностью и лаконичностью в изложении мысли, его лекционные курсы отличались высокой методологической культурой: филигранное изложение структурных формул сложных органических соединений и систематизация материала делали его лекции фундаментальной базой для подготовки студентов к аттестации. Под научным руководством Н.М. Маленка в 1947 году ассистент И.В. Сологуб успешно защитил кандидатскую диссертацию, посвященную изучению вторичных фенилацетиленовых карбинолов и их производных. В этот период вектором научных изысканий кафедры стало исследование ацетиленовых углеводов и продуктов их окисления гидроперекисью ацетила [1].

В разные годы образовательный процесс на кафедре обеспечивали ассистенты Е.Я. Воробьевская, С.Д. Кулькина, З.Ю. Ковтуненко и Е.М. Папченко. Новый этап в истории подразделения начался в 1954 году. На кафедру органической химии был определен курс физической и коллоидной химии. Состав кафедры пополнился доцентом Е. Н. Новиковой и ассистентом В.И. Дубовик. Научный путь кандидата химических наук Е. Н. Новиковой (ранее - ассистента кафедры общей химии под руководством профессора Н. Ф. Ермоленко) был отмечен защитой в 1939 году диссертации, посвящённой физико-химическим аспектам набухания компонентов вулканизированного каучука в гетерогенных средах. В период её руководства кафедрой приоритетным вектором исследований стала проблема кинетики окисления и ингибирования непредельных соединений, включая углеводороды, терпены и витамины. В рамках данного направления сотрудниками кафедры были реализованы биологически важные исследовательские проекты: ассистент В.И. Дубовик защитила в 1955 г. диссертацию по кинетике ферментативного действия кристаллической каталазы; ассистент И.М. Яхнич исследовала влияние серосодержащих антиоксидантов на механизмы окисления α -пинена); с 1964 года ассистент А.Г. Дорогуш приступила к изучению процессов фотоокисления β -каротина и оценке эффективности антиоксидантов различной химической природы в этих процессах.

Доцент Е.Н. Новикова внесла существенный вклад в формирование педагогических традиций кафедры. Будучи замечательным лектором и наставником, она уделяла приоритетное внимание подготовке научно-педагогических кадров и руководству студенческим научным кружком. В этот период студенческий научный кружок кафедры стал кузницей высококвалифицированных кадров для отечественной медицины. Тематика студенческих работ была тесно интегрирована в общекафедральный план научно-исследовательских работ, что обеспечивало преемственность знаний. Среди активных участников кружка тех лет были выдающиеся деятели науки в последующем: член-корреспондент НАН Беларуси,

профессор Ф.И. Висмонт; старший научный сотрудник Д.М. Михнюк; кандидаты медицинских наук В.П. Панферов, Н. Костюченко и другие. Подготовка студентов в рамках СНК по актуальным направлениям (в частности, по химии антиоксидантов и кинетике биохимических процессов) заложила фундамент для их дальнейшей успешной клинической и научно-исследовательской деятельности.

Важным этапом развития кафедры органической химии стало открытие в 1964 году аспирантуры. Первым аспирантом стал выпускник лечебного факультета И. В. Романовский, чьи работы были посвящены биохимическим аспектам онкогенеза. Под его руководством была создана специализированная лабораторная база для работы с экспериментальными асцитными опухолями. Ключевым достижением этого периода стала разработка и внедрение прибора для амперометрического титрования сульфгидрильных и дисульфидных групп. Исследования И. В. Романовского были сосредоточены на изучении тиол-дисульфидного обмена в динамике роста опухолей и при их химиотерапии антиоксидантами (в частности, ионолом). Работа велась в тесной интеграции с отделом кинетики химических и биологических процессов Института химической физики АН СССР, что обеспечило высокий методологический уровень изысканий. На протяжении 1966-1967 гг. аспирант И. В. Романовский продолжил начатые на кафедре исследования в биохимической лаборатории отдела кинетики химических и биологических процессов (руководитель – академик АН СССР Н. М. Эмануэль) института химической физики АН СССР под руководством А.И. Агатовой. Работа в отделе кинетики химических и биологических процессов позволила И. В. Романовскому не только успешно выполнить диссертацию, но и проникнуться духом высокого академического научного творчества, стать приверженцем и пропагандистом в МГМИ значимости свободно-радикальных процессов и систем антиоксидантной защиты в жизнедеятельности живых организмов. С 1966 года изучением кинетики роста солидных опухолей и ряда биохимических показателей, характеризующих состояние антиоксидантных систем стала заниматься выпускница лечебного факультета Белорусского государственного медицинского института Тамара Ивановна Дадыко. С 1972 года на заведование кафедрой органической, физической и коллоидной химии пришел перспективный ученый-нейрохимик, ученик члена-корреспондента АН СССР Х. С. Коштыянца и академика АН БССР Ю.М. Островского доцент, кандидат биологических наук Александр Иосифович Балаклеевский. Именно фундаментальные работы Х.С. Коштыянца, разработавшего энзимохимическую теорию возбуждения нерва, сыграли важную роль в формировании современного представления о химической основе механизмов нервной деятельности и определили выбор направления научных исследований А.И. Балаклеевского. В 1965 году им была защищена кандидатская диссертация на тему «Связь обмена тиамина с холинергическими процессами в организме и отношение тиамина (и некоторых его производных) к основным компонентам холинергической системы», а в 1970 г. Александр Иосифович организовал и возглавил проблемную лабораторию биохимии нейрогормонов и регуляции обмена веществ на базе Белорусского научно-исследовательского санитарно-гигиенического института Министерства Здравоохранения БССР, которая в 1973

году была переведена в ЦНИЛ МГМИ. Этот период работы кафедры органической химии оказался особенно плодотворным как в учебно-методическом, так и в научном плане. Совершенствовалась учебная и методическая работа кафедры: при чтении лекций для повышения наглядности излагаемого материала использовался графопроектор и прозрачные пленки, диапроектор со слайдами; внедрялись в лабораторный практикум современные физико-химические методы исследований (электрофорез аминокислот на бумажном носителе; гельфильтрация; ионообменная хроматография аминокислот и др.); издавались учебные и методические пособия («Методические разработки по физической и коллоидной химии для студентов лечебного, педиатрического, санитарно-гигиенического и стоматологического факультетов» 1981 г. «Высшая школа»). Курс физической и коллоидной химии читал А.И. Балаклеевский, а курс органической химии на лечебном, педиатрическом и санитарно-гигиеническом факультетах – И.В. Романовский, С.Д. Кулькина, Т. И. Дадыко, Е.М. Папченко. Результативной была и совместная научно-исследовательская работа. Сотрудники кафедры и лаборатории биохимии нейrogормонов занимались изучением процессов энергообеспечения мозга при действии нейротропных средств, избирательно модифицирующих в организме животных состояние различных медиаторных систем. Был синтезирован и испытан в лабораторных условиях ряд новых нейротропных препаратов пролонгированного действия. Началось и велось плодотворное международное сотрудничество с учеными-нейрохимиками из университета Кальяри (Сицилия). В последующие годы много внимания уделялось изучению рецепторного действия ряда нейротропных препаратов, роли в нем липидного состава мембран и перекисного окисления липидов мозга. Этот период деятельности кафедры отличался и плодотворной работой студентов-кружковцев: В.В. Руденка, Д.В. Сайкова, В.А. Переверзева, Г. Шилова, О.Н. Кулич (Ринейской), Е.П. Кишкурно, Т.В. Мохорт, Н.Н. Савченко, А.Р. Аветисова, С.В. Макаревич (Глинник). Многие из кружковцев в последующем продолжили научно-исследовательскую работу, защитили кандидатские и докторские диссертации, стали известными учеными, заведующими кафедр, лабораторий.

Следует отметить, что во второй половине XX столетия произошли знаменательные открытия в области изучения структуры и механизмов функционирования природных биологически значимых молекул: расшифрована вторичная структура ДНК, получен синтетически полипептидный гормон гипофиза вазопрессин и доказана его физиологическая активность *in vivo*, определена первичная структура полипептидного гормона поджелудочной железы - инсулина, и осуществлен его химический синтез, расшифрован генетический код, синтезированы тетрациклин, холестерин, ряд алкалоидов и др. Химики все шире интересовались проблемами биохимии и молекулярной биологии, изучали структуру и механизмы превращений биологически важных для процессов жизнедеятельности молекул. Становилось очевидным, что будущее органической химии все больше и больше смещается в сторону биологии. Происходило дробление и дифференциация наук, возникали новые дисциплины. В результате на стыке наук возникла биоорганическая химия, изучающая структуру биологически важных молекул с использованием методов и подходов органической химии.

В 1982 году в г. Суздаль состоялся расширенный семинар руководителей кафедр органической химии совместно с руководством и членами Центральной методической комиссии по преподаванию химических дисциплин при министерстве Здравоохранения СССР с по вопросам состояния преподавания химических дисциплин в медицинских вузах СССР. По результатам обсуждения было принято решение о введении преподавания в медицинских вузах биоорганической химии вместо традиционно преподаваемой органической химии. Участником этого совещания, как член Всесоюзной методической комиссии, был и доцент И.В. Романовский, который в 1982 году подготовил и прочёл в Минском медицинском институте первый курс лекций по биоорганической химии. В то же время курс органической химии был реорганизован в курс биоорганической химии (зав. курсом – И. В. Романовский) при кафедре биологической химии (зав. кафедрой – проф. В. К. Кухта). За период функционирования курса биоорганической химии в структуре кафедры биологической химии была проведена более тесная интеграция преподавания обеих дисциплин. Учебная программа по биоорганической химии была дополнена разделами, касающимися строения и уровней организации белковых молекул, строения и функций нуклеиновых кислот. В 1984 году по решению Министерства здравоохранения СССР курс биоорганической химии был передан кафедре общей химии (зав. кафедрой проф. Е. В. Барковский). В 2001 году решением Совета Белорусского государственного медицинского института была создана кафедра биоорганической химии (заведующий кафедрой проф. И.В. Романовский (2001-2005 гг., О.Н. Ринейская (2005-2024 гг.)). В разные годы дисциплину «Биоорганическая химия» преподавали Т.И. Дадыко, В.В. Пинчук, Н.И. Губкина, Р.П. Морозова, Е.П. Захарцева, Т.Ф. Андрушевич, С.В. Глинник, С.Н. Борисевич, Ф.Ф. Лахвич, А.С. Бабенко, Г.П. Фандо, О.Ф. Краецкая, Е.М. Ермоленко, Л.Э. Зайтуллаева, К.Г. Бурдашкина. Сотрудниками создано большое количество учебных, учебно-методических пособий и несколько учебников [2].

В настоящее время важным является практико-ориентированный подход к обучению в университете. Реализация данного принципа в рамках дисциплины «Биоорганическая химия» базируется на интеграции классических аналитических методов и передовых цифровых технологий, что обеспечивает формирование фундаментальных профессиональных компетенций будущего врача. Образовательный процесс включает навыки *in silico* моделирования и хемоинформатики, где студенты осваивают специализированное программное обеспечение (такое как ChemDraw, Chem3D, Chimera) для визуализации структур биологически активных соединений и лекарственных средств, включая автоматизированную конвертацию номенклатурных названий в трехмерные молекулярные модели.



Коллектив кафедры биоорганической химии в 2018 г.:

1 ряд (слева направо) доц. А.С. Бабенко, доц. Г.П. Фандо, проф. И.В. Романовский, зав. кафедрой, доц. О.Н. Ринейская, доц. С.Н. Борисевич, ст. преподаватели Н.И. Губкина, Л.Э. Зайтуллаева;

2 ряд (слева направо) ассист. Р.П. Морозова, ст. преп. Е.М. Ермоленко, доц. Ф.Ф. Лахвич, мат. отв. лаборант М.А. Чехунова, доц. С.В. Глинник, доц. Краецкая О.Ф., лаб. В.И. Смирнова, лаб. М.А. Молчан, вед. лаборант, канд. хим. наук Е.Н. Галюк, вед. лаборант С.В. Малиновская.

Важной составляющей является работа с глобальными биоинформатическими репозиториями (например, Protein Data Bank) для верификации пространственной конфигурации и функциональных доменов макромолекул с использованием инструментов молекулярной графики типа PyMOL. Параллельно с цифровыми методами студенты овладевают методологией классического функционального анализа, проводя идентификацию органических соединений с помощью качественных реакций, что закладывает основу для понимания принципов лабораторной диагностики. Особое внимание уделяется технологическому регламенту и культуре безопасного научного поиска: студенты отрабатывают навыки работы с химической посудой и сложным лабораторным оборудованием, а также осваивают протоколы безопасного обращения с летучими, токсичными и агрессивными реагентами. Такой комплексный подход позволяет трансформировать теоретические знания о строении биомолекул в прикладные навыки, непосредственно востребованные в последующей медико-биологической и клинической практике.

Список литературы

1. Романовский, И. В. История становления и развития кафедры биоорганической химии БГМУ / И.В. Романовский, О. Н. Ринейская, Р.П. Морозова // Медицинский журнал. - 2020. - С. 143-155.
2. Ринейская, О. Н., Биоорганическая химия: учебное пособие. / О. Н. Ринейская, И. В. Романовский, Ф. Ф. Лахвич, С.В. Глинник – Минск: Новое знание, 2024. 280 с.

РОЛЬ МОЧЕВИНЫ И КРЕАТИНИНА В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ИСХОДА ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ЗАКРЫТОЙ ЧЕРЕПНО- МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

Рутковская Ж.А., Решетов К.Д., Возьмитель Л.Г.

Рутковская Ж.А.

*Кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры биологической химии УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
rutkovskayaZh@yandex.ru*

Решетов К.Д.

*Студент лечебного факультета УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
kirillreshetov3858@gmail.com*

Возьмитель Л.Г.

*Студентка лечебного факультета УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
linavozmitel@gmail.com*

В исследовании проведен сравнительный анализ содержания креатинина и мочевины в динамике у пациентов с тяжелой закрытой черепно-мозговой травмой с благоприятным и летальным исходом. У выживших пациентов оба показателя оставались в пределах нормы на всем протяжении наблюдения. У пациентов с неблагоприятным исходом, напротив, нормальное содержание мочевины и креатинина наблюдалось только в ранние сроки наблюдения. Начиная с третьих суток после травмы, уровень креатинина и мочевины достоверно повышался, что указывало на развитие острого повреждения почек. Полученные данные обосновывают целесообразность динамического определения креатинина и мочевины для раннего выявления ренальной дисфункции и прогнозирования исхода у пациентов с тяжелой ЧМТ с целью оптимизации индивидуального лечения.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, почки, креатинин, мочевина.

THE ROLE OF UREA AND CREATININE IN PREDICTING TREATMENT OUTCOMES IN PATIENTS WITH SEVERE CLOSED TRAUMATIC BRAIN INJURY

Rutkovskaya Zh. A.

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry of "Belarusian State Medical University",
Minsk, Belarus
rutkovskayazh@yandex.ru*

Reshetov K. D.

*Student of the Educational Institution "Belarusian State Medical University",
Minsk, Belarus
kirillreshetov3858@gmail.com*

Vozmitel L. G.

*Student of the Educational Institution "Belarusian State Medical University",
Minsk, Belarus
linavozmitel@gmail.com*

The study compared the dynamics of creatinine and urea levels in patients with severe closed traumatic brain injury (TBI) with favorable and fatal outcomes. In surviving patients, both parameters remained within normal limits throughout the entire follow-up period. In contrast, in patients with unfavorable outcomes, normal urea and creatinine levels were observed only in the early stages of follow-up. Beginning on the third day after injury, creatinine and urea levels significantly increased, indicating the development of acute kidney injury. The obtained data substantiate the usefulness of dynamic creatinine and urea determination for the early detection of renal dysfunction and prognosis of outcome in patients with severe TBI, with the aim of optimizing individualized treatment.

Key words: *traumatic brain injury, kidneys, creatinine, urea.*

Тяжелая черепно-мозговая травма (ЧМТ) остается одной из ведущих причин смертности и инвалидизации во всем мире. Развитие острого повреждения почек у пациентов с тяжелой ЧМТ ухудшает прогноз заболевания и повышает летальность до 40–55 % [1,2]. Основными биохимическими маркерами, отражающими фильтрационную функцию почек, являются уровень мочевины и креатинина в крови [3]. Их уровень в крови позволяет оценить фильтрационную способность почек, которая при тяжелой ЧМТ может нарушаться вследствие гиповолемии, системной воспалительной реакции и токсического воздействия продуктов тканевого распада.

Целью настоящего исследования явилась оценка прогностической значимости уровней мочевины и креатинина в плазме крови у пациентов с тяжелой закрытой черепно-мозговой травмой.

В представленном исследовании проведен сравнительный анализ динамики изменения содержания мочевины и креатинина у 105 пациентов с тяжелой закрытой ЧМТ, из которых 57 пациентов (1-я группа) имели благоприятный исход, 48 (2-я группа) – летальный. Забор венозной крови проводился на 1, 3, 5, 7 и 9 сутки.

Статистическая обработка выполнена с использованием критерия Манна-Уитни (ввиду отклонения распределения от нормального), корреляционного анализа Спирмена, ROC-анализа и бинарной логистической регрессии. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильных размахов [4]. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

У пациентов, восстановившихся после ЧМТ, уровень креатинина на протяжении всего периода наблюдения оставался в пределах референтных значений (конкретные референтные значения варьировали от 83,1 [77,0; 86,7] до 97,5 [93,8; 99,3] мкмоль/л). Таким образом, даже при возможных колебаниях этот показатель не выходил за границы нормы, что свидетельствует о сохраненной фильтрационной способности почек у выживших пациентов.

Совершенно иную картину демонстрируют пациенты с летальным исходом (группа 2). В первые сутки поступления в стационар уровень креатинина у них был сопоставим с пациентами группы 1 и также находился в пределах физиологической нормы и составлял 86,6 [82,4; 93,5] мкмоль/л. Однако уже к 3-м суткам наблюдения был зафиксирован стремительный подъем содержания креатинина в плазме крови. Содержание креатинина в крови пациентов с летальным исходом не только превысило физиологическую норму (133,9 [127,7; 144,0] мкмоль/л), но и увеличилось в 1,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с пациентами в группе 1. Важно отметить, что на протяжении всего дальнейшего периода исследования (5-е, 7-е и 9-е сутки) уровень креатинина у пациентов группы 2 сохранялся за пределами референтных значений, оставаясь стабильно высоким. Статистический анализ выявил, что различия между группами на 3-9 сутки являются достоверными (U, $p < 0,05$). Это подтверждает прогностическую ценность раннего (начиная с 3-го дня) повышения уровня креатинина в плазме крови.

Таблица 1

Содержание креатинина и мочевины в крови пациентов с закрытой ЧМТ тяжёлой степени с благоприятным исходом (группа 1) и летальным исходом (группа 2)

Показатель	Группа	День 1	День 3	День 5	День 7	День 9
Креатинин, мкмоль/л	1	87,7 [81,7; 90,9]	97,5* [93,8; 99,3]	87,3* [83,0; 91,5]	83,1* [77,0; 86,7]	85,0* [81,4; 88,1]
	2	86,6 [82,4; 93,5]	133,9 [127,7; 144,0]	128,7 [116,7; 135,2]	122,1 [115,1; 126,1]	120,5 [110,8; 127,2]
Мочевина, ммоль/л	1	6,1 [4,5; 7,2]	6,5* [6,1; 6,9]	5,7* [5,4; 6,3]	5,9* [5,4; 6,3]	5,6* [5,3; 5,9]
	2	5,9 [5,4; 6,3]	9,6 [8,7; 10,7]	8,8 [7,8; 9,6]	8,6 [8,2; 9,1]	8,4 [8,2; 8,8]

Примечание: * статически значимые различия между двумя группами при $p < 0,05$.

Динамика изменения уровня мочевины в крови была сходна с динамикой изменения уровня креатинина. В группе выживших пациентов содержание мочевины в плазме крови оставалось стабильно низким на протяжении всего периода наблюдения. Значения колебались в узком диапазоне: от 5,7 [5,4; 6,3] до 6,5 [6,1; 6,9] ммоль/л, что соответствует нормальным величинам (обычно референтный интервал для мочевины составляет 2,5–8,3 ммоль/л). Это указывает на нормальную азотовыделительную функцию почек у пациентов 1-й группы на протяжении всего периода исследования.

В группе пациентов с летальным исходом, напротив, зафиксирован значительный подъем уровня мочевины до 9,6 [8,7; 10,7] ммоль/л уже на 3-й день после полученной травмы. В последующие дни исследования (5-е, 7-е и 9-е сутки) уровень мочевины у пациентов 2-й группы оставался повышенным: 8,8 [7,8; 9,6], 8,6 [8,2; 9,1] и 8,4 [8,2; 8,8] ммоль/л соответственно. Как и в случае с креатинином, различия между группами 1 и 2 на временном отрезке с 3-х по 9-е сутки были статистически достоверны. Обращает на себя внимание, что у пациентов с летальным исходом повышение уровня мочевины и креатинина происходило синхронно.

Одновременное и стойкое повышение мочевины и креатинина в сыворотке крови классически рассматривается как свидетельство нарушения почечной фильтрации [5]. Как правило, это указывает на снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ), что может быть обусловлено различными механизмами: ишемическим повреждением почек, гипоперфузией на фоне нестабильной гемодинамики, рабдомиолизом при длительном сдавливании вследствие ограничения подвижности, нефротическими эффектами некоторых лекарственных препаратов (например, осмотических диуретиков при лечении отека мозга), а также системной воспалительной реакцией. Сочетание тяжелой ЧМТ и развивающейся почечной недостаточности значительно утяжеляет состояние пациентов и создает порочный круг: почечная недостаточность способствует накоплению азотсодержащих продуктов метаболизма в крови, нарушению водно-электролитного баланса и кислотно-основного равновесия, что, в свою очередь, негативно влияет на восстановление нервной ткани и усугубляет развитие отека мозга.

Полученные результаты согласуются с современными научными данными, которые указывают, что развитие острого повреждения почек ассоциируется с резким ухудшением прогноза и повышает летальность почти в 2 раза [3]. Таким образом, выявленное в нашем исследовании стойкое повышение креатинина и

свидетельствует о нарушении почечной фильтрации. Развившаяся ренальная дисфункция значимо утяжеляет состояние пациентов с ЧМТ. Согласно данным современной литературы [3], присоединение повреждения почек у пациентов с тяжелой ЧМТ ассоциировано с резким ухудшением прогноза, повышая летальность до 40–55 %. Выявленное в проведенном исследовании стойкое повышение содержания креатинина и мочевины у пациентов с летальным исходом отражает нарушение почечной фильтрации. Это нарушение, вероятно, явилось одним из ключевых факторов, снизивших вероятность благоприятного исхода после

полученной тяжелой ЧМТ. Можно предполагать, что у таких пациентов в пост-травматическом периоде развилась полиорганная недостаточность, где почки оказались одними из первых органов-мишеней.

На основании полученных данных можно сформулировать следующие выводы: 1) у пациентов с летальным исходом после тяжелой закрытой ЧМТ наблюдается устойчивое статистически значимое повышение уровня креатинина и мочевины, начиная с 3-х суток после травмы, тогда как у пациентов с благоприятным исходом эти показатели остаются в пределах референтных значений на протяжении всего периода наблюдения; 2) одновременное повышение мочевины и креатинина свидетельствует о нарушении почечной фильтрации и развитии ренальной дисфункции как одного из компонентов полиорганной недостаточности; 3) для прогнозирования исхода лечения и своевременной коррекции проводимой терапии целесообразно определение уровней креатинина и мочевины у всех пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой; 4) различия между группами у пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходами становятся выраженными уже в ранние сроки (3-9 сутки исследования), что позволяет считать эти сроки наиболее предпочтительными для мониторинга.

Список литературы

1. Cole T.B. Global road safety crisis remedy sought: 1.2 million killed, 50 million injured annually / T.B. Cole // JAMA. – 2004. – Vol. 291. – P. 2531–2532.
2. Hyder A.A. The impact of traumatic brain injuries: a global perspective / A.A. Hyder, C.A. Wunderlich, P. Puwanachandra // Neuro Rehabilitation. – 2007. – Vol. 22. – P. 341–353.
3. Басанцова, Н. Ю. Ренальная дисфункция как осложнение острого повреждения головного мозга / Н. Ю. Басанцова, А. Н. Шишкин, Л. М. Тибеккина [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2019. – Т. 25, № 6. – С. 674–681.
4. Гржибовский А. М., Иванов С. В., Горбатова М. А. Корреляционный анализ данных с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS / Гржибовский А. М., Иванов С. В., Горбатова М. А. // Наука и здравоохранение. – 2017. – №1.

**ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ
У ПАЦИЕНТОВ С ЗАКРЫТОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ В
ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСХОДА ЗАБОЛЕВАНИЯ**

Рутковская Ж.А., Решетов К.Д., Возьмитель Л.Г.

Рутковская Ж.А.

*Кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры биологической химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
rutkovskayaZh@yandex.ru*

Решетов К.Д.

*Студент 3 курса лечебного факультета
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь*

Возьмитель Л.Г.

*Студентка 3 курса лечебного факультета
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь*

В данном исследовании выявлены динамические изменения биохимических показателей у пациентов с тяжелой закрытой черепно-мозговой травмой (ЧМТ) в первые девять дней госпитализации и их связь с исходом заболевания. У пациентов с благоприятным исходом отмечается нормализация уровня общего белка и альбумина и снижение С-реактивного белка, что отражает положительную динамику восстановления, а у пациентов с неблагоприятным исходом сохраняется выраженное нарушение белкового обмена и воспалительные процессы. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования этих биохимических маркеров для прогнозирования исхода у пациентов с тяжелой ЧМТ.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма; альбумины; общий белок; с-реактивный белок.

DYNAMICS OF PLASMA PROTEIN LEVELS IN PATIENTS WITH CLOSED TRAUMATIC BRAIN INJURY DEPENDING ON DISEASE OUTCOME

Rutkovskaya Zh. A.

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Belarusian State University, Minsk, Belarus
rutkovskayaZh@yandex.ru*

Reshetov K. D.

*Third-year student, Faculty of General Medicine, Belarusian State University, Minsk, Belarus
kirillreshetov3858@gmail.com*

Vozmitel L. G.

Third-year student, Faculty of General Medicine, Belarusian State University, Minsk, Belarus

This study identified dynamic changes in biochemical parameters in patients with severe closed traumatic brain injury (TBI) during the first nine days of hospitalization and their correlation with the outcome. Patients with a favorable outcome demonstrated normalization of total protein and albumin levels and a decrease in C-reactive protein, reflecting positive recovery dynamics, while patients with an unfavorable outcome continued to have severe protein metabolism disorders and inflammatory processes. The data obtained suggest the potential for using these biochemical markers to predict outcomes in patients with severe TBI.

Key words: *traumatic brain injury, albumin, total protein, C-reactive protein.*

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) занимает одно из ведущих мест среди причин смерти и инвалидности. Согласно статистике, примерно 60 % случаев ЧМТ возникают из-за дорожно-транспортных происшествий, 20–30 % связаны с падениями, а оставшиеся случаи обусловлены насилием или производственными травмами.

Биохимический анализ крови является доступным методом диагностики и мониторинга состояния пациентов. Оставаясь дешёвой альтернативой дорогостоящим маркерным тестам, он позволяет оценивать тяжесть травмы и прогнозировать исход заболевания при сравнительно низких затратах.

Целью исследования явилось оценить динамику изменения содержания некоторых белков в крови у пациентов с благоприятным и летальным исходом после полученной закрытой ЧМТ тяжёлой степени.

Для исследования использовали результаты биохимических анализов 46 пациентов с закрытой черепно-мозговой травмой тяжёлой степени. Пациенты с первого дня получения травмы получали стандартный комплекс интенсивной терапии в условиях стационара. Биохимический анализ крови проводили пациентам на 1, 3, 5, 7 и 9 сутки пребывания в стационаре. Пациентов разделили на две группы: группа 1 включала 16 пациентов, которые восстановились после травмы, а в группу 2 включили 30 пациентов, которые не восстановились после травмы.

В крови пациентов определяли содержание общего белка, альбумина и С-реактивного белка (СРБ). Статистический анализ данных проводился с использованием методов непараметрической статистики в программах Excel 2019 и SPSS.

При проведении исследования были выявлены различия в динамике изменения изучаемых биохимических показателей между исследуемыми группами пациентов (таблица).

В течение первых пяти суток после травмы уровень общего белка у пациентов обеих групп изменялся схожим образом вне зависимости от исхода болезни. Изначально, в первый день после получения травмы, показатели оставались в пределах нормальных границ у пациентов 1 и 2 группы. Затем наблюдалось постепенное прогрессивное снижение общего белка в течение третьего и пятого дня. На седьмой день после травмы различия между пациентами в группах с благоприятным и неблагоприятным исходами стали более выраженными: у тех пациентов, кто выздоровел (группа 1), уровень общего белка находился вблизи нижней границы нормы — составлял 55,6 [53,9; 58,1] г/л, в то время как у пациентов с неблагоприятным исходом данный показатель продолжал снижаться и был 51,2 [48,9; 55,7] г/л, что на 9,3 % ($p < 0,05$) ниже, чем у выздоровевших. На девятый день изменения стали еще более выраженными: у выздоровевших пациентов уровень общего белка продолжал увеличиваться и достиг уровня физиологической нормы (60,5 [58,4; 63,4] г/л), тогда как у скончавшихся он оставался по-прежнему ниже по сравнению с первой группой, что было статистически значимо ($p < 0,05$).

Таблица

Содержание общего белка, альбумина и С-реактивного белка в крови пациентов с закрытой ЧМТ тяжёлой степени с благоприятным исходом (группа 1) и летальным исходом (группа 2)

Показатель	Группа	День 1	День 3	День 5	День 7	День 9
Общий белок, г/л	1	76,6 [68,2; 77,9]	57,2 [51,6; 66,1]	60,0 [53,0; 64,5]	55,6 [53,9; 58,1]	60,5 [58,4; 63,4]
	2	69,0 [63,9; 79,5]	57,8 [51,5; 61,3]	54,1 [48,0; 60,2]	51,2* [48,9; 55,7]	55,1* [51,6; 59,3]
Альбумин, г/л	1	44,7 [39,3; 50,0]	34,0 [31,1; 36,8]	33,9 [30,3; 34,6]	31,2 [29,9; 32,2]	34,6 [32,7; 40,5]
	2	39,9* [32,9; 43,8]	30,1* [29,8; 32,3]	28,3* [25,9; 34,5]	29,6* [27,6; 30,1]	30,3* [27,3; 32,4]
СРБ, мг/л	1	2,2 [1,0; 19,2]	207,2 [171,1; 240,3]	239,8 [186,9; 281,3]	151,3 [100,7; 178,0]	107,9 [58,1; 128,5]
	2	14,9* [5,3; 58,1]	144,7* [118,7; 197,0]	258,6 [196,2; 286,8]	210,4* [201,3; 224,4]	237,8* [193,0; 279,5]

Примечание: * статистически значимые различия между группой 1 и 2 ($p \leq 0,05$)

Уровень альбумина у пациентов уже на ранних этапах госпитализации демонстрирует существенные различия между группами с разными исходами. В течение первых семи суток после травмы у пациентов обеих групп отмечается прогрессивное снижение содержания этого белка. Максимально низкое содержание альбумина наблюдается у пациентов обеих групп на седьмые сутки после травмы: 31,2 [29,9; 32,2] г/л и 29,6 [27,6; 30,1] г/л соответственно у пациентов в 1-й и 2-й группах. Это свидетельствует о выраженной гипоальбуминемии и о значительной утрате белка, что связано, вероятно, с усиленным его потреблением в процессе воспаления и нарушением синтеза в печени. После девяти дней у пациентов 1 группы начинается постепенное восстановление уровня альбумина: он существенно повышается и приближается к нормальным референсным значениям, свидетельствуя о положительном прогностическом сдвиге и нормализации белкового метаболизма. У пациентов с неблагоприятным исходом уровень альбумина остается низким, что указывает на продолжающееся нарушение белкового обмена и возможное развитие осложнений. Снижение содержания общего белка в плазме возможно из-за перераспределения аминокислотного фонда в клетке. Так, аминокислоты преимущественно используются для продукции белков острой фазы воспаления, таких как С-реактивный белок, что снижает количество аминокислот, доступных в печени для синтеза альбуминов и других физиологических белков крови [2]. Функциональное состояние печени по мнению ряда авторов является основополагающим для восстановления после черепно-мозговой травмы [3].

С-реактивный белок (СРБ) считается одним из наиболее чувствительных маркеров воспаления, повреждения тканей или некроза [4]. У пациентов обеих групп с ЧМТ уровень СРБ увеличивается уже с первых суток после травмы, отражая развитие воспалительного процесса и повреждение тканей. Заметим, что на третий день уровень СРБ у выживших (1 группа) в 1,4 раза превышает его у тех, кто умер (2 группа) ($p < 0,05$), что может отражать активную фазу воспаления у пациентов с последующим благоприятным исходом. Через пять дней после травмы СРБ достигает максимума у обеих групп, и различия исчезают. Однако на седьмой и девятый день ситуация кардинально меняется: у выздоровевших пациентов содержание СРБ снижается в 1,6 и 2,2 раза соответственно ($p < 0,05$), в то время как у тех, кто умер, уровень остается высоким и превышает уровень выздоровевших на 7,2 % и 45,3 % соответственно ($p < 0,05$). Это отражает наличие продолжающегося воспалительного процесса и невозможность организма эффективно справляться с воспалительными механизмами.

Таким образом несмотря на то, что в обеих группах уровень исследуемых показателей не достигает референтных значений, у пациентов 2-й группы на протяжении всего периода исследования наблюдается снижение уровня физиологически нормальных белков (альбумина и общего белка) на фоне увеличения белков острой фазы. В противоположность этому, у выздоровевших пациентов (1-я группа) выявлена тенденция к нормализации уровня физиологических белков, а содержание белков острой фазы постепенно снижается начиная с седьмых суток, что свидетельствует о переходе организма к состоянию ремиссии воспалительного процесса и улучшения общего состояния пациента.

Выводы: в ходе исследования были получены данные, подтверждающие наличие значимых различий в содержании общего белка, альбумина и СРБ между пациентами с благоприятным и летальным исходом после тяжелой закрытой ЧМТ. У выздоровевших пациентов спустя неделю пребывания в стационаре уровень общего белка и альбумина возрастает до физиологически нормальных значений, а уровень СРБ заметно снижается. У пациентов, которые скончались, содержание этих белков остается очень низким, сопровождаясь значительным увеличением белков острой фазы.

Список литературы

1. Е.А. Сосновский. Биохимические маркеры черепно-мозговой травмы / Ю.В. Пурас, А.Э. Талыпов // Нейрохирургия. – 2014. – №2. – С. 83–91.
2. Кондратьев А.Н. Альбумин в интенсивной терапии неврологических и нейрохирургических пациентов / Ценципер Л.М., Айбазова М.И., Терехов И.С. // Экстренная медицина. – 2018. – Vol. 7, № 3. – С. 314–322.
3. Янчук П. И., Цыбенков В. А. Нейрогуморальные механизмы гипоталамической регуляции кровообращения и тканевого дыхания в печени // Арх. клинич. и эксперимент. медицины. – 2000. – № 1. – С. 226–230.
4. Xu LB et al High-Sensitivity C-Reactive Protein is a Prognostic Biomarker of Six-Month Disability after Traumatic Brain Injury: Results from the TRACK-TBI Study. J Neurotrauma. 2021 Apr 1;38(7): P. 918–927.

ДИНАМИКА КЛЕТОЧНЫХ СООТНОШЕНИЙ КРОВИ ПРИ ХОБЛ У ПАЦИЕНТОВ С ЧАСТЫМИ И РЕДКИМИ ОБОСТРЕНИЯМИ

Рябцева Т.В., Таганович А.Д., Колб А.В., Богуш Л.С., Давидовская Е.И.

Рябцева Т.В.

*Кандидат биологических наук, доцент, кафедра биологической химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
Ta-yana@yandex.ru*

Таганович А.Д.

*Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь*

Колб А.В.

*Кандидат биологических наук, доцент, кафедра биологической химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь*

Богуш Л.С.

*Кандидат медицинских наук, врач высшей квалификационной категории отдела
пульмонологии и хирургических методов лечения болезней органов дыхания ГУ
«РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии»
г. Минск, Беларусь*

Давидовская Е.И.

*Кандидат медицинских наук, врач высшей квалификационной категории, заве-
дующий отдела пульмонологии и хирургических методов лечения болезней орга-
нов дыхания ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии»
г. Минск, Беларусь*

Целью данного исследования являлся анализ динамики клеточных соотношений у пациентов с ХОБЛ с различной частотой обострений и оценка прогностической значимости их динамических изменений в раннем послегоспитальном периоде. В проспективное исследование было включено 87 пациентов с ХОБЛ. В зависимости от количества обострений за предшествующий год все пациенты с ХОБЛ были распределены на две подгруппы: группа I (редкие обострения, ≤ 1 обострение в год, группа II (частые обострения, ≥ 2 обострений в год. Показатели (NLR, SIRI, CAR и др.) оценивали на 0, 14 и 90 день госпитализации. Обнаружены статистически значимые различия в динамике SIRI у пациентов с редкими и частыми обострениями, у пациентов с редкими обострениями динамика SIRI указывает на затяжное моноцитарное воспаление и неполное разрешение системного воспалительного ответа даже через 3 месяца после начала лечения обострения. Динамический мониторинг клеточных соотношений позволяет выявить затяжное воспаление, оценить эффективность терапии, стратифицировать пациентов по фенотипу ХОБЛ и персонализировать тактику лечения.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь лёгких, обострения, клеточные соотношения, NLR, SIRI, системное воспаление, персонализированная терапия.

DYNAMICS OF BLOOD CELL RATIO IN COPD PATIENTS WITH FREQUENT AND RARE EXACERBATIONS

Ryabtseva T.V.

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Ta-yana@yandex.ru

Tahanovich A.D.

Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Biological Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

ataganovich@gmail.com

Kolb A.V.

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Bogush L.S.

Candidate of Medical Sciences, Physician of the Highest Qualification Category, Department of Pulmonology and Surgical Treatment of Respiratory Diseases, State Institution "Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthysiology", Minsk, Belarus

Davidovskaya E.I.

Candidate of Medical Sciences, Physician of the Highest Qualification Category, Head of the Department of Pulmonology and Surgical Treatment of Respiratory Diseases, State Institution "Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthysiology", Minsk, Belarus

The aim of this study was both to analyze the dynamics of cellular ratios in patients with COPD with different exacerbation frequencies and to assess the prognostic significance of these dynamic changes in the early period after hospitalization. 87 patients with COPD were included in this prospective study. Based on the number of exacerbations in the previous year, patients were divided into two subgroups: Group I (rare exacerbations, ≤ 1 per year) and Group II (frequent exacerbations, ≥ 2 per year). Indicators (NLR, SIRI, CAR, etc.) were assessed at 0, 14, and 90 days of hospitalization. Statistically significant differences were found in the dynamics of SIRI between patients with rare and frequent exacerbations. In patients with rare exacerbations, the dynamics of SIRI indicates prolonged monocytic inflammation and incomplete resolution of the systemic inflammatory response even 3 months after the start of treatment for exacerbation. Dynamic monitoring of laboratory indicators (NLR, SIRI, Tr/Mon, ELR, CAR, LMR) allows the identification of prolonged inflammation, evaluation of therapy effectiveness, stratification of patients by COPD phenotype, and personalization of treatment strategies.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, exacerbations, cellular ratios, NLR, SIRI, systemic inflammation, personalized therapy.

Актуальность. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) характеризуется развитием, как локального воспаления дыхательных путей, так и системным воспалением, которые прогрессируют с течением заболевания. Воспалительный процесс при ХОБЛ опосредован сложными взаимодействиями между различными клетками крови, включая нейтрофилы, лимфоциты, моноциты и тромбоциты [1]. Оценка соотношений между этими клетками, согласно литературным данным, является более информативной, чем оценка каждого показателя в отдельности. Клеточные соотношения объединяют разнонаправленные изменения в одном показателе, отражая общий баланс механизмов с противоположной направленностью, нивелируют индивидуальную вариабельность, повышая тем самым статистическую мощность. Многочисленные исследования демонстрируют, что расчетные индексы превосходят отдельные показатели в прогнозировании клинических исходов при ХОБЛ [2].

Целью данного исследования является анализ динамики клеточных соотношений у пациентов с ХОБЛ с различной частотой обострений и оценка прогностической значимости их динамических изменений в раннем послегоспитальном периоде.

Материалы и методы. В исследование были включены 87 пациентов (группа исследования) с установленным согласно критериям GOLD диагнозом ХОБЛ [3], находившихся на стационарном лечении в ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии» в 2025-2026 гг. Группу контроля составили 30 практически здоровых добровольцев без признаков бронхолегочной патологии. В зависимости от количества обострений за предшествующий год все пациенты с ХОБЛ были распределены на две группы: группа I (редкие обострения) - 1 обострение в год и менее; группа II (частые обострения) - 2 и более обострений в год. Характеристика пациентов группы исследования представлена в таблице 1.

Таблица 1

Общая характеристика пациентов ХОБЛ в зависимости от количества обострений в анамнезе

Характеристика	I группа	II группа
Количество пациентов	36	51
Возраст, лет	64,0 [60,0; 67,0]	64,0 [60,0; 70,0]
мужчины	32 (88 %)	41 (80 %)
женщины	4 (12 %)	10 (20 %)
Госпитализация, дней	30 [28;28]	24 [20;37]
ОФВ-1, %	38,0 [28,0;58,0]	39 [35;47]
ФЖЕЛ, %	71,0 [58,0;83,0]	75 [67;89]
Индекс Тиффно	0,44 [0,44;0,44]	0,44 [0,39;0,54]
SpO ₂ (спокойное дыхание)	95 [95;95]	93 [92;95]
Применение системных ГКС	13 (54 %)	26 (68 %)

Наблюдение за пациентами (оценка показателей ОАК) осуществляли в день госпитализации (до начала терапии, «исх.»), через 14 дней и через 90 дней от начала лечения. Для оценки динамики рассчитывали разность показателей между исходной точкой и 14м днем ($\Delta(14д - \text{исх.})$), исходной точкой и 90м днем наблюдения ($\Delta(90д - \text{исх.})$), между 14м и 90м днем наблюдения ($\Delta(90д - 14д)$).

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного пакета Statistica 10.0 и GraphPad с применением непараметрических методов статистики. Диагностическую и прогностическую значимость показателей гемограммы оценивали с помощью ROC-анализа.

Результаты и их обсуждение. Нейтрофильно-лимфоцитарное отношение (NLR) является интегральным маркером системного воспаления, ассоциированным с тяжестью и прогнозом при ХОБЛ [2]. В нашем исследовании исходные значения NLR статистически значимо выше в обеих группах пациентов с ХОБЛ по сравнению с контролем ($p < 0,05$), что подтверждает наличие хронического воспаления во всех точках наблюдения. Различия между группами с редкими и частыми обострениями отсутствовали, что указывает на одинаковый базовый уровень воспалительной активности у пациентов независимо от частоты обострений.

К 90-му дню наблюдения зафиксированы разнонаправленные изменения: у пациентов с редкими обострениями медиана NLR увеличивалась с 2,09 [1,69;3,11] до 2,48 [1,72; 3,17], тогда как в группе пациентов с частыми обострениями медианное значение данного коэффициента снижается с 2,12 [1,51;3,39] до 1,95 [1,66;2,93] (таблица 2). Отсутствие нормализации NLR к 90-му дню у пациентов группы с редкими обострениями указывает на то, что даже в фазу относительной стабилизации воспаление полностью не купируется. В то время как в группе пациентов с частыми обострениями значение NLR не отличается статистически значимо от контроля

Таблица 2

Значения клеточных соотношений в динамике у пациентов с ХОБЛ в зависимости от количества обострений за последний год

Показатели	Время наблюдения	Контроль (n=27)	группа I (37/34/20) Обострений ≤ 1 /год	группа II (55/53/25) Обострений ≥ 2 /год
Нф/Лф (NLR)	Исх.	1,85 [1,35;2,25]	2,09 [1,69;3,11] ¹	2,24 [1,47;3,45] ¹
	14		2,32 [1,51;3,02] ¹	2,72 [1,60;3,97] ¹
	90		2,48 [1,72;3,17] ¹	1,95 [1,66;2,93]
Нф×Тр/Лф (SII)	Исх.	415,62 [339,36;524,45]	502,43 [365,78;895,07]	504,48 [337,45;1048,36]
	14		599,31 [281,69;837,91]	680,83 [368,28;1136,72] ¹
	90		661,84 [479,80;925,12] ¹	495,61 [383,11;882,04]
Нф х Мон/Лф (SIRI)	Исх.	0,94 [0,71;1,15]	1,55 [1,05;2,51] ¹	1,41 [0,92;2,77] ¹
	14		1,67 [1,15;2,92] ¹	2,32 [1,00;4,48] ¹
	90		1,85 [1,46;2,64] ¹	1,44 [1,07;2,04] ¹
СРБ/Альб. (CAR)	Исх.	0,03 [0,01;0,05]	0,06 [0,03;0,14] ¹	0,12 [0,05;0,24] ¹
	14		0,16 [0,04;0,65] ¹	0,13 [0,04;0,27] ¹
	90		0,09 [0,05;0,11] ¹	0,07 [0,05;0,17] ¹
Лф/Мон (LMR)	Исх.	3,81 [3,31;4,90]	3,44 [2,68;4,36]	3,47 [2,56;4,72]
	14		3,22 [2,68;4,34] ¹	3,32 [2,13;4,22] ¹
	90		3,15 [2,40;3,77] ¹	3,08 [2,38;4,49] ¹
Тр/Мон	Исх.	440,68 [384,61;607,48]	354,49 [293,02;515,90] ¹	368,76 [285,16;486,82] ¹

Показатели	Время наблюдения	Контроль (n=27)	группа I (37/34/20) Обострений ≤1/год	группа II (55/53/25) Обострений ≥2/год
	14		269,71 [242,58;431,21] ¹	333,33 [225,74;455,48] ¹
	90		352,00 [294,55;431,69] ¹	342,77 [292,71;388,89] ¹
Эоз/Лф (ELR)	Исх.	0,061 [0,047;0,104]	0,060 [0,025;0,110]	0,075 [0,031;0,115]
	14		0,088 [0,054;0,131]	0,057 [0,026;0,095] ²
	90		0,123 [0,071;0,163] ¹	0,074 [0,046;0,179]
Нф/Эоз (NER)	Исх.	28,20 [16,99;40,00]	28,71 [18,25;84,19]	28,26 [16,15;66,13]
	14		27,12 [15,28;43,54]	35,80 [18,52;119,80] ¹
	90		18,58 [10,33;51,13]	30,82 [14,37;47,44]

Примечание. $p < 0,05$ при сравнении групп пациентов:

¹ — vs «контроль»;

² — «редкие обострения» vs «частые обострения».

Индекс системного воспалительного ответного (SIRI), включающий моноцитарный компонент, отражает активность моноцитарно-макрофагального звена. Моноциты участвуют в формировании деструктивных изменений легочной ткани при ХОБЛ [1]. Стабильное повышение SIRI у пациентов обеих групп подтверждает, что моноцитарное воспаление является фундаментальной характеристикой заболевания и не зависит от частоты обострений. Различий между группами с частыми и редкими обострениями по SIRI нет ни в один из периодов наблюдения. При оценке динамики SIRI между 14-м и 90-м днём наблюдения выявлено статистически значимое различие в направлении изменений между группами. В группе с редкими обострениями медиана $\Delta(90-14)$ составила +0,41, что означает рост данного показателя у пациентов через три месяца от начала обострения. В группе пациентов с частыми обострениями медиана $\Delta(90-14)$ составила -0,61, что свидетельствует о снижении данного коэффициента (таблица 3).

Таблица 3

Анализ динамики клеточных соотношений (разности значений Δ между временными точками) у пациентов с ХОБЛ на разных этапах наблюдения

Показатель	Период изменений	группа I (34/20/20) Обострений ≤1/год	группа II (53/25/24) Обострений ≥2/год
Нф/Лф (NLR)	Δ (14д - исх)	-0,13 [-0,71;+0,47]	0,17 [-0,36;+0,91]
	Δ (90д - исх)	-0,06 [-0,64;+0,97]	-0,21 [-0,78;+0,39]
	Δ (90д - 14д)	-0,18 [-0,58;+0,62]	-0,42 [-1,27;+0,63]
Нф×Тр/Лф (SII)	Δ (14д - исх)	-56,54 [-251,67;+149,73]	34,19 [-158,92;+247,15]
	Δ (90д - исх)	-19,05 [-191,63;+380,46]	-71,68 [-154,34;+48,94]
	Δ (90д - 14д)	25,92 [-122,66;+285,03]	-65,70 [-434,61;+258,18]
Нф х Мон/Лф (SIRI)	Δ (14д - исх)	-0,04 [-1,04;0,92]	+0,34 [-0,28;+2,04]
	Δ (90д - исх)	+0,53 [-1,00;+1,12]	-0,12 [-0,86;+0,50]
	Δ (90д - 14д)	+0,41 [-0,25;+1,27]	-0,61 [-2,22;+0,44] ¹
СРБ/Альб. (CAR)	Δ (14д - исх)	+0,03 [-0,04;+0,31]	-0,01 [-0,11;+0,08]
	Δ (90д - исх)	-0,03 [-0,15;+0,07]	-0,04 [-0,14;+0,07]
	Δ (90д - 14д)	-0,14 [-0,80;+0,04]	-0,01 [-0,19;+0,15]

Показатель	Период изменений	группа I (34/20/20) Обострений $\leq 1/\text{год}$	группа II (53/25/24) Обострений $\geq 2/\text{год}$
Лф/Мон (LMR)	Δ (14д - исх)	+0,01 [-0,92;+0,51]	-0,47 [-1,15;+0,45]
	Δ (90д - исх)	-0,80 [-1,30;+0,09]	-0,35 [-0,96;+0,01]
	Δ (90д - 14д)	-0,51 [-1,62;+0,25]	+0,04 [-0,27;+0,61]
Тр/Мон	Δ (14д - исх)	-83,35 [-144,03;-3,61]	-65,08 [-138,73;-0,00]
	Δ (90д - исх)	+31,01 [-80,84;+130,30]	-59,99 [-124,43;+6,99]¹
	Δ (90д - 14д)	-412,94 [-570,31;-222,35]	+36,37 [+14,31;+94,68]¹
Эоз/Лф (ELR)	Δ (14д - исх)	+0,005 [-0,009;+0,047]	-0,096 [-0,883;+0,370]
	Δ (90д - исх)	+0,007 [-0,016;+0,035]	+0,054 [-0,805;+0,583]
	Δ (90д - 14д)	+0,013 [-0,054;+0,0596]	+0,248 [-0,192;+0,939]¹
Нф/Эоз (NER)	Δ (14д - исх)	-3,11 [-58,47;+3,54]	- 1,33 [-19,46;+37,77]
	Δ (90д - исх)	-4,42 [-27,80;+6,80]	-3,49 [-23,91;+13,36]
	Δ (90д - 14д)	-0,56 [-9,39;+19,87]	-5,75 [-32,10;+9,16]

Примечание. 1 – сравнение между группами 1 и 2 в соответствующий период наблюдения (Mann-Whitney U-test, $p < 0,05$)

Динамические изменения SIRI у пациентов с редкими обострениями в анамнезе указывают на затяжное моноцитарное воспаление и неполное разрешение системного воспалительного ответа даже через 3 месяца после начала лечения обострения. Учитывая, что моноциты/макрофаги играют ключевую роль в ремоделировании дыхательных путей и эмфиземе [2]. Их персистирующая активация у этой группы может отражать более медленное восстановление и/или склонность к хроническому прогрессированию, несмотря на редкие обострения. У пациентов с частыми обострениями, напротив, наблюдается повышение SIRI на через 14 дней и резкое снижение с 14-го до 90-го дня наблюдения. Относительно быстрое снижение этого маркера может быть связано с лучшей чувствительностью данных пациентов на проводимую комплексную терапию либо особенностями течения иммунного ответа у пациентов с ХОБЛ с частыми обострениями в анамнезе.

Маркер острофазового ответа - САР, отражает баланс между воспалением (СРБ) и нутритивным статусом (альбумин) пациентов. Его стойкое повышение в обеих группах пациентов по сравнению с контрольными значениями даже через 90 дней свидетельствует о хроническом низкоинтенсивном воспалительном процессе.

Маркер иммунной дисрегуляции LMR в период обострения не отличается от контрольных значений у пациентов с ХОБЛ, а вот дальнейшее снижение отношения лимфоцитов к моноцитам отражает развитие относительной лимфопении (иммуносупрессию) и/или активацию моноцитарного звена. Отсутствие статистически значимых различий данного показателя между пациентами с частыми и редкими обострениями свидетельствует о том, что именно наличие ХОБЛ и проводимая терапия, а не количество обострений в анамнезе определяют развитие данных изменений, которые сохраняются в течение трех месяцев после купирования воспаления.

Соотношение Тр/Мон значимо снижен у всех пациентов с ХОБЛ во все сроки наблюдения по сравнению с контролем. Наиболее низкие значения зафиксированы на 14-е сутки в группе пациентов с редкими обострениями 269,71 [242,58;431,21]. Однако различий между группами I и II по Тр/Мон не обнаружено ни в один из периодов. Снижение отношения тромбоцитов к моноцитам может отражать повышенное потребление тромбоцитов на фоне системного воспаления, либо активацию моноцитарного звена.

Анализ динамики соотношения Тр/Мон у пациентов с ХОБЛ показал его уверенное снижение в первые 14 дней развития обострения в обеих группах наблюдения. Однако через 90 дней направленность изменений различается статистически значимо. В группе I (редкие обострения) отмечается значимое снижение (медиана изменений составила -412,94). В группе II (частые обострения) наблюдается рост (медиана изменений составила +34,36). Через 3 месяца от начала обострения по сравнению с исходными показателями в группе I (редкие обострения) отмечается незначимый рост (медиана изменений составила +31,01). В группе II (частые обострения) наблюдается тенденция к снижению (медиана изменений составила -59,99, таблица 3).

Таким образом, принимая во внимание изменения соотношения Тр/Мон у пациентов с ХОБЛ с редкими обострениями, можно сказать, что воспалительный процесс и связанная с ним активация гемостаза сохраняются значительно дольше, чем у пациентов с частыми обострениями, что может являться обоснованием к более длительному и тщательному наблюдению (особенно за состоянием гемостаза), а также к проведению более продолжительной противовоспалительной терапии.

Соотношения ELR и NER являются маркерами, отражающими баланс между нейтрофильным и эозинофильным звеньями воспаления, и могут использоваться для косвенной оценки фенотипа воспаления (нейтрофильное или эозинофильное) у пациентов с ХОБЛ. Отсутствие статистически значимых различий между значениями данных соотношений у пациентов разных групп исследования свидетельствует о схожести процессов в начале обострения.

Через 14 дней от начала наблюдения (период обострения) отмечаются статистически значимые различия между группой I и группой II в уровне ELR ($p < 0,05$). Различия в ELR указывают на разные иммуновоспалительные фенотипы у пациентов с частыми и редкими обострениями, что, в свою очередь, может обуславливать разную эффективность стандартной терапии и на применение ингаляционных и/или системных глюкокортикостероидов в этих группах.

Анализ динамики ELR показал, что статистически значимых изменений внутри групп пациентов с ХОБЛ за период наблюдения не выявлено (все доверительные интервалы включают ноль). Однако обнаружено статистически значимое различие между группами по изменению соотношения между 14-м и 90-м днём наблюдения (Δ (90-14), $p < 0,05$): в группе I (редкие обострения): +0,013 [-0,054; +0,060], в группе II (частые обострения): +0,248 [-0,192; +0,939]. Таким образом, у пациентов с редкими обострениями ELR остаётся стабильным на протяжении всего периода наблюдения. У пациентов с частыми обострениями

отмечается тенденция к более выраженному росту ELR в позднем восстановительном периоде, однако из-за высокой вариабельности данных (широкий доверительный интервал) эта тенденция не достигает статистической значимости внутри группы. Выявленное межгрупповое различие в динамике ELR требует дальнейшего изучения в более крупных выборках.

Выводы. В результате обобщения полученных результатов можно сказать, что использование клеточных соотношений позволяет подтвердить наличие хронического системного воспаления у всех пациентов с ХОБЛ независимо от частоты обострений: исходные значения NLR, SIRI и CAR были статистически значимо выше, чем в контроле ($p < 0,05$).

Различия между группами пациентов с разной частотой обострений в анамнезе определяются динамикой соотношений, а не исходными значениями. Через 3 месяца от начала наблюдения у пациентов с редкими обострениями ($\leq 1/\text{год}$) NLR увеличивается, тогда как у пациентов с частыми обострениями ($\geq 2/\text{год}$) NLR снижается до уровня контрольных значений. Обнаружено статистически значимое различие в динамике SIRI между группами в интервале с 14-го до 90-го дня наблюдения ($p < 0,05$): у пациентов с редкими обострениями отмечается рост показателя SIRI с 14-го до 90-го дня наблюдения ($\Delta +0,41$), а у пациентов с частыми обострениями — снижение ($\Delta - 0,61$).

У пациентов с редкими обострениями воспалительный процесс и активация гемостаза сохраняются минимум 3 месяца после обострения: динамика Тр/Мон характеризуется прогрессирующим снижением ($\Delta 90-14 = -412,94$).

Уровень ELR через 14 дней наблюдения был статистически значимо ниже у пациентов с частыми обострениями по сравнению с группой редких обострений ($p < 0,05$), что указывает на разные иммуновоспалительные фенотипы и может обуславливать разный ответ на глюкокортикостероиды.

Динамический мониторинг показателей (NLR, SIRI, Тр/Мон, ELR, CAR, LMR) позволяет выявить затяжное воспаление, оценить эффективность терапии, стратифицировать пациентов по фенотипу и персонализировать тактику лечения.

Список литературы

1. Inflammatory and Immune Mechanisms in COPD: Current Status and Therapeutic Prospects / Yanan Qi, Yuanyuan Yan, Dawei Tang etc. // Journal of Inflammation Research. – 2024. – Vol.17. – p. 6603–6618
2. Predictive role of neutrophil percentage-to-albumin ratio, neutrophil-to-lymphocyte ratio, and systemic immune-inflammation index for mortality in patients with MASLD / Kaixuan Dong, Ya Zheng, Yuping Wang // Scientific Reports. – 2024. – Vol. – 14. – p.30403-30413
3. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: 2024 Report.

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РЕЦИДИВА ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА
ЛЕГКОГО НА ОСНОВАНИИ ДИНАМИКИ УРОВНЯ CXCR2 В
ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ**

Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Галуза А.А.

Таганович А.Д.

*Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
ataganovich@gmail.com*

Ковганко Н.Н.

*Кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой общей химии УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
KauhankaMM@bsmu.by*

Галуза А.А.

*Студент педиатрического факультета УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
artemgaluza3@gmail.com*

Представлены результаты исследования, посвящённого оценке возможности использования изменений уровня рецептора CXCR2 в клетках периферической крови для предсказания послеоперационного рецидива у больных плоскоклеточным раком лёгкого I–II стадии. Обследовано 32 пациента. Концентрацию CXCR2 определяли до лечения, а также через 3 недели, 3 и 6 месяцев после хирургического вмешательства. Установлено, что при развитии рецидива наблюдается нарастание уровня CXCR2 на лимфоцитах в первые полгода после операции. У пациентов без возврата заболевания данный показатель после лечения снижался до нормальных значений и оставался стабильным. Диагностическая эффективность метода варьирует от 68 до 86 % в зависимости от сроков забора крови. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования динамики CXCR2 для контроля эффективности лечения.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак лёгкого; рецидив заболевания; биомаркер; CXCR2; лимфоциты; кровь; ROC-анализ

PREDICTION OF SQUAMOUS CELL LUNG CANCER RECURRENCE BASED ON DYNAMICS OF CXCR2 LEVEL ON BLOOD LYMPHOCYTES

Tahanovich A.D.

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Biological Chemistry,
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
ataganovich@gmail.com*

Kauhanka M.M.

*PhD (Chemistry), Associate Professor, Head of the Department of General Chemistry,
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
KauhankaMM@bsmu.by*

Galuz A.A.

*student, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
artemgaluza3@gmail.com*

The article presents the results of a study evaluating the feasibility of using changes in the CXCR2 receptor level in peripheral blood cells to predict postoperative relapse in patients with stage I–II squamous cell lung carcinoma. A total of 32 patients were examined. CXCR2 levels were measured before treatment, as well as at 3 weeks, 3 months and 6 months after surgery. It was found that in relapsing patients, CXCR2 expression on lymphocytes increased during the first six months after surgery. In relapse-free patients, this parameter decreased to normal values after treatment and remained stable. The diagnostic efficiency of the method ranges from 68 % to 86 % depending on the timing of blood sampling. The obtained data indicate the promise of using CXCR2 dynamics for treatment efficacy monitoring.

Key words: *squamous cell lung cancer; disease recurrence; biomarker; CXCR2; lymphocytes; blood; ROC-analysis*

Рак лёгкого на протяжении последних десятилетий остаётся одной из ведущих причин смертности от злокачественных новообразований в мире [1-3]. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно регистрируется более 2,2 миллиона новых случаев этого заболевания, а число летальных исходов превышает 1,8 миллиона в год. Несмотря на определённые успехи в ранней диагностике и развитии хирургических методов лечения, прогноз при раке лёгкого остаётся неблагоприятным, что обусловлено высокой агрессивностью опухолевого процесса, склонностью к метастазированию и частым выявлением уже на поздних стадиях [4-7].

Гистологическая структура рака лёгкого неоднородна [8,9]. Приблизительно 85 % всех случаев приходится на немелкоклеточный рак лёгкого (НМРЛ). Внутри этой группы наиболее распространёнными подтипами являются плоскоклеточный рак лёгкого (ПКРЛ), который составляет около 40 % случаев, и аденокарцинома (АК), встречающаяся примерно у 50 % пациентов. ПКРЛ характеризуется тесной связью с курением, преобладанием среди мужчин старших возрастных групп и склонностью к центральному росту с ранней обтурацией

бронхов. Эти особенности делают его клинически значимым объектом для поиска специфических биомаркеров.

Ключевым фактором, определяющим успех лечения пациентов с ПКРЛ, является своевременное выявление первичной опухоли. При I–II стадиях заболевания возможно радикальное хирургическое удаление новообразования, что значительно повышает пятилетнюю выживаемость. Однако даже после полного удаления опухоли и проведённой лимфодиссекции сохраняется риск рецидива. Согласно имеющимся данным, при I стадии частота возврата заболевания в течение первого года после операции может достигать 20 %, а при II стадии — ещё выше. Наиболее вероятной причиной этого является наличие скрытых микрометастазов, которые не выявляются при рутинном дооперационном обследовании, но впоследствии обуславливают рост метастатических очагов.

В связи с этим одной из актуальных задач современной онкологии становится поиск надежных лабораторных маркеров, позволяющих не только оценить эффективность проведённого лечения, но и с достаточной точностью предсказать риск развития рецидива в ранние сроки после операции. Идеальный маркер должен определяться минимально инвазивным способом (например, в образце периферической крови), обладать высокой чувствительностью и специфичностью, а также демонстрировать динамику, опережающую клинические и рентгенологические признаки возврата заболевания.

В последние годы внимание исследователей привлекают хемокиновые рецепторы, участвующие в процессах опухолевой прогрессии, ангиогенеза и метастазирования [10–14]. Одним из таких рецепторов является CXCR2 — мембранный белок, ассоциированный с G-белком, который связывается с несколькими хемокинами, включая CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6 и CXCL8. Связывание лиганда с CXCR2 запускает внутриклеточные сигнальные каскады, активирующие митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК), фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K) и другие пути, что в конечном итоге стимулирует пролиферацию, миграцию и выживаемость опухолевых клеток, а также способствует рекрутированию иммунных клеток в микроокружение новообразования.

Данные об экспрессии CXCR2 при злокачественных новообразованиях лёгкого противоречивы. В ряде исследований показано, что повышение уровня CXCR2 в опухолевой ткани коррелирует с распространённостью процесса, метастазированием в регионарные лимфатические узлы и неблагоприятным прогнозом [10,11]. При этом часть работ была выполнена на смешанных популяциях НМРЛ, без отдельного анализа для ПКРЛ и АК. В других публикациях, напротив, не выявлено статистически значимой связи между экспрессией CXCR2 и клинико-патологическими характеристиками при ПКРЛ, либо отмечено, что высокий уровень CXCR2 ассоциирован с лучшей выживаемостью [12–14]. Кроме того, большинство имеющихся работ выполнено на операционном материале (ткани опухоли) и не касается динамического наблюдения за пациентами после лечения. Сведения об изменении уровня CXCR2 в клетках периферической крови у больных ПКРЛ в процессе послеоперационного наблюдения до настоящего времени отсутствовали.

Таким образом, представленное исследование направлено на восполнение этого пробела. Целью работы явилось изучение возможности использования динамики уровня процентного содержания рецептора CXCR2 на различных субпопуляциях клеток крови для предсказания возврата заболевания в течение первого года после проведённого лечения у пациентов с I–II стадиями плоскоклеточного рака лёгкого.

Материалы и методы. Исследование проведено на базе государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова» (п. Лесной, Минский район). Включено 32 пациента с впервые диагностированным ПКРЛ I–II стадии. Из них 21 человек — мужчины, 11 — женщины. Средний возраст обследованных составил $58 \pm 20,5$ года. Распределение по стадиям: I стадия — 11 пациентов (34,4 %), II стадия — 21 пациент (65,6 %). Поражение регионарных лимфатических узлов (N1) выявлено у 21 больного (65,6 %), отсутствие метастазов в лимфоузлах (N0) — у 11 (34,4 %). Распространённость первичной опухоли: T1 — 7 (23,4 %), T2a — 12 (34,8 %), T2b — 10 (28,8 %), T3 — 3 (9,4 %). Степень дифференцировки: высокодифференцированные (G1) — 3 (9,4 %), умеренно дифференцированные (G2) — 19 (59,4 %), низкодифференцированные (G3) — 9 (28,1 %). Локализация опухоли: правое лёгкое — у 11 пациентов (34,4 %), левое — у 21 (65,6 %). Информация о рецидивах получена из базы данных Канцер-регистра Республики Беларусь. Все участники подписали письменное информированное согласие.

Измерение уровня рецептора CXCR2 в клетках крови выполняли до начала лечения, через 3 недели, 3 и 6 месяцев после операции. Использовали проточный цитофлуориметр Perlont 2060 (КНР). Образец крови объёмом 100 мкл инкубировали со смесью антител CD45-APC и CXCR2-PE (суммарно 5 мкл) в течение 15 минут в тёмном помещении, после чего добавляли лизирующий раствор для подготовки образца.

Статистическую обработку проводили с помощью программы «Medcalc» (Medcalc Inc., Бельгия). Диагностическую значимость параметров оценивали методом ROC-анализа с расчётом площади под ROC-кривой (AUC). Пороговое значение определяли как точку оптимального сочетания чувствительности и специфичности. Критический уровень значимости принимали равным 5 %.

Результаты исследования. В ходе работы установлено, что у пациентов с ПКРЛ уровень CXCR2 на моноцитах и гранулоцитах не демонстрировал значимых изменений в зависимости от исхода лечения. Статистически значимая динамика выявлена исключительно на лимфоцитах.

У пациентов, у которых впоследствии развился рецидив заболевания, после операции отмечалось первоначальное снижение уровня CXCR2 на лимфоцитах (однако в большинстве случаев оно не достигало порогового значения, характерного для здоровых лиц), а затем постепенное нарастание этого показателя. У пациентов без возврата болезни уровень CXCR2 на лимфоцитах снижался после лечения и в дальнейшем оставался стабильным, не превышая порога 10,5 %.

Был проведён детальный анализ изменений процентного содержания CXCR2-положительных лимфоцитов в трёх временных интервалах: от 3 недель до 3 месяцев, от 3 до 6 месяцев, а также от 3 недель до 6 месяцев после операции.

Наибольшая разница зарегистрирована при сравнении крайних сроков (3 недели — 6 месяцев) и составила 7,10 % [7,01; 7,68] с достоверными отличиями между всеми соседними временными точками.

Для оценки диагностической ценности вычисленных разностей выполнен ROC-анализ. При сравнении показателей через 3 недели и 3 месяца пороговое значение составило 2,82 %, чувствительность — 66,7 %, специфичность — 68,9 %, общая эффективность — 68,4 %. При сопоставлении данных через 3 и 6 месяцев порог — 4,20 %, чувствительность — 75,0 %, специфичность — 71,1 %, эффективность — 71,9 %. Наибольшая диагностическая эффективность (86,0 %) достигнута при сравнении результатов, полученных через 3 недели и 6 месяцев после операции: порог 7,05 %, чувствительность 83,3 %, специфичность 86,7 %.

Обсуждение. Рецептор CXCR2 относится к семейству семитрансмембранных рецепторов, ассоциированных с G-белком (молекулярная масса около 40 кДа). Его структура включает три внутриклеточные и три внеклеточные петли, а также N-концевой и C-концевой домены. При связывании с лигандами CXCR2 активирует внутриклеточные сигнальные каскады (мобилизация кальция, активация митоген-активируемых протеинкиназ, синтез транскрипционных факторов), что приводит к усилению пролиферации, хемотаксиса и дифференцировки клеток.

В литературе имеются противоречивые сведения об экспрессии CXCR2 при злокачественных новообразованиях. В ряде работ показана повышенная концентрация этого рецептора в опухолевой ткани, коррелирующая с распространённостью процесса и метастазированием. В других исследованиях, напротив, выявлена связь высокой экспрессии CXCR2 с лучшей выживаемостью. При аденокарциноме лёгкого увеличение CXCR2 ассоциировано с низкой дифференцировкой и поражением лимфоузлов, тогда как при ПКРЛ подобной закономерности не обнаружено. До настоящего исследования данные об измерении CXCR2 в крови пациентов с ПКРЛ с прогностической целью отсутствовали.

Наше исследование впервые показывает, что динамика уровня CXCR2 в лимфоцитах периферической крови может служить информативным маркером для выявления послеоперационного рецидива при ПКРЛ ранних стадий. Отличительной особенностью работы является проспективный характер наблюдения с серийным взятием крови в четырёх временных точках, что позволило зафиксировать разнонаправленное поведение маркера в группах с рецидивом и без него. Уже через три месяца после лечения (при сопоставлении результатов через 3 недели и 3 месяца) эффективность предсказания достигает 68 %, что даёт потенциальную возможность для более раннего инструментального обследования пациентов из группы риска.

Заключение. На основании полученных данных сформулированы следующие выводы:

1. Уровень процентного содержания рецептора CXCR2 в лимфоцитах периферической крови может быть использован в качестве дополнительного критерия для выявления послеоперационного рецидива у пациентов с плоскоклеточным раком лёгкого I–II стадии.

2. Диагностическая эффективность данного метода в зависимости от сроков исследования варьирует от 68 до 86 %, что делает его приемлемым для клинического применения на этапе раннего наблюдения.

Список литературы

1. Non-small-cell lung cancers: a heterogeneous set of diseases / Z. Chen, C. M. Fillmore, P. S. Hammerman [et al.] // *Nature Reviews Cancer*. – 2014. – Vol. 14, № 8. – P. 535-546. – DOI: 10.1038/nrc3775.
2. Ha H. Role of the CXCL8-CXCR1/2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases / H. Ha, B. Debnath, N. Neamati // *Theranostics*. – 2017. – Vol. 7, № 6. – P. 1543-1588. – DOI: 10.7150/thno.15625.
3. CXCL5 induces tumor angiogenesis via enhancing the expression of FOXD1 mediated by the AKT/NF- κ B pathway in colorectal cancer / C. Chen, Z. Xu, Y. Zong [et al.] // *Cell Death & Disease*. – 2019. – Vol. 10, № 3. – P. 178. – DOI: 10.1038/s41419-019-1431-6.
4. Differential activation and regulation of CXCR1 and CXCR2 by CXCL8 monomer and dimer / M. W. Nasser, S. K. Raghuwanshi, D. J. Grant [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2009. – Vol. 183, № 5. – P. 3425-3432. – DOI: 10.4049/jimmunol.0901165.
5. The expression and prognostic impact of CXC-chemokines in stage II and III colorectal cancer epithelial and stromal tissue / O. Oladipo, S. Conlon, A. O'Grady [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2011. – Vol. 104, № 3. – P. 480-487. – DOI: 10.1038/sj.bjc.6606055.
6. Expression characteristic of CXCR1 in different breast tissues and the relevance between its expression and efficacy of neo-adjuvant chemotherapy in breast cancer / M. Q. Xue, H. M. Zhao, Z. H. Xu [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, № 30. – P. 48930-48937. – DOI: 10.18632/oncotarget.16893.
7. Chu H. C-X-C motif chemokine receptor type 2 correlates with higher disease stages and predicts worse prognosis, and its downregulation enhances chemotherapy sensitivity in triple-negative breast cancer / H. Chu, W. Li, H. Li // *Translational Cancer Research*. – 2020. – Vol. 9, № 2. – P. 840-848. – DOI: 10.21037/tcr.2019.12.49.
8. Interleukin-8 promotes cell migration via CXCR1 and CXCR2 in liver cancer / H. Bi, Y. Zhang, W. Wang [et al.] // *Oncology Letters*. – 2019. – Vol. 18, № 4. – P. 4176-4184. – DOI: 10.3892/ol.2019.10855.
9. CXCR1/2 antagonism with CXCL8/Interleukin-8 analogue CXCL8(3-72) K11R/G31P restricts lung cancer growth by inhibiting tumor cell proliferation and suppressing angiogenesis / M. N. Khan, B. Wang, J. Wei [et al.] // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6, № 25. – P. 21315-21327. – DOI: 10.18632/oncotarget.4322.
10. CXCR2 expression in tumor cells is a poor prognostic factor and promotes invasion and metastasis in lung adenocarcinoma / P. Saintigny, L. A. Massarelli, S. Lin [et al.] // *Cancer Research*. – 2013. – Vol. 73, № 2. – P. 571-582. – DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2362.
11. Association of chemokine and chemokine receptor expression with the invasion and metastasis of lung carcinoma / Y. Liu, K. Sun, G. Chen [et al.] // *Oncology Letters*. – 2015. – Vol. 10, № 3. – P. 1315-1322. – DOI: 10.3892/ol.2015.3448.
12. Loss of β -arrestin-2 and activation of CXCR2 correlate with lymph node metastasis in non-small cell lung cancer / L. Cong, Y. Liu, Z. Wang [et al.] // *Journal of Cancer*. – 2017. – Vol. 8, № 14. – P. 2785-2792. – DOI: 10.7150/jca.19968.
13. Interleukin-8/CXCL8 is a growth factor for human lung cancer cells / Y. M. Zhu, A. D. Lujambio, Y. T. Y. Lui [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2004. – Vol. 91, № 11. – P. 1970-1976. – DOI: 10.1038/sj.bjc.6602038.
14. CXCL5/CXCR2 axis in tumor microenvironment as potential diagnostic biomarker and therapeutic target / Y. Zhang, H. Wang, M. Sun [et al.] // *Cancer Communications*. – 2020. – Vol. 40, № 2-3. – P. 69-80. – DOI: 10.1002/cac2.12009.

ОТВЕТ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОГРАММЫ НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМНЫХ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Таганович А.Д., Рябцева Т.В., Ковганко Н.Н.

Таганович А.Д.

*Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
ataganovich@gmail.com*

Рябцева Т.В.

*Кандидат биологических наук, доцент, кафедра биологической химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
Ta-yana@yandex.ru*

Ковганко Н.Н.

*Кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
KauhankaMM@bsmu.by*

*В статье рассматривается эффективность системных глюкокортико-
стероидов (СГКС) при лечении обострений ХОБЛ в зависимости от частоты
обострений. Проведено исследование показателей гемограммы 87 пациентов с
ХОБЛ с разделением их на группы с частыми (≥ 2 в год) и редкими (≤ 1 в год)
обострениями. У пациентов с частыми обострениями СГКС эффективно сни-
жают маркеры воспаления (СРБ, СОЭ, эозинофилы) через 14 дней и способ-
ствуют долгосрочной нормализации показателей крови (лимфоциты, моно-
циты, нейтрофилы) через 90 дней. У пациентов с редкими обострениями СГКС
не влияют на ключевые маркеры системного воспаления (СРБ, СОЭ) и эозино-
филы, что может указывать на доминирование ГКС-нечувствительных меха-
низмов (например, вирусной инфекции). Таким образом, назначение СГКС не
оправдано при редких обострениях, тогда как при частых — может быть пер-
сонализированным подходом. Частота обострений может служить дополни-
тельным клиническим критерием для решения о целесообразности стероидной
терапии.*

Ключевые слова: *хроническая обструктивная болезнь легких, системы
глюкокортикоиды, обострения*

RESPONSE OF COMPLETE BLOOD COUNT PARAMETERS TO SYSTEMIC GLUCOCORTICOSTEROIDS IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Tahanovich A.D.

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Biological Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
ataganovich@gmail.com

Ryabtseva T.V.

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
Ta-yana@yandex.ru

Kauhanka M.M.

Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of General Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
KauhankaMM@bsmu.by

The article examines the efficacy of systemic glucocorticosteroids (SGCS) in the treatment of COPD exacerbations depending on the frequency of exacerbations. A study of complete blood count parameters was conducted in 87 patients with COPD, divided into groups with frequent (≥ 2 per year) and infrequent (≤ 1 per year) exacerbations. In patients with frequent exacerbations, SGCS effectively reduce markers of inflammation (CRP, ESR, eosinophils) after 14 days and promote long-term normalization of blood parameters (lymphocytes, monocytes, neutrophils) after 90 days. In patients with infrequent exacerbations, SGCS do not affect key markers of systemic inflammation (CRP, ESR) and eosinophils, which may indicate the dominance of GC-insensitive mechanisms (e.g., viral infection). Thus, the administration of SGCS is not justified in infrequent exacerbations, whereas in frequent exacerbations it may represent a personalized approach. The frequency of exacerbations may serve as an additional clinical criterion for deciding on the appropriateness of steroid therapy.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, systemic glucocorticosteroids, exacerbations

В отличие от стабильной ХОБЛ, острые обострения обычно лечатся пероральными или инфузионными системными глюкокортикостероидами (СГКС), такими как преднизолон [1]. Системная глюкокортикоидная терапия может сократить продолжительность острого обострения ХОБЛ, улучшить функцию легких и насыщение артериальной крови кислородом, снизить риск неэффективности лечения и сократить продолжительность пребывания в стационаре. Поэтому СГКС рекомендуются в качестве одного из препаратов для лечения острого обострения обструкции легких [2, 3].

Вместе с тем, результаты многочисленных исследований показали, что системная глюкокортикоидная терапия не приносит пользы всем пациентам с острым обострением ХОБЛ, а частота неудач такой терапии составляет 14,5–39 %,

что в основном проявляется в виде стойкого отсутствия улучшения или ухудшением симптомов заболевания [4,5]. Даже однократный курс СГКС при госпитализации пациента значительно повышает риск нежелательных явлений: остеопоротических переломов, катаракты, инфекции [6], венозной тромбоэмболии [7, 8], повышения уровня глюкозы крови и увеличения риска развития сахарного диабета [9]. Поэтому важной задачей является избежать неоправданного назначения СГКС. Для этого необходимы критерии, на основании которых СГКС назначались бы только тем пациентам, которым они принесут пользу.

Нами было предпринято исследование параметров общего анализа крови у пациентов с редкими и частыми обострениями ХОБЛ, принимавших и не принимавших СГКС в период лечения в специализированном стационаре по поводу обострения заболевания. Целью было обнаружение отличий у пациентов с частыми и редкими обострениями ХОБЛ, в результате приема СГКС.

Материалы и методы. Обследованы 87 пациентов с диагнозом ХОБЛ, поступившие в стационар государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии» в период с января 2025 года по апрель 2026 года (таблица 1) в связи с обострением заболевания. Диагноз ХОБЛ был установлен в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Все пациенты обследовались до начала стационарного лечения, а также спустя 14 и 90 суток. На основании данных анамнеза они были разделены на тех, у которых обострения были частыми (≥ 2 /год, группа 2) или редкими (≤ 1 /год, группа 1). О степени выраженности obstructивных изменений в легких судили, измеряя величину постдилатационного ОФВ₁ по стандартной методике, после приема сальбутамола.

В соответствии с действующим клиническим протоколом (утвержден МЗ РБ 13.03.2025г., № 31) пациентам с редкими и частыми обострениями ХОБЛ проводили лекарственную терапию. При обострении среднетяжелой степени или тяжелого течения, помимо стандартных препаратов, назначали системную терапию глюкокортикостероидами (Преднизолон 30-60 мг в/в, реже Дексаметазон 8 мг в/в) в течение 5-10 дней.

Группу контроля составили 27 человек без признаков патологии, сопоставимые с пациентами ХОБЛ по полу и возрасту.

Концентрацию клеток в образцах крови определяли на гематологическом анализаторе Sysmex ХЕ-5000 (Sysmex Group, Япония), уровень С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови - на биохимическом анализаторе Abbot (Architest 1000, Германия) с использованием оригинальных наборов реагентов. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) определяли по методу Вестергрена.

Таблица 1

Общая характеристика пациентов, для лечения которых в период обострения использовались или не использовались СГКС

При поступлении в стационар по поводу обострения	Группа 1		Группа 2	
	СГКС	Без СГКС	СГКС	Без СГКС
Количество пациентов	36		51	
	20	16	30	21
Возраст, лет	64,0 [60,0;67,0]		64,0 [60,0;70,0]	
	63,0 [58,0;69,0]	65,0 [60,0;68,0]	66,0 [60,0;71,0]	63,0 [59,0;67,0]
Мужчины/женщины	32/4		43/8	
	17/3	15/1	26/4	17/4
Не курят/курят/курили, но бросили	5/21/10		9/23/19	
	4/9/7	1/12/3	2/15/13	7/8/6
Продолжительность госпитализаций, дней	25 [20;32]		25 [20;35]	
	26 [20;34]	23 [22;31]	29 [22;36]	21 [15;29]
ОФВ-1, %	47,5 [37,0;63,5]		38,0 [28,0;59,0]	
	46,0 [39,0;52,0]	50,0 [35,0;75,0]	33,0 [28,0;58,5]	44,0 [25,0;66,0]
ФЖЕЛ, %	76,5 [62,5;92,0]		72,0 [58,0;85,5]	
	75,0 [64,0;85,0]	85,5 [54,0;98,0]	72,5 [58,0;84,5]	70,0 [59,0;85,0]
Индекс Тиффно	0,53 [0,38;0,67]		0,46 [0,39;0,57]	
	0,44 [0,38;0,67]	0,55 [0,41;0,63]	0,44 [0,37;0,54]	0,52 [0,42;0,60]
SpO ₂ (спок. дыхание)	95 [93;96]		94 [92;95]	
	95 [92;96]	95 [94;96]	93 [92;95]	94 [93;96]

Данные анализировали непараметрическими методами статистики с использованием пакета Statistica 10.0. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха [25 %; 75 %]. Сравнение двух независимых выборок (группа 1 с СГКС vs группа 1 без СГКС и группа 2 с СГКС vs группа 1 с СГКС) проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни. Сравнение зависимых выборок (показателей через 0 vs 14, 0 vs 90 и 14 vs 90 суток) выполняли, используя критерий Уилкоксона (для парных сравнений). Для оценки динамики каждого показателя в трех временных точках (0-й, 14-е и 90-е сутки наблюдения) применяли ранговый дисперсионный анализа Фридмана. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. На 14-е сутки у пациентов с частыми обострениями, получавших СГКС, отмечались значимо более низкие значения уровня СРБ и СОЭ по сравнению с подгруппой без ГКС: СРБ — 3,0 мг/л [1,0; 8,5] vs 8,5 мг/л [3,85; 36,60] ($p < 0,05$); СОЭ — 19,0 мм/ч [11,5; 22,5] vs 25,0 мм/ч [18,0; 51,25] ($p < 0,05$). В группе редких обострений подобного различия не наблюдалось. Напротив, у получавших СГКС уровень СРБ был выше (12,5 мг/л vs 8,2 мг/л), хотя разница не достигла статистической значимости для всех сравнений (таблица 2).

Анализ моноцитов выявил иные закономерности. На 14-е сутки в группе частых обострений уровень моноцитов у пациентов, получавших СГКС, был значительно выше, чем у не получавших ГКС ($0,90 \times 10^9/\text{л}$ [0,73; 1,06] против $0,66 \times 10^9/\text{л}$ [0,54; 0,76], $p < 0,05$), что, вероятно, отражает исходно более тяжёлое обострение. В группе редких обострений достоверных различий не выявлено. При оценке динамики в интервале 90–14 суток в группе частых обострений у пациентов, получавших СГКС, зарегистрировано снижение моноцитов ($\Delta = -0,21$ [–0,36; –0,10]), тогда как у не получавших ГКС отмечен их рост ($\Delta = +0,10$ [–0,19; +0,21], $p < 0,05$).

Показатели тромбоцитов не демонстрируют статистически значимых различий на 14-е сутки ни в одной из групп. Однако при анализе динамики в группе редких обострений выявлено, что у пациентов, не получавших СГКС, произошло выраженное падение тромбоцитов в интервале от исхода до 14-х суток ($\Delta = -35,00 \times 10^9/\text{л}$ [–45,00; –14,50]), тогда как у получавших СГКС уровень тромбоцитов оставался стабильным ($\Delta = +0,80 \times 10^9/\text{л}$ [–24,00; +22,00], $p < 0,05$).

Ключевые различия обнаруживаются при анализе динамики лимфоцитов (%) в период с 14-х по 90-е сутки (Таблица 3). В группе 1 (редкие обострения) у пациентов без СГКС зарегистрировано выраженное падение лимфоцитов: $\Delta(90-14 \text{ сут}) = -11,38 \%$ [–18,62; –4,73]. У пациентов, получавших СГКС, напротив, отмечен рост лимфоцитов: $\Delta(90-14 \text{ сут}) = +2,73 \%$ [+0,13; +4,80] ($p < 0,05$ для сравнения с подгруппой без СГКС). В группе 2 (частые обострения) наблюдалась аналогичная закономерность: без СГКС — $\Delta = -2,90 \%$, с СГКС — $\Delta = +7,40 \%$.

Таким образом, при частых обострениях назначение СГКС ассоциируется с более эффективным купированием системного воспаления к 14-м суткам, тогда как при редких обострениях такой эффект не проявляется. Независимо от частоты обострений, приём СГКС ассоциируется с положительной динамикой лимфоцитов в восстановительном периоде, тогда как отсутствие ГКС сопровождается нарастанием лимфопении.

В обеих группах у пациентов, получавших СГКС, зарегистрировано значимое снижение лейкоцитов и нейтрофилов в интервале 14–90 суток. Например, в группе 2 разница уровня лейкоцитов через 90 сут после первого обследования по сравнению с 14 сут составила ($1 \times 10^9/\text{л}$) $-4,73$ [–4,73; –2,60], а нейтрофилов (%) – $-9,90$ [–16,40; +3,20].

В обеих группах у пациентов, получавших СГКС, зарегистрировано значимое снижение лейкоцитов и нейтрофилов в интервале 14–90 суток. Например, в группе 2 разница уровня лейкоцитов через 90 сут после первого обследования по сравнению с 14 сут составила ($1 \times 10^9/\text{л}$) $-4,73$ [–4,73; –2,60], а нейтрофилов (%) – $-9,90$ [–16,40; +3,20].

У пациентов без СГКС аналогичного снижения не наблюдалось (в ряде случаев отмечен даже рост показателей). Это указывает на то, что СГКС способствуют полному разрешению нейтрофильного воспаления, тогда как без СГКС воспалительный сдвиг может сохраняться или регрессировать медленнее.

На 14-е сутки у пациентов с частыми обострениями, получавших СГКС, уровень эозинофилов был значительно ниже, чем в подгруппе без СГКС: ($1 \times 10^9/\text{л}$) $0,10$ [0,03; 0,21] vs $0,25$ [0,15; 0,38]; (%) — $0,70$ [0,22; 1,64] против $3,08 \%$ [1,48;

5,45] ($p < 0,05$). Это соответствует известному фармакологическому эффекту ГКС и одновременно подтверждает, что в подгруппе без ГКС сохраняется эозинофильный фенотип воспаления, который потенциально мог бы быть мишенью для ГКС. В группе редких обострений подобного различия не выявлено.

В настоящем исследовании впервые проведен сравнительный анализ эффективности системных глюкокортикостероидов (СГКС) при обострении ХОБЛ в зависимости от фенотипа пациентов — с частыми (≥ 2 /год) и редкими (≤ 1 /год) обострениями. Под эффективностью подразумевалась способность лекарственной терапии, включавшей и не включавшей СГКС, ликвидировать или снижать отклонения параметров гемограммы, возникших в ходе обострения в начале наблюдения. Полученные результаты свидетельствуют о том, что реакция на СГКС не является универсальной, а ключевые гематологические маркеры демонстрируют дивергентную динамику в этих двух группах. Это открывает возможности для персонализации терапии.

Наши данные впервые показывают, что чувствительность к противовоспалительному действию СГКС (по маркерам СРБ/СОЭ) выше именно у пациентов с фенотипом частых обострений. Напротив, отсутствие значимого снижения СРБ у пациентов с редкими обострениями на фоне СГКС позволяет предположить, что в патогенезе обострения у этой группы доминируют ГКС-нечувствительные механизмы (например, вирусная инфекция или нейтрофильное воспаление, не связанное с эозинофильным фенотипом). Преднизолон может не давать преимущества перед плацебо у пациентов с ХОБЛ в период обострения [10]. Это позволяет усомниться в обоснованности рутинного назначения СГКС при редких обострениях.

Суммируя полученные результаты, можно предположить, что частые обострения могут отражать стероидочувствительный воспалительный эндотип, возможно, характеризующийся эозинофильным воспалением или воспалением дыхательных путей 2-го типа. Если это подтвердится в более крупных проспективных исследованиях, частота обострений может дополнить уровень эозинофилов в крови в качестве простого и легкодоступного клинического инструмента для определения тактики кортикостероидной терапии при обострениях ХОБЛ.

Выводы:

1. У пациентов с частыми обострениями (≥ 2 в год) использование в схеме лекарственной терапии в период обострения СГКС через 14 суток после начала лечения сопровождается существенным снижением концентрации в крови СРБ, эозинофильных лейкоцитов и СОЭ, а также долгосрочной (через 90 суток) нормализацией лимфоцитов, моноцитов и нейтрофильных лейкоцитов.
2. У пациентов с редкими обострениями (≤ 1 раза в год) СГКС не влияют на ключевые маркеры системного воспаления (СРБ, СОЭ) и эозинофильные лейкоциты.
3. Относительно небольшой размер подгрупп при анализе на 90-е сутки требует подтверждения результатов в более крупных когортах. Тем не менее, выявленные закономерности являются устойчивыми и статистически значимыми.

Список литературы

1. Vogelmeier C.F., Criner G.J., Martinez F.J., Anzueto A., Barnes P.J., Bourbeau J., et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report. GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017; 195(5): 557–82. doi: 10.1016/j.arbres.2017.06.001.
2. Walters J.A., Tan D.J., White C.J., Gibson P.G., Wood-Baker R., Walters E.H. Systemic corticosteroids for acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014; 9:CD001288. doi: 10.1002/14651858.CD001288.pub3.
3. Vestbo J., Hurd S.S., Agustí A.G., Jones P.W., Vogelmeier C., Anzueto A., et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013; 187(4):347-65. doi: 10.1164/rccm.201204-0596PP.
4. Crisafulli E., Torres A., Huerta A., Guerrero M., Gabarrús A., Gimeno A., et al. Predicting In-Hospital Treatment Failure (≤ 7 days) in Patients with COPD Exacerbation Using Antibiotics and Systemic Steroids. *COPD.* 2016; 13(1):82-92. doi: 10.3109/15412555.2015.1057276.
5. Jones P. ACP journal club. Review: systemic corticosteroids reduce treatment failure but increase hyperglycemia in COPD exacerbations. *Ann Intern Med.* 2015; 162(6):JC6- JC7. doi: 10.7326/ACPJC-2015-162-6-006.
6. Sivapalan P., Ingebrigtsen T.S., Rasmussen D.B., Sørensen R., Rasmussen C.M., Jensen C.B., et al. COPD exacerbations: the impact of long versus short courses of oral corticosteroids on mortality and pneumonia: nationwide data on 67 000 patients with COPD followed for 12 months. *BMJ Open Respir Res.* 2019; 6(1): e000407. doi: 10.1136/bmjresp-2019-000407.
7. Walsh L.J., Wong C.A., Osborne J., Cooper S., Lewis S.A., Pringle M., et al. Adverse effects of oral corticosteroids in relation to dose in patients with lung disease. *Thorax.* 2001; 56(4): 279–84. doi: 10.1136/thorax.56.4.279.
8. Waljee A.K., Rogers M.A., Lin P., Singal A.G., Stein J.D., Marks R.M., et al. Short term use of oral corticosteroids and related harms among adults in the United States: population based cohort study. *Bmj.* 2017; 357: j1415. doi: 10.1136/bmj.j1415.
9. Abroug F., Ouanes-Besbes L., Fkih-Hassen M., Ouanes I., Ayed S., Dachraoui F., et al. Prednisone in COPD exacerbation requiring ventilatory support: an open-label randomised evaluation. *Eur Respir J.* 2014; 43(3):717-24. doi: 10.1183/09031936.00002913.
10. Ramakrishnan S. Prednisolone for COPD exacerbations: time for a rethink. *ERJ Open Res.* 2023;9(5):00464-2023. doi: 10.1183/23120541.00464-2023.

**ИОД КАК КАТАЛИЗАТОР МИХАЭЛЕВСКОГО ПРИСОЕДИНЕНИЯ
ИНДОЛА К α,β -НЕНАСЫЩЕННЫМ КАРБОНИЛЬНЫМ
СОЕДИНЕНИЯМ. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
ПОЛУЧЕННЫХ 3-ИНДОЛИЛКЕТОНОВ**

Сехина К.И., Мисюля Д.И., Минеева И.В.

Сехина К.И.

Студентка 5 курса специальности 1-31 05 02 Химия лекарственных соединений
УО «Белорусский государственный университет»,
г. Минск, Беларусь
sehina.k@list.ru

Мисюля Д.И.

магистр химических наук,
Аспирант 1-го года обучения специальности 02.00.03 органическая химия УО
«Белорусский государственный университет»,
стажер м.н.с.

сектора тонкого органического синтеза учреждения Белорусского государ-
ственного университета «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
d.misiulia@yandex.by

Минеева И. В.

Доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической химии
химического факультета УО «Белорусский государственный университет»,
Заведующий сектором тонкого органического синтеза учреждения Белорус-
ского государственного университета «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
i.mineyeva@yandex.ru

В данной статье рассмотрены особенности катализируемой иодом реак-
ции Михаэлевского присоединения индола к халконам, содержащим лабильное
циклопропановое кольцо; проанализировано влияние природы растворителя на
выход целевых β -индолилкетон. Авторами исследования показана эффектив-
ность использования 1,4-диоксана в качестве оптимальной среды для ряда хал-
конов; предложен метод синтеза новых соединений, в том числе с гем-дихлор-
циклопропановым фрагментом, а также проведена теоретическая оценка их
мембранной проницаемости с помощью онлайн-сервиса PerMM. В ходе исследо-
вания *in vitro* установлено, что некоторые из синтезированных веществ явля-
ются слабыми бактериостатиками в отношении *E. coli* и не проявляют актив-
ности в отношении *A. chroococcum*, *B. subtilis* и *B. mesentericus*.

Ключевые слова: индол; халкон; 3-индолилкетон; присоединение по Миха-
элю; расчеты *in silico*

IODINE AS A CATALYST FOR MICHAEL ADDITION OF INDOLE TO α,β -UNSATURATED CARBONYL COMPOUNDS. STUDY OF THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE RESULTING 3-INDOLYL KETONES

Sekhina K. I.

*5th-year student, specialty 1-31 05 02 Chemistry of Medicinal Compounds
educational institution "Belarusian State University",
Minsk, Belarus
sehina.k@list.ru*

Misiulia D. I.

*Master of Chemical Sciences,
First-year postgraduate student majoring in organic chemistry (02.00.03) at the Belarussian State University, Junior Researcher Intern
Sector of Fine Organic Synthesis at the Research Institute for Physical-Chemical Problems of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
d.misiulia@yandex.by*

Mineyeva I. V.

*Doctor of Chemical Sciences, Professor, Professor of the Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Belarusian State University
Head of the Fine Organic Synthesis Sector, Research Institute for Physical-Chemical Problems, Belarusian State University,
Minsk, Belarus
i.mineyeva@yandex.ru*

*This article examines the features of the iodine-catalyzed Michael addition reaction of indole to chalcones containing a labile cyclopropane ring and analyzes the effect of the solvent on the yield of target β -indolyl ketones. The authors demonstrate the effectiveness of 1,4-dioxane as an optimal medium for a number of chalcones. They also propose a method for synthesizing new compounds, including those with a gem-dichlorocyclopropane fragment, and conduct a theoretical evaluation of their membrane permeability using the PerMM online service. In vitro studies revealed that some of the synthesized compounds are weak bacteriostatic against *E. coli* and are inactive against *A. chroococcum*, *B. subtilis*, and *B. mesentericus*.*

Key words: *indole; chalcone; 3-indolyl ketone; Michael addition; in silico calculations*

Химия индолов остается одним из наиболее активно развивающихся направлений гетероциклической химии, а β -индолилкетоны являются важными строительными блоками для синтеза природных соединений, таких как гапалин-дол D. Для их получения разработаны методы присоединения индолов к α,β -ненасыщенным кетонам, однако многие из них обладают недостатками: использование сильнокислотных условий, дорогостоящих реагентов, длительное время реакции, низкие выходы и сложность выполнения. В связи с этим актуален поиск новых каталитических систем, отвечающих принципам «зеленой химии» [1].

Перспективным является применение молекулярного иода – недорогого и легкодоступного катализатора, который уже показал эффективность в аналогичных превращениях с халконами различного строения в различных растворителях, таких как EtOH, MeOH, CH₂Cl₂, CH₃CN, Et₂O и без растворителя, в толуоле и 1,2-дихлорэтано [1], [2].

Цель данного исследования – оценка роли иода как катализатора для проведения реакций михаэлевского присоединения индола к α,β-ненасыщенным карбонильным соединениям, содержащим лабильное циклопропановое кольцо, выявление факторов и закономерностей данного присоединения, прогноз некоторых биологических свойств полученных 3-индолилкетонов методами *in silico*, а также оценка их антибактериального потенциала в условиях *in vitro*.

Для оценки роли растворителя на результат реакции халконов и индола при катализе иодом была выбрана модельная реакция, схема которой приведена на рисунке 1. Подбор условий реакции представлен в таблице 1.

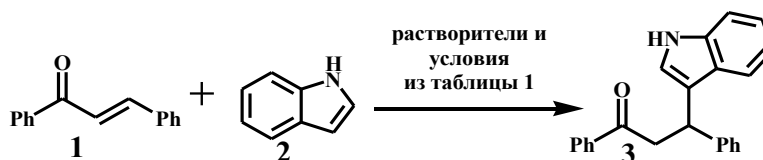


Рис. 1. Модельная реакции для изучения присоединения индола к халкону

Для халконов в качестве подходящего растворителя был выбран 1,4-диоксан и полученный результат был перенесен на ряд халконов, содержащих циклопропановый фрагмент **3-8** (рис. 2). Метод продемонстрировал широкую субстратную толерантность: с высокими выходами получены продукты присоединения для халконов, содержащих гем-дихлорциклопропановый фрагмент. Исключение составили соединения с метилкетонным и фурановым фрагментами, а также некоторые субстраты с акцепторными группами, склонные к образованию трудно-разделимых смесей.

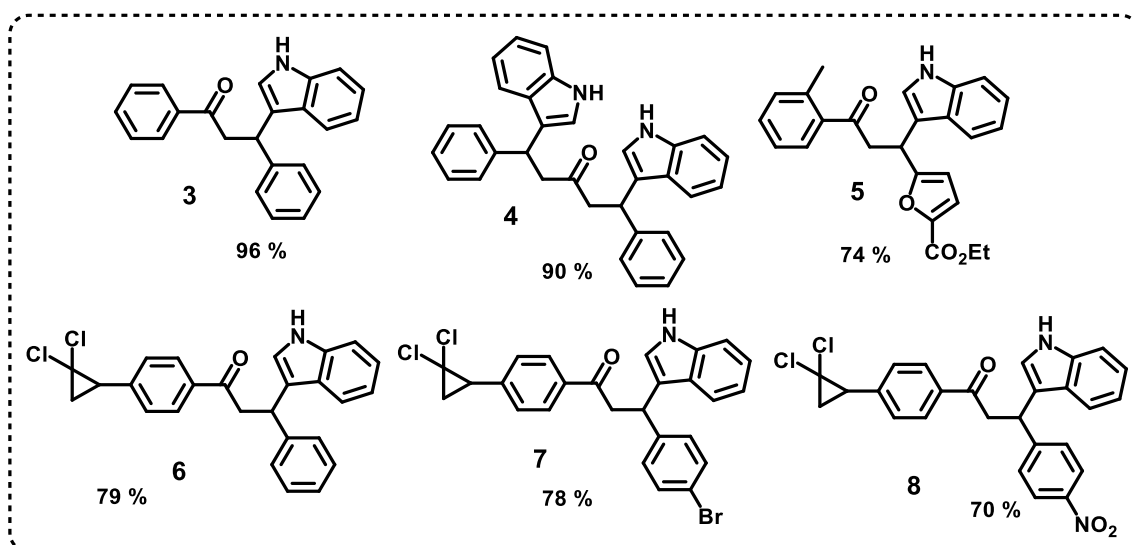


Рис. 2. Ключевые β-индолилкетоны **3-8**, синтезированные в данной работе

Структуры всех полученных в результате эксперимента соединений были подтверждены спектроскопическими методами ^1H и ^{13}C ЯМР.

В данном исследовании было установлено, что лучший результат для получения соединения **3** показал иод в ТГФ или 1,4-диоксане для полной конверсии (таблица 1).

Таблица 1

Результаты экспериментов для подбора оптимальных условий реакции между халконом **1** и индолом **2**

№ эксперимента	Растворитель	Температура, °C	Время, ч	Выход продукта 3 , %
1	Et_2O	20	12	80
2	ТГФ	20	12	88
3	1,4-диоксан	20	12	96
4	CH_3CN	20	12	82
5	1,2-дихлорэтан	20 ^a	12	78
6	CH_2Cl_2	20	12	62
7	MeOH	20 ^a	12	43
8	EtOH	20 ^a	12	37
9	<i>i</i> -PrOH	20 ^a	12	21
10	толуол	20 ^a	12	11
11	ДМСО	20	24	0
12	ДМФА	20	24	0
13	H_2O	20	24	0
14	AcOH	20 ^a	24	c ^b

Примечание. Во всех экспериментах использовали 0,5 ммоль халкона, 0,5 ммоль индола и 0,025 ммоль иода в 2 мл выбранного растворителя; ^a – повышение температуры приводило к трудноразделимым смесям продуктов; ^b – трудноразделимая смесь продуктов, в том числе олигомеризации индола.

В литературе редко описывают биологическую роль *гем*-дихлорциклопропанового фрагмента. Так, его присутствие может способствовать появлению противораковой активности, он встречается в таком лекарственном препарате, как ципрофибрат, используемого для лечения гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии. Также *гем*-дихлорпропановый фрагмент встречается в препарате капропамид, который находит применение в составе пестицидов для обработки риса [3].

С целью проведения предварительной теоретической оценки проходимости веществ **3–8** при помощи пассивной диффузии через фосфолипидный бислой черной искусственной липидной мембраны (BLM), гематоэнцефалический барьер (BBB) и клеточную мембрану аденокарциномы толстой кишки (Caco-2) был использован online-сервис PerMM [4]. Результаты представлены ниже (таблица 2). Как можно заметить, значения логарифмов коэффициентов проницаемости подавляющей части продуктов $\geq -4,35$ [4], что говорит нам о том, что данные соединения, могут оказаться в цитоплазме пассивным путем, чтобы в дальнейшем иметь вероятность участия во внутриклеточных процессах различной природы.

Таблица 2

Значения теоретически рассчитанной свободной энергии связывания и коэффициентов проницаемости соединений 3-8 для различных мембран (глюкоза и холестерин – контроль, pH = 7,4 и T = 37 °C)

Исходный субстрат	Свободная энергия связывания с мембраной, ккал/моль	Логарифм коэффициента проницаемости (BLM)	Логарифм коэффициента проницаемости (BBB)	Логарифм коэффициента проницаемости (Caco-2)
3	-8,15	4,02	-1,47	-2,45
4	-6,35	0,89	-2,58	-3,25
5	-5,97	1,37	-2,41	-3,13
6	-7,60	3,12	-1,80	-2,68
7	-6,89	3,36	-1,71	-2,62
8	-7,60	3,07	-1,81	-2,70
Глюкоза	-1,82	-10,44	-6,58	-6,15
Холестерин	-9,69	6,03	-0,77	-1,94

Для оценки биологических свойств полученных соединений 3-8 выращивали культуру *Azotobacter chroococcum* на безазотной твердой агаризованной (1,5 масс. %) питательной среде Эшби. Вещества растворяли в диметилсульфоксиде в концентрации 3 мг/мл, смачивали этими растворами диски из фильтровальной бумаги ($d = 6$ мм). Смоченные диски, в количестве 5 шт., выкладывали на засеянную азотобактером питательную среду. Результаты фиксировали на 5-е сутки культивирования при температуре 22–23°C. Установлено, что ни одно соединение не оказывает антибактериального действия на *A. chroococcum*.

Аналогичным образом изучали действие этих же соединений на бактерии *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* (рис. 3) и *Bacillus mesentericus*, но с использованием в качестве питательной среды 2%-го мясopептонного агара и диметилформамида в качестве растворителя (3 мг/мл). Учет результатов производили на 3-и сутки. Было определено, что анализируемые вещества, за исключением соединений 3 и 6, являются слабыми бактериостатиками по отношению к *E. coli* (таблица 3). Также установлено, что все полученные соединения не проявляют видимой антибактериальной активности по отношению к *B. subtilis* и *B. mesentericus*.

Таблица 3

Влияние исследуемых веществ на бактериальную культуру *E. coli*: антибактериальная активность и средний диаметр зон ингибирования

№	Антибактериальная активность	Средний диаметр зон ингибирования, мм
3	Отсутствует	–
4	Слабая бактериостатическая	8,8±0,40
5	Слабая бактериостатическая	8,4±0,50
6	Отсутствует	–
7	Слабая бактериостатическая	7,8±0,40
8	Слабая бактериостатическая	10,2±0,40
Доксициклин, 30 мкг/мл (контроль)	Сильная бактериостатическая	11,4±1,02

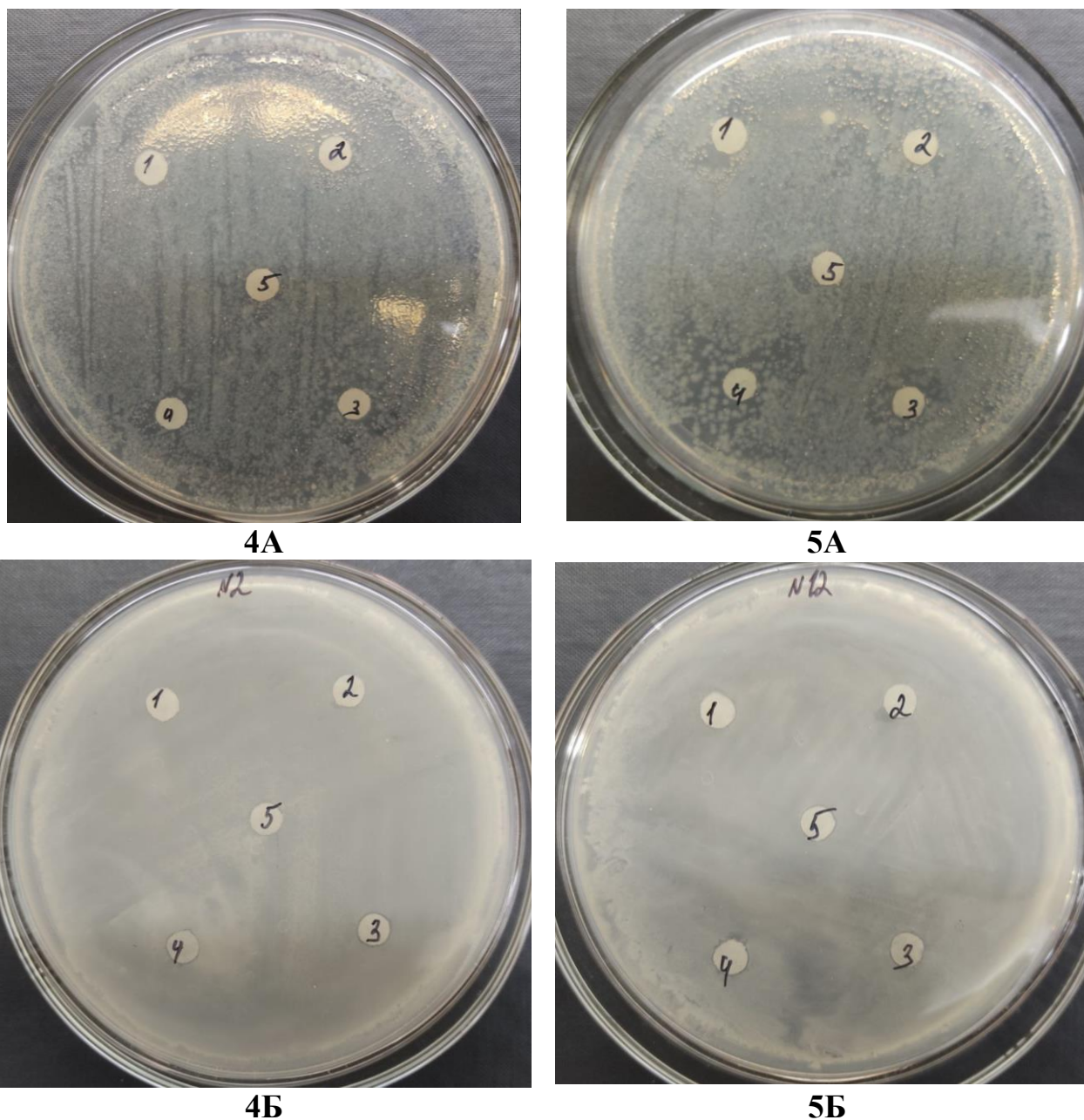


Рис. 3. Влияние тестируемых соединений 4 и 5 на рост культуры: А – *E. coli*, слабая бактериостатическая активность; Б – *B. subtilis*, отсутствие активности.

Действие некоторых веществ было отнесено к слабому бактериостатическому на том основании, что диффузный характер зон ингибирования в случае продуктов синтеза морфологически не схож с более-менее четким и ясным (хотя и с размытой границей) профилем зон в случае контроля. Тем не менее, большинство исследуемых продуктов (особенно 8) действуют на уровне, приближающемуся к контролю, что представляет собой особый интерес для дальнейшего изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта БРФФИ (№ гос. регистрации 20250778) и проекта НИР ГПНИ «Новые полифункциональные 3-гидрокси-2-оксоиндолы и гетероциклические соединения на их основе с высоким потенциалом биологической активности для создания прототипов лекарственных средств» 2026–2030 гг.

Список литературы

1. Wang, S.-Y. The Michael addition of indole to α,β -unsaturated ketones catalyzed by iodine at room temperature / S.-Y. Wang, S.-J. Ji, T.-P. Loh // *Synlett.* – 2003. – №15. – P. 2377–2379.
2. Pal R., Facile iodine-catalyzed Michael addition of indoles to α,α -bis(arylmethylene)cyclopentanones: an efficient synthesis of E -2-(3-indolyphenylmethyl)-5-phenylmethylenecyclopentanones / R. Pal, A. Das Gupta, A. K. Mallik // *International Scholarly Research Network ISRN Organic Chemistry.* – vol. 2012. – DOI: 10.5402/2012/674629.
3. Jonnalagadda, S.S. Synthesis and biological evaluation of 1,1dichloro-2,3-diarylcyclopropanes as antitubulin and anti-breast cancer agents / Jonnalagadda S.S., ter Haar E., Hamel E. [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 1997. – Vol. 5, № 4. – P. 715–722.
4. Lomize, A. L. Anisotropic solvent model of the lipid bilayer. 2. Energetics of insertion of small molecules, peptides, and proteins in membranes / A. L. Lomize, I. D. Pogozheva, H. I. Mosberg // *J. Chem. Inf. Model.* – 2011. – Vol. 51. – №. 4. – P. 930–946.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЛЮКОЗЫ С ГЕМОГЛОБИНОМ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

Скоростецкая Л.А., Смиян П.И., Литвинко Н.М.

Скоростецкая Л.А.

Старший научный сотрудник лаборатории прикладной энзимологии Государственного научного учреждения
«Институт биоорганической химии НАН Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
E-mail: lydiask@mail.ru

Смиян П.И.

Младший научный сотрудник лаборатории прикладной энзимологии Государственного научного учреждения
«Институт биоорганической химии НАН Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
E-mail: smiyanpoli@gmail.com

Литвинко Н.М.

Доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией прикладной энзимологии Государственного научного учреждения
«Институт биоорганической химии НАН Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
E-mail: litvinko@iboch.by

В данной статье изучаются *in vitro* спектральные изменения гемоглобина (метформа) в полосе Соре ($405 < \lambda < 423$ нм) и точно при поглощении на 423 нм (что указывает на появление в среде супероксидистеля – феррильного радикала гемоглобина $\bullet\text{HbFe(IV)=O}$). Исследование проводится в условиях возрастающей концентрации глюкозы (от 1 до 500 мкМ) с уменьшением насыщенности среды кислородом за счет его замещения азотом, в качестве модели гипоксии. Показано, что в условиях гипоксии Hb менее восприимчив к воздействию глюкозы, так как прогрессивное снижение интенсивности спектров гемопротеина под влиянием возрастающей концентрации глюкозы наблюдается только в нормальных условиях. Установлено в азотсодержащей среде увеличение оптического поглощения Hb при 423 нм при повышении концентрации глюкозы от 250 до 500 мкМ. Следовательно, в условиях гипоксии при максимальных концентрациях глюкозы появляется реактивная форма феррилгемоглобина, которая, если экстраполировать эти результаты на живой организм, может вызвать нежелательные последствия окислительного характера.

Ключевые слова: гемоглобин; спектроскопия; глюкоза; гипоксия

INTERACTION OF GLUCOSE WITH HEMOGLOBIN UNDER HYPOXIA

Skorostetskaya L.A.

Senior Researcher, Laboratory of Applied Enzymology, State Scientific Institution "Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus,"

Minsk, Belarus

Email: lydiask@mail.ru

Smiyan P.I.

Junior Researcher, Laboratory of Applied Enzymology, State Scientific Institution "Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus,"

Minsk, Belarus

E-mail: smiyanpoli@gmail.com

Litvinko N.M.

Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Applied Enzymology, State Scientific Institution "Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus," Minsk, Belarus

E-mail: litvinko@iboch.by

In this article the spectral changes of hemoglobin (metform) in the Soret band ($405 < A < 423$ nm) and pointwise at absorption at 423 nm (give thought to the appearance of a superoxidizer in the medium – the hemoglobinferryl radical •HbFe(IV)=O), are studied in vitro. The investigation was carried out under conditions of increasing glucose concentrations (from 1 to 500 μ M) with a decrease in the saturation of the medium with oxygen due to its replacement with nitrogen, thus modeling hypoxia. It has been established that under hypoxic conditions, Hb is less susceptible to the effects of glucose, because a progressive decrease in the intensity of the hemo-protein spectra under the influence of increasing glucose concentrations is observed only under normal conditions. In a nitrogen-containing medium, a raise in the optical absorption of Hb at 423 nm was established with an increase in the glucose concentration from 250 to 500 μ M. Consequently, under hypoxic conditions at maximum glucose concentrations, a reactive form of ferrylhemoglobin appeared, which, if these results are extrapolated to a living organism, can cause undesirable oxidative consequences.

Key words: hemoglobin; spectroscopy; glucose; hypoxia

Введение. Согласно отчетам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), диабетом страдают 347 миллионов человек во всем мире [1]. В основу современного способа диагностики диабета положена способность гемоглобина (Hb) взаимодействовать с глюкозой с образованием гликозилированного (гликированного) химического аддукта – HbA1c (рис. 1). Считается, что уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) отражает гликемический показатель человека за последние два-три месяца (средняя продолжительность жизни эритроцитов), и этот показатель коррелирует с наступлением диабета 2 типа [2]. Гипергликемия, развивающаяся при диабете, ведет к избытку активной формы кислорода (АФК), что вызывает денатурацию белков и повреждение мембран эритроцитов в результате окислительного стресса.

Гипоксия играет важную роль как в возникновении, так и в течении многих заболеваний, поскольку любое патологическое состояние связано с нарушением насыщения организма кислородом [4]. Однако, постепенная акклиматизация к гипоксии у экспериментальных мышей коррелировала с резким падением уровня глюкозы в крови, уменьшение концентрации гемоглобина в кровотоке при этом улучшало гомеостаз глюкозы и понижало уровень инсулинорезистентности [5].

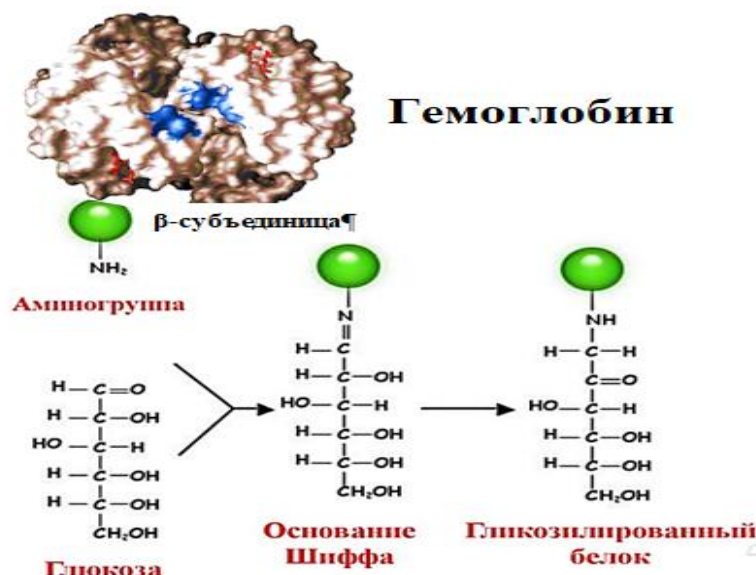


Рис. 1. Образование гликозилированного (гликированного) гемоглобина

Известна также пониженная заболеваемость диабетом у жителей высокогорных районов, однако физиологический механизм этого эффекта не вполне понятен. Ввиду этих парадоксальных эффектов, изучение взаимодействия Hb и свободной глюкозы в условиях пониженного содержания кислорода в среде представляет вполне практически обусловленный интерес. В данной работе исследуются *in vitro* спектральные изменения в области полосы Core, что позволяет зафиксировать возможные сдвиги максимума поглощения при переходе в другие формы Hb на примере метгемоглобина (metHb) – гемоглобина в трехвалентном состоянии (Fe^{3+}) – в условиях повышающихся концентраций глюкозы при снижении насыщенности среды кислородом, моделирующим гипоксию. В норме MetHb в некотором количестве постоянно образуется из Hb, повышенное содержание его является маркером окислительного стресса. *In vivo* Hb (Fe^{+2}) в результате процессов автоокисления частично превращается из оксиформы в метформу ($\text{HbFe(II)O}_2 \rightarrow \text{HbFe(III)} + \text{O}_2^{\cdot-}$) с образованием активной формы кислорода (АФК) – супероксидного аниона ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Последний способен далее превращаться либо с образованием перекиси водорода ($2\text{O}_2^{\cdot-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$), либо инициировать по каскадному принципу массивное окисление клеточных биоструктур, приводящее к разнообразным патологиям. Хорошо известно, что в биологических системах гемоглобин, помимо выполнения функции переносчика кислорода, может также действовать как фермент – пероксидаза (так называемая псевдопероксидазная активность). Постоянно образующаяся в живом организме

перекись водорода взаимодействует с метформой гемоглобина и может путем гетеролитического расщепления пероксидной связи O-O, координированной с железом гема ($\text{HbFe(III)} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \bullet\text{HbFe(IV)=O} + \text{H}_2\text{O}$), приводить к образованию двухэлектронного продукта окисления, гемоглобинферрильного радикала $\bullet\text{HbFe(IV)=O}$, также обладающего повышенной реакционной способностью к окислению биополимеров (белков, нуклеиновых кислот, углеводов) или низкомолекулярных биорегуляторов (липидов, жирных кислот, аминов и стероидных гормонов) [6]. О появлении феррилгемоглобина HbFe(IV)=O можно судить по увеличению поглощения гемопротеида при 423 нм – максимум поглощения этой формы.

Методы. В работе использовали коммерческий препарат Нб человека (80 % метформы, Sigma-Aldrich, США). Для моделирования гипоксии через рабочий раствор (0,05 М Трис-HCl-буферный раствор, pH 8.0) в высоком цилиндре пропускали азот (N_2) на протяжении 3 минут, далее закрывали сосуд пробкой и оставляли на 15 минут для насыщения N_2 . Пропускание N_2 через раствор Нб непосредственно приводит к его агрегации и дальнейшему осаждению. Концентрированный раствор Нб (50 мкМ) разводили до концентрации 5 мкМ (по гему), и быстро регистрировали абсолютный спектр на спектрофотометре Specord uv-vis (Германия), фиксируя положение максимума поглощения (Hb_0). В опытную кювету прибора, содержащую 5 мкМ раствор Нб, насыщенный N_2 , добавляли раствор глюкозы минимальной концентрации (0,001 мМ) и через 1 минуту снова регистрировали спектр поглощения, а затем на спектрофотометре Солар 1251С (Беларусь) регистрировали показания A_{423} против буферного раствора. Данная процедура повторялась на свежей порции Нб с другой концентрацией глюкозы. Кривую зависимости от логарифма концентрации глюкозы сравнивали с контрольными значениями, полученными на интактном буферном растворе с естественным содержанием газов (21 % кислорода и 78 % азота).

Результаты и обсуждение. Мы предположили, что определение спектральных изменений гемоглобина в полосе Soret и отдельно поглощения при A_{423} нм в среде, насыщенной азотом, в присутствии свободной глюкозы, позволит выяснить влияние гипоксии на проявление псевдопероксидазной активности последнего, обусловленной образованием гемоглобинферрильного радикала $\bullet\text{HbFe(IV)=O}$, в отношении их взаимодействия.

Для исследования этого вопроса нами было изучено *in vitro* воздействие свободной глюкозы на спектральные характеристики Нб в видимой области ($405 < A < 423$ нм) в условиях нормального содержания кислорода в среде и искусственно сниженного, имитирующего состав венозной крови, с использованием коммерческих препаратов Нб человека и глюкозы.

Спектроскопические измерения показывают свою высокую чувствительность и стабильный характер, а в области полосы Soret позволяют регистрировать малейшие изменения этого гемопротеида. А также требуется очень небольшое количество материала для анализа [9].

Об изменениях в состоянии Нб следили по развивающимся абсолютным спектрам Нб в видимом диапазоне в области полосы Soret ($405 < A < 423$ нм), а

также при фиксированном значении при длине волны 423 нм, отражающей появление в растворе Нб реакционноспособной формы феррилНб ($\bullet\text{Hb Fe(IV)=O}$). На рисунке 2 представлены абсолютные спектры Нб, регистрируемые в области полосы Соре (сплошная верхняя линия), с добавленной в нормальных условиях (н.у.) глюкозы (конечная концентрация 0,1 мМ, крупный пунктир, средняя линия) и той же концентрации глюкозы в среде, насыщенной азотом (мелкий пунктир, нижняя линия). Как видно из представленного рисунка, общая интенсивность спектра снижается при добавлении глюкозы без смещения положения максимума.

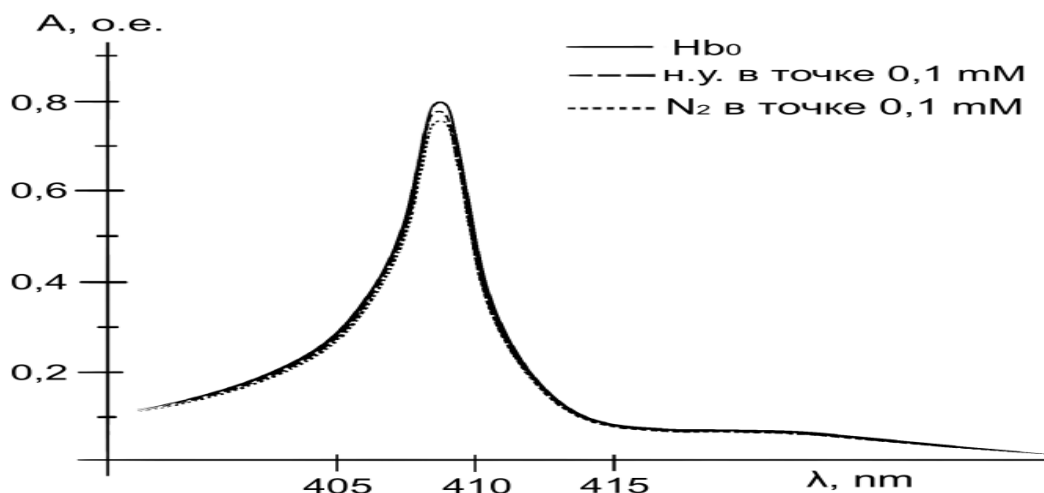


Рис. 2. Спектры Нб (полоса Соре): до добавления глюкозы (сплошная верхняя линия), после добавления глюкозы в нормальных условиях (конечная концентрация, 0,1 мМ, крупный пунктир, средняя линия), и после добавления глюкозы в условиях насыщения N_2 (0,1 мМ, мелкий пунктир, нижняя линия)

На рисунке 3 представлена зависимость спектральных изменений Нб, отнесенных к исходной величине поглощения Нб, от концентрации глюкозы (в логарифмических единицах) в нормальных условиях и после пропускания через среду азота. В нормальных условиях при увеличении концентрации глюкозы наблюдается прогрессивное падение интенсивности спектров, начиная с минимальной концентрации (1 мкМ). В противоположность этому в атмосфере N_2 интенсивность спектра мало изменяется во всем диапазоне концентраций, оставаясь сниженной по сравнению с исходным значением. В максимальной из исследованных концентраций (0,5 мМ) для нормальных условий снижение интенсивности спектра достигает 6 % от исходного значения.

В случае замены естественного состава газов на азот минимальное значение A_{423} (5 %) наблюдается при концентрации глюкозы 0,1 мМ. Однако с ростом концентрации глюкозы от 250 до 500 мкМ в условиях гипоксии эта тенденция сменяется на рост этого показателя до 5 % выше нормы (рис. 4).

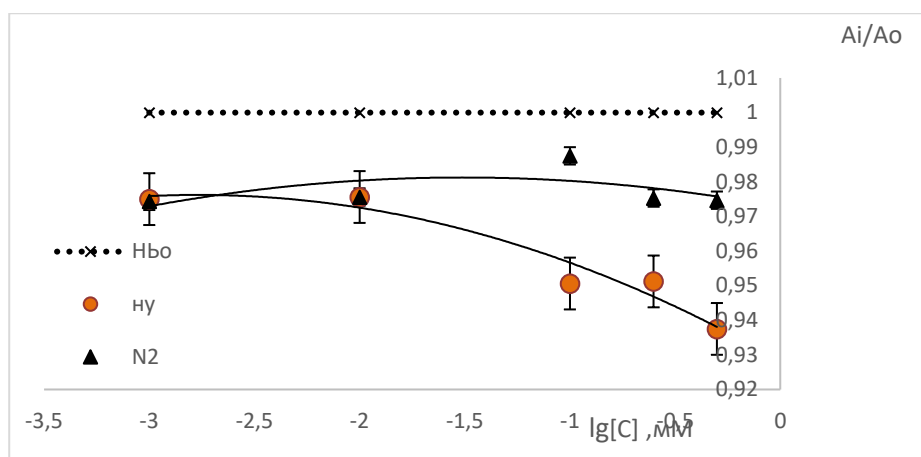


Рис. 3. Зависимость спектральных изменений НЬ, отнесенных к исходной величине поглощения НЬ, от логарифма концентрации глюкозы в нормальных условиях и в атмосфере азота

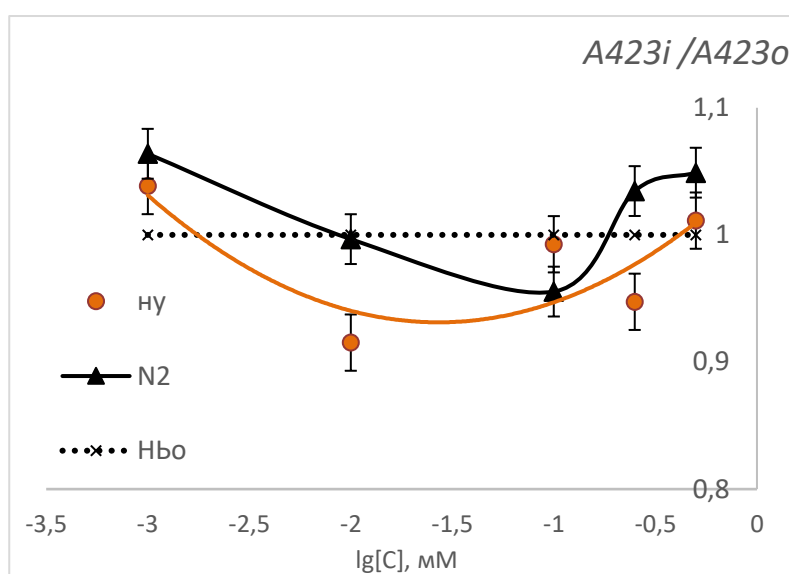


Рис. 4. Зависимость изменений поглощения НЬ при 423 нм, отнесенных к исходной величине поглощения НЬ, от логарифма концентрации глюкозы в нормальных условиях и в атмосфере азота. Каждая точка является средним значением не менее 3-5 измерений

Заключение. В данной работе исследованы *in vitro* в полосе Соре изменения абсолютного спектра metHb, находящегося в трехвалентном состоянии (Fe^{3+}), как маркера окислительного стресса, в условиях повышающихся концентраций глюкозы при насыщении среды азотом, моделирующим гипоксию.

В среде, насыщенной азотом, установлено отсутствие влияния повышения концентрации глюкозы от 1 до 500 μM на спектр НЬ, в то время как в нормальных условиях с ростом ее содержания наблюдается прогрессивное снижение его интенсивности. Это предполагает, что в условиях гипоксии НЬ менее подвержен воздействию свободной глюкозы.

Можно также сделать вывод, что глюкоза в нормальных условиях, в-целом, не вызывает значительного появления реакционноспособной формы феррилгемоглобина. Увеличение оптического поглощения НЬ при 423 нм в среде, насыщенной азотом, показывает появление в условиях гипоксии реакционноспособной формы феррилгемоглобина в диапазоне концентраций от 250 до 500 μM

глюкозы, что может при экстраполяции на живой организм вызвать нежелательные последствия окислительного характера в кровотоке.

Таким образом, полученные результаты, действительно, показывают существенное влияние гипоксии на спектральные изменения Hb в присутствии свободной глюкозы в исследуемом диапазоне ее концентраций.

Список литературы

1. World Health Organization; 2010. www.who.int/nmh/publications/ncd_report_full_en.pdf.
2. Qu, F. Visit-to-visit glycated hemoglobin A1c variability in adults with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis / F. Qu, Q. Shi, Y. Wang, Y. Shen, K. Zhou, E. R. Pearson, Sh. Li // Chin. Med J. – 2022. – 135(19). – P. 2294–2300. Doi: 10.1097/CM9.0000000000002073.
3. Damjanov, S. K. Glycated hemoglobin A1c as a modern biochemical marker of glucose regulation / M. Đerić, N. E. Kojić // Med Pregl. – 2014. – 67(9-10). – P. 339-344.
4. Николаева А. Г., Использование адаптации к гипоксии в медицине и спорте – Монография. – Витебск: ВГМУ. – 2015.-150 с.
5. Midha, A. D. Organ-specific fuel rewiring in acute and chronic hypoxia redistributes glucose and fatty acid metabolism / Y. Zhou, B. B. Queliconi, A. M. Barrios, A. G. Haribowo, B. T.L. Chew, C. O. Y. Fong, J. E. Blecha, H. VanBrocklin, Y. Seo, I. H. Jain. // Cell Metabolism. – 2023. –35. – P. 504–516.
6. Kanner J. Initiation of membranal lipid peroxidation by activated metmyoglobin and methemoglobin/ J. Kanner, S. Harel // Arch Biochem Biophys. – 1985. –237(2)– P. 314-321. Doi: 10.1016/0003-9861(85)90282-6.PMID: 3977316.
7. Cherni, I. Non-invasive and rapid diagnosis of type 2 diabetes mellitus based on the analysis of hair by front-face fluorescence spectroscopy / I. Cherni, R. Nour, H. Ghalila, M. Somaï, F. Daoued, Z. Aydi, S. Hamzaoui, F. Boussema, N. Jaïdane // Appl Opt. – 2022.–61(14). – P. 4022 – 4029. Doi: 10.1364/AO.454245.
8. Mitra I. Early developments toward HbA_{1c} determination in whole blood by high-speed sample preparation and LC–MS/MS analysis / I. Mitra, A. Leinenbach, A. Geistanger, A. Huber, T. Dülffer, S. Adam, L. Hillringhaus, M. Silvestre, H. Busskamp, S. Vopel // Anal. Bioanal.Chem. – 2024. – 416(29). – P. 6735–6744. Doi: 10.1007/s00216-024-05601-5.
9. Mallya M. Absorption spectroscopy for the estimation of glycated hemoglobin (HbA_{1c}) for the diagnosis and management of diabetes mellitus: a pilot study / M. Mallya, R. Shenoy, G. Kodyalamoole, M. Biswas, J. Karumathil, S. Kamath // Photomed. Laser. Surg. – 2013.– 31(5). – P. 219–224. doi: 10.1089/pho.2012.3421.

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN SILICO* БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВЫХ 2-ПИРАЗОЛИНОВ, СОДЕРЖАЩИХ ЦИКЛОПРОПАНОВЫЕ ФРАГМЕНТЫ

Франтов Д.И., Минеева И.В.

Франтов Д.И.

Магистрант 1 курса специальности 7-06-0531-01 Химия
УО «Белорусский государственный университет», стажер м.н.с.
Сектора тонкого органического синтеза учреждения Белорусского государ-
ственного университета «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
dima.frantow@gmail.com

Минеева И.В.

Доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической химии
химического факультета УО «Белорусский государственный университет»,
Заведующий сектором тонкого органического синтеза учреждения Белорус-
ского государственного университета «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем»,
г. Минск, Беларусь
i.mineyeva@yandex.ru

С использованием программ для *in silico* расчетов (PassOnline, PerMM, ALOGPS 2.1, CLC-Pred) была осуществлена общая оценка фармакологически важных параметров новых полученных N-ацил-3,5-диарил-2-пиразолинов с галогенциклопропильными фрагментами в качестве модельных соединений, сочетающих в себе две значимые фармакофорные группировки. Проведена оценка влияния длины углеводородного фрагмента на липофильность данных соединений и их рассчитанную биологическую активность.

Ключевые слова: халконы, 2-пиразолины; циклопропаны; расчеты *in silico*; липопротеинлипаза

IN SILICO STUDY OF THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF NEW 2-PYRAZOLINES CONTAINING CYCLOPROPANE FRAGMENTS

Frantau D. I.

*1st-year Master's Student, Specialty 7-06-0531-01 Chemistry
Educational Institution "Belarusian State University",
Trainee Junior Researcher,
Sector of Fine Organic Synthesis, Research Institute for Physical Chemical Problems
of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
grigory.gordunov@yandex.by*

Mineyeva I. V.

*Doctor of Chemical Sciences, Professor,
Professor of the Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry,
Educational Institution "Belarusian State University",
Head of the Sector of Fine Organic Synthesis,
Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University,
Minsk, Belarus
i.mineyeva@yandex.ru*

Using programs for in silico calculations (PassOnline, PerMM, ALOGPS 2.1, CLC-Pred), a general assessment of the pharmacologically important parameters of the newly obtained N-acyl-3,5-diaryl-2-pyrazolines with halocyclopropyl fragments as model compounds combining two significant pharmacophoric groups was carried out. The influence of the hydrocarbon fragment length on the lipophilicity of these compounds and their calculated biological activity was assessed.

Key words: *chalcone; 2-pyrazolines; cyclopropanes; in silico calculations; lipoprotein lipase*

Халконы представляют собой α,β -ненасыщенные карбонильные соединения, имеющие в своем составе два бензольных кольца с различными заместителями. Халконы являются весьма распространенными природными соединениями, встречающимися в различных частях растений (Рис. 1). Несмотря на это, они не проявляют селективной биологической и фармацевтической активности, поскольку беспорядочно связываются с различными нуклеофильными частицами в организме, которые вступают в реакцию присоединения по Михаэлю по кратной углерод-углеродной связи. Особенно активными выступают такие нуклеофильные группы, как тиогруппа $-SH$ и амино группа $-NH_2$, которые встречаются в белках ввиду наличия аминокислот цистеина и лизина соответственно. Менее нуклеофильными являются гидроксильные $-OH$ группы треонина, серина и гидроксипролина. Таким образом, сами по себе халконы связываются со многими функциональными белками и ферментами, что приводит в общем случае к неблагоприятным реакция организма, таким как аллергия [1].

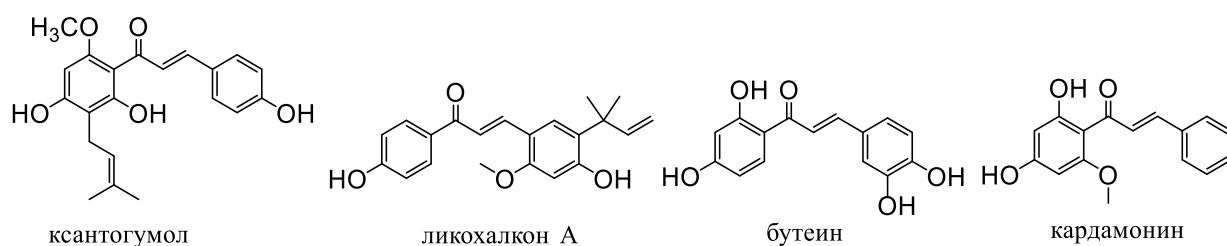


Рис.1. Структурные формулы природных халконов

В настоящей работе нами планировалось модифицировать сопряженную карбонильную систему посредством превращения ее в фрагмент N-ацил-2-пиразолина. 2-Пиразолины представляют собой синтетически распространенные гетероциклические соединения, содержащие σ -связь N-N. Ввиду затруднений при формировании данной связи в природных условиях, данные гетероциклические соединения практически не распространены среди живых организмов, однако, несмотря на это, встречаются во многих синтетических лекарственных препаратах и веществах с высокой биологической активностью. Принципиально новым в нашем исследовании является получение N-ацил-2-пиразолинов с галогенциклопропильными заместителями в бензольных кольцах, которые являются уникальными фармакофорными группировками. Известно, что присутствие циклопропановых фрагментов придает соединениям противоопухолевую и противовирусную активность. Уникальность циклопропановых колец заключается в повышенной конформационной жесткости и пониженной липофильности по сравнению с галогеналкильными фрагментами, обуславливающей компактное взаимодействие с карманами белков-мишеней, а также склонностью галогенциклопропильных фрагментов вступать в реакции отщепления-замещения [2,3].

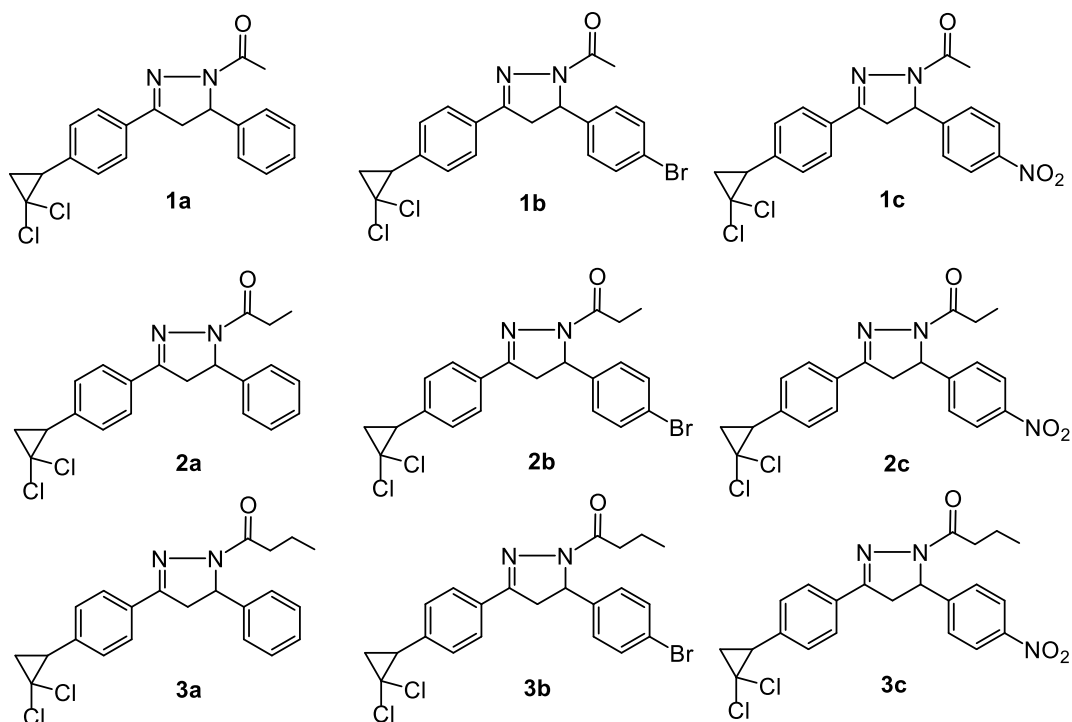


Рис. 1. Структурные формулы N-ацил-2-пиразолинов с галогенциклопропановыми фрагментами

Общая фармакологическая и противоопухолевая активности новых полученных соединений **1a-c**, **2a-c**, **3a-c** были оценены методами *in silico* с помощью сервисов PASS Online (<https://way2drug.com/PassOnline/>) и CLC-Pred (<https://way2drug.com/Cell-line/>) соответственно (Таблицы 1, 2).

Согласно проведенным *in silico* расчетам все N-замещенные-2-пиразолины с высокой долей вероятности ($P_a > 0,932$) являются структурно схожими с веществами из обучающей выборки, обладающими свойствами стимулировать липопротеинлипазу – фермент, ответственный за уровень триглицеридов в крови, находящихся в таких липопротеинах как хиломикроны и липопротеины низкой плотности. Недостаток данного фермента неблагоприятно сказывается на здоровье сердечно-сосудистой системы [4].

Таблица 1

Результаты *in silico* прогноза общей фармакологической активности соединений **1a-c**, **2a-c**, **3a-c**

Соединение	P_a^1	P_i^2	Спрогнозированная активность
1a	0,962	0,000	Стимулятор липопротеинлипазы
	0,674	0,004	Ингибитор аминопептидазы PfA-M1
	0,618	0,042	Ингибитор 3'-монооксигеназы 5-O-(4-кумароил)-D-хината
2a	0,957	0,000	Стимулятор липопротеинлипазы
	0,768	0,003	Ингибитор аминопептидазы PfA-M1
	0,550	0,064	Ингибитор 3'-монооксигеназы 5-O-(4-кумароил)-D-хината
3a	0,954	0,001	Стимулятор липопротеинлипазы
	0,779	0,003	Ингибитор аминопептидазы PfA-M1
	0,487	0,019	Атеросклеротический
1b	0,952	0,001	Стимулятор липопротеинлипазы
	0,694	0,004	Ингибитор аминопептидазы PfA-M1
	0,433	0,009	Противоопухолевое (немелкоклеточный рак легкого)
2b	0,947	0,001	Стимулятор липопротеинлипазы
	0,774	0,003	Ингибитор аминопептидазы PfA-M1
	0,401	0,038	Атеросклеротический
3b	0,943	0,001	Стимулятор липопротеинлипазы
	0,784	0,003	Ингибитор аминопептидазы PfA-M1
	0,424	0,032	Атеросклеротический
1c	0,944	0,001	Стимулятор липопротеинлипазы
	0,672	0,004	Ингибитор аминопептидазы PfA-M1
	0,529	0,100	Ингибитор сахаропепсина
2c	0,937	0,001	Стимулятор липопротеинлипазы
	0,758	0,003	Ингибитор аминопептидазы PfA-M1
	0,577	0,082	Ингибитор сахаропепсина
3c	0,932	0,001	Стимулятор липопротеинлипазы
	0,769	0,003	Ингибитор аминопептидазы PfA-M1
	0,609	0,072	Ингибитор химозина

Примечание. 1 – вероятность быть активным;

2 – вероятность быть неактивным.

Таблица 2

Результаты прогноза *in silico* цитотоксической активности соединений **1a-c**, **2a-c**, **3a-c** относительно опухолевых клеток

Соединение	P _a	P _i	Клеточная линия	Тип опухоли
1a	0,753	0,001	OVCAR	Аденокарцинома яичников
	0,641	0,011	HEK293	Фibroпласт эмбриональной почки
2a	0,676	0,007	SF-268	Глиобластома мозга
	0,761	0,005	HEK293	Фibroпласт эмбриональной почки
3a	0,582	0,012	SF-268	Глиобластома мозга
	0,680	0,009	HEK293	Фibroпласт эмбриональной почки
1b	0,633	0,002	OVCAR	Аденокарцинома яичников
	0,659	0,010	HEK293	Фibroпласт эмбриональной почки
2b	0,592	0,011	SF-268	Глиобластома мозга
	0,763	0,005	HEK293	Фibroпласт эмбриональной почки
3b	0,492	0,023	SF-268	Глиобластома мозга
	0,692	0,008	HEK293	Фibroпласт эмбриональной почки
1c	0,701	0,002	OVCAR	Аденокарцинома яичников
	0,649	0,010	HEK293	Фibroпласт эмбриональной почки
2c	0,633	0,009	SF-268	Глиобластома мозга
	0,754	0,006	HEK293	Фibroпласт эмбриональной почки
3c	0,537	0,015	SF-268	Глиобластома мозга
	0,681	0,009	HEK293	Фibroпласт эмбриональной почки

Согласно приведенным данным (Таблица 2), цитотоксичность соединений по отношению к раковым и нераковым клеткам заметно зависит от длины углеводородного радикала: увеличение длины неблагоприятно сказывается на цитотоксической активности, однако он не влияет на изменение локализации в другом типе опухолевой ткани.

Липофильность и растворимость соединений **1a-c**, **2a-c**, **3a-c** была рассчитана с помощью сервиса ALOGPS 2.1 (<https://vcclab.org/lab/alogps/>) (Таблица 3). Эффективность пассивной диффузии через искусственную черную липидную мембрану (ЧЛМ), гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и клеточную мембрану аденокарциномы прямой кишки (Caco-2) модельные клеточные мембраны была рассчитана в программе PerMM (<https://permm.phar.umich.edu/>) (Таблицы 3, 4).

Таблица 3

Значения предсказанных коэффициентов липофильности и растворимости соединений **1a-c**, **2a-c**, **3a-c**

Соединение	lgP ¹	lgS ²
1a	4,43	-5,77
2a	4,67	-5,93
3a	5,02	-6,21
1b	4,88	-6,34
2b	5,50	-6,46
3b	5,89	-6,70
1c	4,40	-5,97
2c	4,83	-6,06
3c	5,11	-6,20

Примечание. 1 – логарифм коэффициента распределения в системе октанол-вода;
2 – логарифм коэффициента растворимости вещества в воде.

Согласно полученным данным липофильность соединений возрастает, а растворимость увеличивается в ряду соединений гомологичных соединений а-с при увеличении длины углеводородного заместителя на одно метиленовое звено. Таким способом, изменяя длину углеводородного скелета, можно тонко регулировать проницаемость соединения через клеточные мембраны. Согласно эмпирическим правилам Липинского соединения **1a-b**, **2a-b**, **3a-b** согласуются с критериями молекулярной массы ($M < 500$), коэффициента распределения в системе октанол-вода ($\log P \leq 5$), числа доноров водородных связей ($NHD \leq 5$) и числа акцепторов водородных связей ($NHA \leq 10$), что позволяет отнести данные вещества к категории потенциально возможных лекарственных препаратов. Единственным параметром, значения которого выходят за рамки оптимальных эмпирически обоснованных значений, является растворимость соединений в воде. Расчетные величины данного показателя находятся в диапазоне 10^{-5} - 10^{-6} моль/л, что характеризует соединения как малорастворимые в воде, однако это не исключает возможности их дальнейшего изучения в качестве биологически активных веществ [5].

Таблица 4

Значения *in silico* рассчитанных $E_{св}$ и lgK при $T = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$, $pH\ 7,4$.

Соединение	$E_{св}^1$, ккал/моль	lgK^2 (ЧЛМ)	lgK (ГЭБ)	lgK (Caco-2)
1a	-6,82	2,18	-2,13	-2,92
2a	-7,08	2,77	-1,92	-2,77
3a	-7,46	3,14	-1,79	-2,68
1b	-7,04	1,87	-2,23	-3,00
2b	-7,25	2,51	-2,01	-2,84
3b	-7,46	3,10	-1,80	-2,69
1c	-6,77	1,11	-2,50	-3,20
2c	-7,01	1,77	-2,27	-3,03
3c	-7,34	2,09	-2,16	-2,94
Глюкоза (контроль)	-1,82	-10,44	-6,58	-6,15
Холестерин (контроль)	-9,69	6,03	-0,77	-1,94

Примечание. 1 – свободная энергия связывания;

2 – логарифм коэффициента проницаемости.

Таким образом, новые полученные гибридные молекулы, содержащие пиразолиновый и гем-дихлорциклопропильный фрагмент, были комплексно оценены в качестве претендентов на препараты с селективной биологической активностью.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта НИР ГПНИ «Новые полифункциональные 3-гидрокси-2-оксоиндолы и гетероциклические соединения на их основе с высоким потенциалом биологической активности для создания прототипов лекарственных средств» 2026-2030 гг.

Список литературы

1. Synthesis, reactions and application of chalcones: a systematic review / M. A. Shalaby, S. A. Rizk, A. M. Fahim // *Org. Biomol. Chem.* – 2023. – Vol. 21, № 26. – P. 5317-5346.
2. The «cyclopropyl fragment» is a versatile player that frequently appears in preclinical/clinical drug molecules / T. T. Talele // *J. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 59, № 19. – P. 8712-8756.
3. Synthetic approaches to contemporary drugs that contain the cyclopropyl moiety / Z. Casar // *Synthesis.* – 2020. – Vol. 52, № 9. – P. 1315-1345.
4. Lipoprotein lipase and its regulators: an unfolding story / S. A. Wu, S. Kersten, L. Qi // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2021. – Vol. 32, № 1. – P. 48-61.
5. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C. A. Lipinski [et al.] *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2001. – Vol. 46 (1-3). – P. 3-26.

**АЗИРИДИНСОДЕРЖАЩЕЕ ПРОИЗВОДНОЕ 1,3,5-ТРИАЗИНА
С ОЛИГО(ЭТИЛЕНГЛИКОЛЕВЫМ) АЗИДНЫМ ЛИНКЕРОМ:
ОЦЕНКА ДНК-ТРОПНОСТИ И ЦИТОТОКСИЧНОСТИ**

Чернов И.С., Протас А.В., Попова Е.А., Шемчук О.С.

Чернов И.С.

Аспирант Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»

г. Санкт-Петербург, Россия;

научный сотрудник федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»,

г. Санкт-Петербург, Россия

i.chernov@green-van.ru

Протас А.В.

Кандидат химических наук, доцент кафедры общей и биоорганической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»,

г. Санкт-Петербург, Россия;

старший научный сотрудник федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»

г. Санкт-Петербург, Россия

aleksandra.protas@mail.ru

Попова Е.А.

доктор химических наук, профессор федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» г. Санкт-Петербург, Россия; заведующая лабораторией химии природных соединений федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»,

г. Санкт-Петербург, Россия

porova_e_a@bk.ru

Шемчук О.С.

аспирант федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»

г. Санкт-Петербург, Россия;

научный сотрудник федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»

г. Санкт-Петербург, Россия

olja.shemchuk17@gmail.com

В работе синтезировано новое бифункциональное соединение — (5-((4-((2-{2-{2-(2-азидоэтокси)этокси}этокси}этил)амино)-6-(азиридин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)метанол (3), содержащее один

азиридиновый цикл и азидный полиэтоксилинкер для последующей конъюгации с векторами адресной доставки методом «клик»-реакции. Структура целевого соединения подтверждена данными ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии и элементным анализом. Методом УФ-спектрофотометрии оценена константа связывания соединения с ДНК тимуса телёнка ($K_b = 1,13 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$), что указывает на умеренную ДНК-тропность. Цитотоксичность была оценена методом МТТ-теста на клеточных линиях НСТ-116 и рака шейки матки HeLa. Соединение 3 проявило незначительную цитотоксичность ($\text{IC}_{50} = 128 \text{ мкМ}$ на линии HeLa), на порядок меньшую, чем у исходного диоксадэа, содержащего два азиридиновых цикла (IC_{50} для диоксадэа $11,8 \text{ мкМ}$) [3], а на клеточных линиях НСТ-116 не проявило видимого эффекта.

Ключевые слова: 1,3,5-триазин; азиридин; азид; взаимодействие с ДНК; МТТ-тест; цитотоксичность

AZIRIDINE-CONTAINING 1,3,5-TRIAZINE DERIVATIVE WITH AN OLIGO(ETHYLENE GLYCOL) AZIDE LINKER: ASSESSMENT OF DNA TROPISM AND CYTOTOXICITY

Chernov I.S.

Postgraduate Student Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "First Saint Petersburg State Medical University named after Academician I. P. Pavlov" Saint Petersburg, Russia; Research Scientist Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine", Saint Petersburg, Russia
i.chernov@green-van.ru

Protas A.V.

Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor at the Department of General and Bioorganic Chemistry, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "First Saint Petersburg State Medical University named after Academician I. P. Pavlov" Saint Petersburg, Russia; Senior Research Scientist Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine", Saint Petersburg, Russia
aleksandra.protas@mail.ru

Popova E.A.

Doctor of Chemical Sciences, Professor Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "First Saint Petersburg State Medical University named after Academician I. P. Pavlov" Saint Petersburg, Russia; Head of the Laboratory of Natural Compounds Chemistry Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine", Saint Petersburg, Russia
popova_e_a@bk.ru;

Shemchuk O.S.

Postgraduate Student Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "First Saint Petersburg State Medical University named after Academician I. P. Pavlov" Saint Petersburg, Russia; Research Scientist Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine", Saint Petersburg, Russia
olja.shemchuk17@gmail.com

A new bifunctional compound, (5-((4-((2-{2-{2-(2- azidoethoxy)ethoxy}ethoxy}ethyl)amino)-6-(aziridin-1-yl)-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)methanol (3), containing one aziridine ring and an azide-terminated polyethoxy linker for subsequent conjugation with targeting vectors via click chemistry, has been synthesized. The structure of the target compound was confirmed by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy and elemental analysis. The DNA-binding constant of the compound with calf thymus DNA was determined by UV spectrophotometry ($K_b=1.13 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$), indicating moderate DNA tropism. Cytotoxicity was assessed using the MTT assay on HCT-116 and HeLa cervical cancer cell lines. Compound 3 exhibited low cytotoxicity ($\text{IC}_{50}=128 \text{ }\mu\text{M}$ on HeLa cells), one order of magnitude lower than that of the parent dioksadet bearing two aziridine rings (IC_{50} for dioksadet = $11.8 \text{ }\mu\text{M}$) [3], while no visible effect was observed on HCT-116 cells.

Key words: 1,3,5-triazine; aziridine; azide; interaction with DNA; MTT test; cytotoxicity

Введение. Соединения, содержащие азиридиновые циклы, относятся к классическим ДНК-алкилирующим агентам, широко применяемым в химиотерапии [1, 2]. Они ковалентно связываются с ДНК, преимущественно по N7-положению гуанина, вызывая сшивку цепей и гибель опухолевых клеток [2]. Однако клиническое использование таких препаратов, как тиофосфамид или митомицин С, часто ограничено серьёзной системной токсичностью из-за их неселективного действия на здоровые ткани. Отсутствие избирательности остаётся главной проблемой, сдерживающей дальнейшее развитие этой группы противоопухолевых средств.

В последние годы активно развивается адресная доставка цитостатиков к опухоли, позволяющая повысить терапевтический индекс и снизить побочные эффекты. Введение азидной группы позволяет использовать полученное соединение в реакции азид-алкинового циклоприсоединения с молекулами-векторами для адресной доставки [4]. Ранее в литературе было описано соединение диоксадэт, содержащее два азиридиновых цикла и обладающее выраженной цитотоксичностью [3]. В настоящей работе мы сосредоточились на синтезе соединения, которое одновременно содержит алкилирующий азиридиновый фрагмент и линкер с концевой азидной группой, что обеспечивает возможность его последующей конъюгации с молекулами для адресной доставки. Вместо одного из азиридиновых колец мы ввели линкер с концевой азидной группой и тремя этиленоксидными звеньями. Это позволяет легко конъюгировать полученное со-

единение с алкинил-содержащими векторами [9]. Таким образом, синтезированный (5-((4-((2-{2-[2-(2-азидоэтокси)этокси]этокси}этил)амино)-6-(азиридин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)метанол сочетает в себе ДНК-алкилирующий фрагмент и линкер для таргетной модификации. Данная работа посвящена его синтезу, характеристике и предварительной оценке свойств.

Методы и материалы. Спектры ЯМР ^1H и $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ регистрировали на спектрометре Bruker Avance III 400 (рабочие частоты 400.13 МГц и 100.61 МГц соответственно) в CDCl_3 при 298.15 К.

Синтез (5-[(4,6-дихлор-1,3,5-триазин-2-ил)амино]-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)метанола (1). К раствору 2,4,6-трихлор-1,3,5-триазина (1 г, 5,42 ммоль) в ацетоне добавили по каплям раствор трис(гидроксиметил)аминометана (0,61 г, 5,04 ммоль) в ацетоне. Перемешивали 1 ч, внесли каталитическую паратолуолсульфокислоту и безводный Na_2SO_4 . Контроль ТСХ (хлороформ–метанол, 9,5:0,5). Смесь отфильтровали, фильтрат упарили, очистили колоночной хроматографией (тот же элюент). Соединение 1 – масло желтого цвета (1,52 г, 4,66 ммоль, 86 %).

Синтез (5-((4-((2-{2-[2-(2-азидоэтокси)этокси]этокси}этил)амино)-6-хлор-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)метанола (2). К раствору 1 (1,44 г, 4,66 ммоль) в хлороформе добавили по каплям раствор 2-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)этан-1-амина (1,02 г, 4,66 ммоль) и триэтиламина (0,47 г, 4,66 ммоль) в хлороформе. Перемешивали 2 ч при 25 °С, экстрагировали хлороформ–вода. Органический слой высушили (CaCl_2), упарили, очистили колоночной хроматографией (хлороформ–метанол). Соединение 2 – жёлтое масло (1,71 г, 3,50 ммоль, 75 %).

Синтез (5-((4-((2-{2-[2-(2-азидоэтокси)этокси]этокси}этил)амино)-6-(азиридин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)метанола (3). К раствору 2 (1,71 г, 3,5 ммоль) в хлороформе добавили азиридин (35 ммоль, 1,5 г) и триэтиламин. Перемешивали 3 ч при 44 °С, экстрагировали хлороформ–вода, органический слой высушили (CaCl_2), упарили, очистили колоночной хроматографией (хлороформ–метанол). Соединение 3 – жёлтое масло (1,04 г, 2,10 ммоль, 60 %).

^{13}C NMR (хлороформ- d) δ : 26.5 ($(\text{CH}_3)_2\text{C}$), 40.5 ($\text{CH}_2(\text{azir})$), 50.6 ($\text{CH}_2\text{-N}_3$), 54.4 ($\text{C-CH}_2\text{OH}$), 64.4 ($\text{CH}_2\text{-C-CH}_2$), 65.4 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 70.1 ($\text{N}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 70.4 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 70.6 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 77.3 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 98.9 (O-C-O), 165.8 (C-NH), 170.8 ($\text{C-N}(\text{azir})$). Элементный анализ $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{N}_{10}\text{O}_6$: найдено С 47,69; Н 6,87; N 27,60; О 17,9, вычислено С 47,80; Н 6,82; N 27,88; О 19,10.

Взаимодействие с ДНК. Раствор соединения 3 (0,4 мМ в физрастворе, ДМСО $\leq 0,5$ %) смешивали с ДНК тимуса телёнка (0,38 мМ) при постоянной концентрации 3 и варьруемой ДНК ($[\text{DNA}]/[3] = 0,5\text{--}2$). После инкубации 1 ч регистрировали спектры, параметры связывания рассчитывали по уравнению Вульфа–Шимера [6].

Цитотоксичность (МТТ). Клетки НСТ-116 и HeLa высевали в 96-луночные планшеты (5×10^3 /лунку). Через 12 ч среду заменяли на свежую, инкубировали 48 ч, затем добавляли МТТ-реагент (0,02 мл, 5 мг/мл). Через 1 ч формазан

растворяли в ДМСО и измеряли оптическую плотность при 540 нм (фон 690 нм). Данные ($n=5$) обрабатывали статистически, различия значимы при $p<0,05$ [7,8].

Обсуждение полученных результатов. На первом этапе 2,4,6-трихлор-1,3,5-триазин ввели в реакцию с трис(гидроксиметил)аминометаном, что привело к замещению одного атома хлора на аминогруппу. Добавление каталитических количеств пара-толуолсульфокислоты и безводного сульфата натрия вызвало ацетализацию с ацетоном, формируя диоксанный цикл (1). Далее один из оставшихся атомов хлора замещали азидным полиэтоксилинером (триэтиламин), получив соединение 2 (выход 75 %). На заключительной стадии оставшийся атом хлора замещали избытком азиридина (хлороформ, 44 °С, 3 ч). После колоночной хроматографии целевое соединение 3 выделили в виде жёлтого масла с выходом 60 %. Структура 3 подтверждена данными ЯМР и элементного анализа.

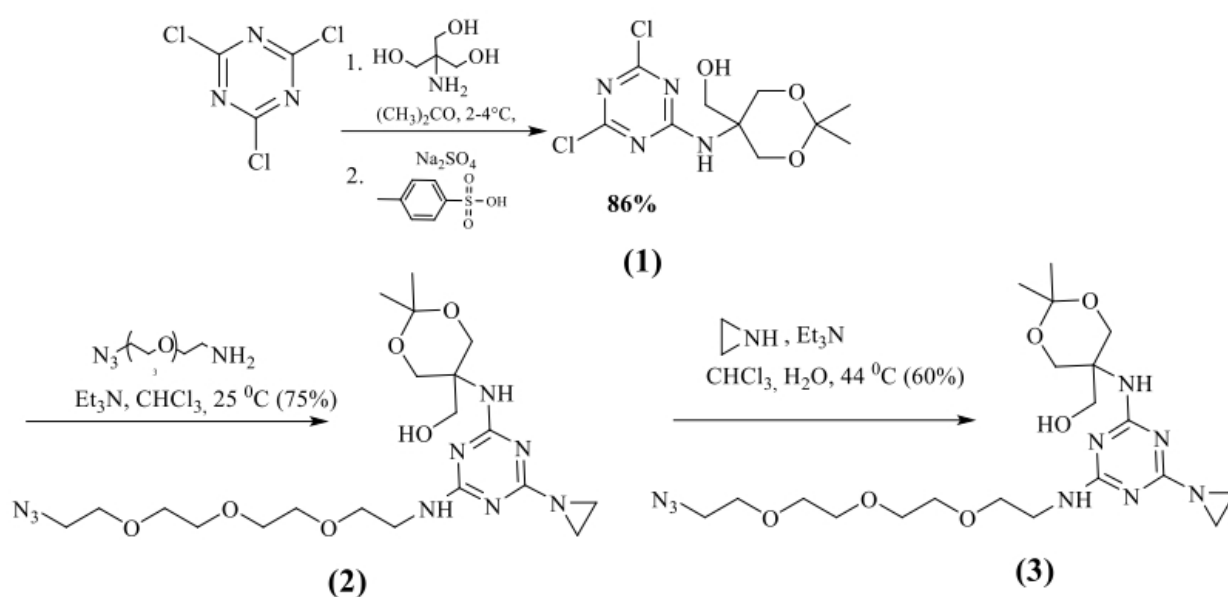


Схема 1. Синтез целевого соединения 3

В ^1H ЯМР-спектре (CDCl_3) синглет при 1.44 м.д. (6H) соответствует метильным группам диоксана, а синглет при 2.27 м.д. (4H) — азиридиновому кольцу. Мультиплет 3.40–3.85 м.д. (14H) относится к протонам PEG-3 и CH_2OH , синглет 3.89 м.д. (4H) — к $\text{CH}_2\text{—O—C}$ диоксана. Синглет 5.83 м.д. (1H) отвечает NH-связи между триазином и диоксанным заместителем. Отсутствие сигналов в области 6–8 м.д. свидетельствует о полном замещении хлора.

В ^{13}C ЯМР-спектре (CDCl_3) наблюдаются сигналы: 26.5 ($(\text{CH}_3)_2\text{C}$), 40.5 (CH_2 азиридина), 50.6 ($\text{CH}_2\text{—N}_3$), 54.4 ($\text{C—CH}_2\text{OH}$), 64.4 и 65.4 (метилены диоксана), 70.1–70.6 (этиленоксидные фрагменты), 98.9 (O—C—O), 165.8 (C—NH) и 170.8 м.д. ($\text{C—N}(\text{azir})$). Отсутствие пиков в области 120–140 м.д. подтверждает отсутствие непрореагировавших хлорпроизводных.

Взаимодействие с ДНК. Поскольку соединение 3 содержит азиридиновый цикл и относится к ДНК-алкилирующим агентам, его цитотоксическое действие реализуется через взаимодействие с ДНК. В связи с этим была оценена константа связывания K_b соединения 3 с ДНК.

Взаимодействие 3 с ДНК тимуса телёнка исследовали методом УФ-спектрофотометрии в 0,9 % растворе NaCl [5, 6]. При добавлении ДНК (6,25–100,0 мкМ в пересчёте на пары оснований) к раствору 3 (25 мкМ) наблюдали закономерные изменения спектра поглощения (рис. 1). Константу связывания K_b рассчитывали по модели Вульфа–Шимера [6]:

$$\frac{[DNA]}{\varepsilon_a - \varepsilon_f} = \frac{[DNA]}{\varepsilon_b - \varepsilon_f} + \frac{1}{K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)},$$

где $[DNA]$ — концентрация ДНК, ε_a — кажущаяся молярная экстинкция при данной концентрации ДНК, ε_f — молярная экстинкция свободного соединения 3, а ε_b — молярная экстинкция формы соединения, полностью связанной с ДНК.

Рассчитанное значение K_b составило $1,13 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, что свидетельствует об умеренном связывании соединения 3 с ДНК.

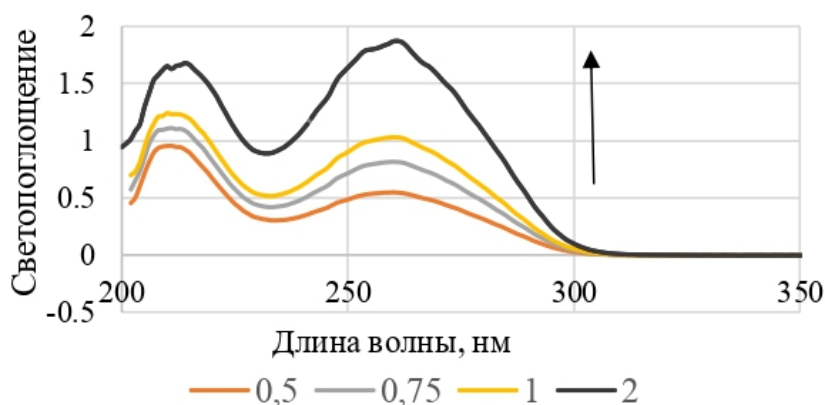


Рис. 1. График зависимости $[DNA]/(\varepsilon_a - \varepsilon_f)$ от $[DNA]$ при молярных соотношениях $[DNA]/[3]=0,5; 0,75; 1; 2$

Исследование цитотоксичности. Соединение 3 слабо ингибировало клетки HeLa ($IC_{50} = 128 \pm 1,3 \text{ мкМ}$) — на порядок выше, чем у диоксадэта (11,8 мкМ) [3], и не проявляло активности на линии НСТ-116. Полученные данные свидетельствуют, что одного азиридинового цикла недостаточно для образования стабильных межцепочечных сшивок ДНК, критически важных для гибели опухолевых клеток. Моноазиридиновые производные, вероятно, вызывают только моноалкилирование, эффективно устраняемое репарацией, что и приводит к резкому падению цитотоксичности. Следовательно, для сохранения высокой противоопухолевой активности и возможности адресной доставки необходимо сохранять оба азиридиновых фрагмента, а линкер (например, азидный) вводить дополнительно, не замещая алкилирующие центры. Только такая конструкция обеспечит эффективное сшивание ДНК и платформу для конъюгации с векторными молекулами.

Заключение. Синтезированное соединение с одним азиридиновым циклом и азидсодержащим линкером проявило лишь незначительный противоопухолевый эффект, существенно уступая диоксадэту, содержащему два азиридиновых фрагмента (IC_{50} 11,8 мкМ для линии рака шейки матки HeLa). Таким образом,

хотя введение азидного линкера открывает путь к адресной доставке, замена одного из двух азиридинов на полиэтитоксильный фрагмент приводит к потере противоопухолевой активности. Для сохранения высокого цитотоксического потенциала необходимо сохранять оба азиридиновых кольца, а азидную группу вводить за счёт дополнительной модификации, не затрагивающей алкилирующие центры. Данное исследование подчёркивает ключевую роль двух азиридиновых циклов при создании конъюгатов для таргетной терапии.

Список литературы

1. Giraldi T., Nisi C., Sava G. Antitumor aziridines: a review of structure-activity relationships. // *Medicinal Research Reviews*. – 1981. – Vol. 1, No. 3. – P. 221-250.
2. Singh R.K., Kumar S., Tomar R. et al. DNA alkylating agents in cancer therapy: from past to future. // *Current Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 22, No. 30. – P. 3483-3510.
3. Popova E.A., Protas A.V. и др. Synthesis and cytotoxicity of novel dioksadet derivatives with two aziridine rings. // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. – 2020. – Vol. 46, No. 5. – P. 789-795.
4. Kolb H.C., Finn M.G., Sharpless K.B. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2001. – Vol. 40, No. 11. – P. 2004-2021.
5. Sambrook J., Russell D.W. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd ed. – Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. – Chapter 8. – 400 p.
6. Wolfe A., Shimer G.H., Meehan T. Polycyclic aromatic hydrocarbons physically intercalate into DNA. // *Biochemistry*. – 1987. – Vol. 26, No. 20. – P. 6392-6396.
7. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. // *Journal of Immunological Methods*. – 1983. – Vol. 65, No. 1-2. – P. 55-63.
8. Freshney R.I. *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications*. 7th ed. – Hoboken: Wiley-Blackwell, 2016. – Chapter 20. – 688 p.
9. Pérez B.C., Teixeira C., Gomes P. et al. Polyethylene glycol linkers in drug conjugates: impact on solubility, stability and bioactivity. // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2018. – Vol. 144. – P. 476-489.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ НА ПОСЛЕДИПЛОМНОМ ЭТАПЕ – УГЛУБЛЕННОЕ ВЫСШЕЕ ОБРАЗОВАНИЕ

Чиркин А.А., Данченко Е.О.

Чиркин А.А.

*Доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры химии и естественнонаучного образования УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»,
г. Витебск, Беларусь
alexchir43@gmail.com*

Данченко Е.О.

*Доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры химии и естественнонаучного образования УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»,
г. Витебск, Беларусь
elena.danch@gmail.com*

Статья посвящена некоторым важным проблемам организации обучения лиц, уже имеющих высшее образование, в условиях углубленной формы подготовки, в частности, при обучении в магистратуре. Приведен опыт авторов по организации учебного процесса дисциплины «Научно-исследовательский семинар». Рассмотрены особенности углубленного обучения студентов в России, Китае и Республике Беларусь. Сделан акцент на подготовку оригинальных учебников, УМК и научных статей. Оценены перспективы развития углубленной формы высшего образования. Статья инициирована мероприятиями БГМУ, связанными с 80-летием профессора Е.В. Барковского.

Ключевые слова: юбилей Е.В. Барковского; углубленное высшее образование; магистратура; аспирантура; докторантура; Россия; Китай; Беларусь.

IMPROVEMENT OF HIGHER EDUCATION AT THE POSTGRADUATE STAGE — ADVANCED HIGHER EDUCATION

Chirkin A.A.

*Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor in the Department of Chemistry and Natural Science Education, Vitebsk State P.M. Masherov University, Vitebsk, Belarus
alexchir43@gmail.com*

Danchenko E.O.

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor in the Department of Chemistry and Natural Science Education, Vitebsk State P.M. Masherov University, Vitebsk, Belarus
elena.danch@gmail.com*

The article addresses some important problems of organizing education for persons who already have higher education, in the context of an advanced form of training, in particular, when studying in a master's program. The authors share their experience

organizing the educational process for the "Research Seminar" course. The specifics of advanced training for students in Russia, China, and the Republic of Belarus are examined. Emphasis is placed on the development of original textbooks, teaching and methodological kits, and research articles. The prospects for developing advanced higher education are assessed. This article was initiated by events held at Belarusian State Medical University (BSMU) commemorating the 80th anniversary of Professor E.V. Barkovsky.

Key words: *E.V. Barkovsky's anniversary; advanced higher education; master's degree; postgraduate study; doctoral studies; Russia; China; Belarus.*

Заведующий кафедрой общей химии БГМУ Лауреат государственной премии Республики Беларусь Барковский Е.В. (1946-2015) внес неоценимый вклад в развитие химических и биохимических подходов к решению фундаментальных проблем биологии: методы предсказания вторичной структуры белков, установление филогенетических взаимоотношений между гомологичными белками разных биологических видов, оценка мутационного давления в рамках теории Н. Суеoka, влияние этанола на ключевые ферменты гликолиза, выяснение молекулярного механизма помутнения хрусталика и многое другое. Между кафедрами общей химии БГМУ, биохимии ВГМУ, а также химии и естественнонаучного образования ВГУ имени П.М. Машерова поддерживалась связь по внедрению новых педагогических инноваций в преподавании химических дисциплин и подготовке высококвалифицированных специалистов.

Авторы статьи решили поделиться своим опытом создания трех поколений учебников по биохимии [1-3]. Если рассмотреть грифы учебников, то выявляется определенная закономерность: учебное пособие 2010 года «Допущено Министерством образования Республики Беларусь в качестве учебного пособия для студентов и магистрантов высших учебных заведений по биологическим и медицинским специальностям», учебник 2017 года «Утверждено Министерством образования Республики Беларусь в качестве учебника для студентов и магистрантов учреждений высшего образования по биологическим специальностям», а учебник 2023 года «Утверждено Министерством образования Республики Беларусь в качестве учебника для студентов учреждений высшего образования по направлениям образования «Биологические и смежные науки», «Окружающая среда» и специальности «Природоведческое образование (с указанием предметных областей)». Таким образом, дисциплина «Биохимия», как одна из важнейших дисциплин биологического профиля, получала все более четкие ориентиры в системе высшего образования и магистратуры. Но если в первых двух учебниках упоминалась магистратура, то в третьем учебнике даны более широкие границы его использования без упоминания магистратуры.

Однако, магистратура функционировала и появилась необходимость подготовки специальных методических пособий для изучения дисциплин, сопряженных с биохимией и биологией. Подготовлены и изданы 3 учебных пособия (УМК) для специальности второй ступени высшего образования 1-31 80 01 Биология. Функциональная биология: «Клеточная биология», «Молекулярные механизмы биосигнализации» и «Молекулярная биология раковой клетки» [4-6]. В текущем

году был издан учебно-методический комплекс «Научно-исследовательский семинар» уже для специальностей углубленного высшего образования (магистратуры): 7-06-0511-01 Биология, 7-06-0113-03 Природоведческое образование [7].

Рассмотрим более детально УМК «Научно-исследовательский семинар», поскольку эта дисциплина является ключевой в научной и практической подготовке студентов углубленной формы высшего образования. Учебно-методический комплекс разработан для студентов углубленной формы очного и дистанционного образования (магистратура) на факультете химико-биологических и географических наук для специальности 7-06-0511-01 Биология, профилизация – Функциональная биология в соответствии с учебной программой «Научно-исследовательский семинар» авторов А.А. Чиркина и Е.О. Данченко, утвержденной 27.06.2025 г. и для специальности 7-06-0113-03 Природоведческое образование, профилизация – Методика преподавания химии авторов Е.Я. Аршанского и И.С. Борисевич, утвержденной 27 июня 2025 года. В теоретическом разделе УМК представлены 12 тем, в том числе: методология научного познания; современные тенденции научных исследований в биологии и химии; введение в количественную биологию; экспрессия генов; регуляция экспрессии генов; изучение структурной организации белков; поиск научной информации и методы статистической обработки результатов; правила написания статьи и принципы научной этики; искусство научной презентации; правила написания научных заявок на гранты; структура и требования к магистерской диссертации; процедура защиты магистерской диссертации и критерии оценки. Каждая тема завершается перечнем тестов и задач. Имеется раздел ответов к тестам и задачам. В практическом разделе приведены примерные темы практических занятий. В разделе контроля знаний приведены задания по управляемой самостоятельной работе и темы рефератов; программные вопросы для контроля и ориентировочные критерии оценки знаний студентов. Завершается УМК вспомогательным разделом, в котором приведен список литературы.

Для оценки перспектив развития углубленного высшего образования были проанализированы доступные источники периодической печати и данные информационно-аналитических систем. Нам хотелось увидеть общие тенденции развития углубленной формы образования в ближайшем будущем без претензий на обсуждение их правомочности. Например, были использованы ссылки на нормативные документы: для России – Указ Президента №343 (2023 г.) и последующие разъяснения Минобрнауки, а также выступление первого заместителя председателя Комитета ГД РФ по науке и высшему образованию К. Горячевой; для Китая – данные Ministry of Education of China или официальные сайты университетов; для Беларуси – Образовательные стандарты ОСВО 2023 г. и материалы ведущих университетов.

Россия находится на пороге масштабного изменения системы высшего образования, самого значительного за последние два десятилетия. С 1 сентября 2026 года начинается поэтапный переход к новой национальной системе высшего образования с отказом от Болонской модели. Пилотный проект продлится до

2030 года (Указ Президента РФ №343 от 12.05.2023). Привычная двухступенчатая система (бакалавриат – магистратура) заменяется новой структурой. В ней выделяются три уровня:

1. **Базовое высшее образование** – срок обучения от 4 до 6 лет (4 года для некоторых направлений, до 6 лет – для инженерных и медицинских).

2. **Специализированное высшее образование** – срок обучения 1-3 года. Это обновлённый и более гибкий формат прежней магистратуры.

3. **Аспирантура** становится третьим уровнем системы высшего образования (профессиональное образование), следующим за специализированным высшим образованием. Примечательно, что для поступления в аспирантуру обучение в магистратуре (специализированном высшем образовании) не является обязательным – она выделяется в отдельный самостоятельный уровень профессионального образования.

Китай последовательно и успешно интегрирует свою систему высшего образования в мировое образовательное пространство. Китайская система четко разделена на этапы, аналогичные Болонской модели, но с национальной спецификой: бакалавриат – 4 года; магистратура – 2-3 года; докторантура – 3-4 года. В отдельных случаях – до 5 лет для докторантуры при поступлении сразу после бакалавриата. Китай активно работает над повышением качества и престижа своих магистерских программ для привлечения иностранных студентов.

Республика Беларусь присоединилась к Болонскому процессу в 2015 году и продолжает развивать двухуровневую систему с учетом национальных особенностей. Особенности углубленного образования: магистратура – вторая ступень высшего образования и готовит научно-педагогические кадры; аспирантура – первая ступень послевузовского образования, которая готовит научных работников высшей квалификации; докторантура – вторая ступень послевузовского образования, целью которой является подготовка докторов наук.

Представляет определенный интерес сравнение тем диссертационных исследований (магистерских диссертаций). В России магистерские работы сильнее привязаны к медицине и биотехнологиям (ориентация на заболевания, фармакотерапию, клеточные процессы), в Китае – к разработке новых аналитических методов и химической биологии (акцент на методах анализа и синтеза на стыке химии и биологии), в Республике Беларусь сохраняется традиционная природоведческая и экологическая тематика. Однако подобное мнение не является строгим и требуется специальная дополнительная проработка этого вопроса.

Существенным фактором подготовки магистрантов являются публикации в научно-педагогических журналах. Для подготовки УМК «Научно-исследовательский семинар» было опубликовано 8 статей в журнале Біялогія і хімія [8-15]. Это доступный журнал, посвященный повышению квалификации педагогов и их обмена опытом.

Заключение. Республика Беларусь находится в активной фазе реформы высшего образования. Прошлый 2025 год стал принципиально важным, поскольку были утверждены новые образовательные стандарты, создана новая система УМО, разработаны методические указания для магистратуры и интегрированных программ. Официального отказа от Болонской системы не

публиковалось. Изменения в образовательных стандартах направлены на адаптацию Болонских принципов к национальным условиям. Основное отличие белорусского подхода – акцент на интеграцию высшего и среднего специального образования, что создает непрерывные траектории обучения.

Список литературы

1. Чиркин А.А. Биохимия: Учебное руководство /А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. – М.: Мед. Лит., 2010. – 624 с.
2. Чиркин А.А. Биологическая химия: учебник /А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. – Минск: Вышэйшая школа, 2017. – 431 с.
3. Чиркин А.А. Биологическая химия: учебник /А.А. Чиркин, Е.О. Данченко, В.В. Хрусталева. – Минск: Вышэйшая школа, 2023. – 478 с.
4. Клеточная биология для специальности второй ступени высшего образования 1-31 80 01 Биология. Функциональная биология: учебно-методический комплекс по учебной дисциплине / сост.: А.А. Чиркин, Е.И. Кацнельсон. – Витебск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2021. – 140 с.
5. Молекулярные механизмы биосигнализации для специальности второй ступени высшего образования 1-31 80 01 Биология. Функциональная биология: учебно-методический комплекс по учебной дисциплине / сост.: А.А. Чиркин, О.М. Балаева-Тихомирова. – Витебск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2021. – 132 с.
6. Молекулярная биология раковой клетки для специальности второй ступени высшего образования 1-31 80 01 Биология. Функциональная биология: учебно-методический комплекс по учебной дисциплине / сост.: А.А. Чиркин, Т.А. Толкачева. – Витебск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2021. – 100 с.
7. Научно-исследовательский семинар для специальностей углубленного высшего образования (магистратуры): 7-06-0511-01 Биология, 7-06-0113-03 Природоведческое образование: учебно-методический комплекс по учебной дисциплине / сост.: А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. – Витебск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2026. – 106 с.
8. Чиркин, А.А. Редактирование геномов / А.А. Чиркин // Біялогія і хімія. – 2021. – № 2(86). – С. 3-10.
9. Чиркин, А.А. Биологические и химические аспекты изучения вирусов / А.А. Чиркин // Біялогія і хімія. – 2022. – № 1 (91). – С. 18-24.
10. Чиркин, А.А. Количественная и структурно-функциональная характеристика клеток / А.А. Чиркин // Біялогія і хімія. – 2022. – № 3 (93). – С. 19-25.
11. Чиркин, А.А. Экспрессия генов: от Ф. Крика (1958) до М. Никитина (2023) / А.А. Чиркин // Біялогія і хімія. – 2023. – № 2 (98). – С. 3-16.
12. Чиркин, А.А. Введение в количественную биохимию / А.А. Чиркин // Біялогія і хімія. – 2023. – № 5 (101). – С. 3-8.
13. Чиркин, А.А. Развитие биоинженерии: медико-биологические и информационно-коммуникационные технологии / А.А. Чиркин // Біялогія і хімія. – 2024. – № 4 (106). – С. 40-49; № 5 (107). – С. 3-17.
14. Чиркин, А.А. Молекулярные механизмы контроля экспрессии генов: роль микроРНК / А.А. Чиркин, Е.О. Данченко // Біялогія і хімія. – 2025. – № 1 (109). – С. 28-36.
15. Чиркин, А.А. Структурно-функциональные характеристики белков: Нобелевская премия по химии 2024 года / А.А. Чиркин, П.Ю. Пинчук // Біялогія і хімія. – 2025. – № 3 (111). – С. 3-11.

СИНТЕЗ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ В БИОПОЛИМЕРНОЙ МАТРИЦЕ НА ОСНОВЕ

ДИАЛЬДЕГИДКАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ/СЕРИЦИНА

*Йулдошов Ш.А., Юнусов Х.Э., Шарибов И.И., Ғойибназаров И.Ш.,
Норбоева Ж.С., Саримсаков А.А.*

Йулдошов Ш.А.

*Доктор химических наук, старший научный сотрудник
Институт химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбеки-
стан, г. Ташкент, Узбекистан.
sherzodbek_y@mail.ru*

Юнусов Х.Э.

*Доктор технических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабо-
раторией
Институт химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбеки-
стан, г. Ташкент, Узбекистан*

Шарибов И.И.

*Докторант, младший научный сотрудник
Институт химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбеки-
стан, г. Ташкент, Узбекистан
sharibovimomjon@gmail.com*

Ғойибназаров И.Ш.

*PhD, младший научный сотрудник
Институт химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбеки-
стан, г. Ташкент, Узбекистан*

Норбоева Ж.С.

*Младший научный сотрудник
Институт химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбеки-
стан, г. Ташкент, Узбекистан*

Саримсаков А.А.

*Доктор технических наук, профессор
Институт химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбеки-
стан, г. Ташкент, Узбекистан*

В данном исследовании изучен процесс формирования серебряных наночастиц (Ag НЧ) в матрице привитого сополимера на основе диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы (ДАКМЦ) и шелкового серицина. В результате образования оснований Шиффа между альдегидными группами ДАКМЦ и аминоклуппами серицина формируется устойчивая биополимерная сеть, обеспечивающая одновременную редукцию и стабилизацию наночастиц. Механизм фотохимического восстановления ионов серебра до металлического состояния, а также их взаимодействие с полимерной матрицей были всесторонне проанализированы. Структура и морфология полученных нанокомполитов охарактеризованы с использованием методов ИК-Фурье и УФ-видимой спектроскопии. Согласно результатам исследования, установлено, что стабильные серебряные наночастицы сферической и игольчатой формы размером 30–90 нм равномерно

распределены в полимерной матрице. Полученные результаты свидетельствуют о высоком потенциале биополимерных систем на основе ДАКМЦ/серицин для применения в качестве функциональных нанокомпози́тов, в частности, при разработке антимикробных материалов.

Ключевые слова: диальдегидкарбоксиметилцеллюлоза, серицин, привитой сополимер, серебряные наночастицы, основания Шиффа, биополимерная матрица, нанокомпозит, фотохимическая редукция, антимикробные материалы.

SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES IN A BIOPOLYMER MATRIX BASED ON DIALDEHYDE CARBOXYMETHYL CELLULOSE/SERICIN

Yuldoshev Sh.A.

Doctor of Chemical Sciences, Senior Researcher
Institute of Polymer Chemistry and Physics, Academy of Sciences of the Republic
of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan
E-mail: sherzodbek_y@mail.ru

Yunusov H.E.

Doctor of Technical Sciences, Leading Researcher, Head of Laboratory
Institute of Polymer Chemistry and Physics, Academy of Sciences of the Republic
of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

Sharibov I.I.

Doctoral Student, Junior Researcher
Institute of Polymer Chemistry and Physics, Academy of Sciences of the Republic
of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan
E-mail: sharibovimomjon@gmail.com

Goyibnazarov I.Sh.

PhD, Junior Researcher
Institute of Polymer Chemistry and Physics, Academy of Sciences of the Republic
of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

Norboeva J.S.

Junior Researcher
Institute of Polymer Chemistry and Physics, Academy of Sciences of the Republic
of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

Sarimsakov A.A.

Doctor of Technical Sciences, Professor
Institute of Polymer Chemistry and Physics, Academy of Sciences of the Republic
of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

Abstract. In this study, the formation of silver nanoparticles (Ag NPs) within a graft copolymer matrix based on dialdehyde carboxymethyl cellulose (DCMC) and silk sericin was investigated. The formation of Schiff bases between the aldehyde groups of DCMC and the amino groups of sericin leads to the development of a stable biopolymer network, which enables both the reduction and stabilization of nanoparticles. The mechanism of photochemical reduction of silver ions to the metallic state, as well as their interaction with the polymer matrix, was comprehensively analyzed. The structure

and morphology of the obtained nanocomposites were characterized using Fourier-transform infrared (FTIR) and UV–visible spectroscopy methods.

According to the obtained results, stable silver nanoparticles with spherical and needle-like morphologies, with sizes in the range of 30–90 nm, were uniformly distributed within the polymer matrix. The findings demonstrate the high potential of DCMC/sericin-based biopolymer systems for application as functional nanocomposites, particularly in the development of antimicrobial materials.

Key words: dialdehyde carboxymethyl cellulose; sericin; graft copolymer; silver nanoparticles; Schiff bases; biopolymer matrix; nanocomposite; photochemical reduction; antimicrobial materials.

В последние годы значительно возрос спрос на устойчивые, биodeградируемые и биомассовые материалы, что значительно увеличило интерес к созданию функциональных материалов на основе природных полимеров, в частности, полисахаридов и белков [1–3]. Целлюлоза и ее производные, включая натрий карбоксиметилцеллюлозу (NaКМЦ), благодаря высокой гидрофильности, биомассовости и склонности к химической модификации, широко применяются в различных научных и практических областях [4–7]. В то же время, возможность функционализации производных целлюлозы с целью увеличения их реакционной способности и создания новых композитных систем продолжает расширяться [8–9].

Окисление NaКМЦ для получения диалдегидкарбоксиметилцеллюлозы (ДКМЦ) позволяет вводить в целлюлозную цепь высокореактивные альдегидные группы [10–12]. Это превращает ДКМЦ в эффективную матрицу для синтеза химических связей с биополимерами, содержащими аминогруппы и сохраняя их с помощью основ Шиффа [13–15]. В частности, гидрогели и композиты на основе ДКМЦ обладают высокой механической стабильностью, биомассовостью и функциональными свойствами, как показано во многих исследованиях [16–17].

Тем не менее, исследование формирования серебряных наночастиц в матрицах с диалдегидкарбоксиметилцеллюлозой и серицином, а также факторов, влияющих на их механизм образования, морфологию и стабильность, недостаточно развито. В частности, данные о влиянии взаимного взаимодействия альдегид-амин на размер и распределение наночастиц в сетчатых структурах ограничены.

Целью данной работы является синтез пайванд-сополимеров на основе диалдегидкарбоксиметилцеллюлозы и серицина, а также исследование процесса формирования серебряных наночастиц в этих биополимерных матрицах. Влияние полимерной матрицы на механизм формирования, морфологию, размер и стабильность наночастиц было проанализировано с использованием спектроскопических и микроскопических методов.

Материалы. В исследованиях использовали диалдегидкарбоксиметилцеллюлозу (ДКМЦ) со степенью окисления 82 % и молекулярной массой 141 кДа, полученную из Na-КМЦ марки Asdacell HV, произведённой компанией Promxim Imprex (Узбекистан), серицин, выделенный из волокнистых отходов шелковой промышленности, а также нитрат серебра (AgNO_3) (Sigma-Aldrich).

2.1. Получение диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы

1 г Na-КМЦ растворяли в 30 мл воды с использованием механического мешалки. К полученному раствору добавляли 10 %-ный раствор NaIO_4 . Значение pH доводили до 3,5 путём капельного добавления 1 М раствора HCl . Реакцию окисления проводили под воздействием сверх высокочастотного (СВЧ) излучения мощностью 70 Вт (10 %) в течение 10 минут с охлаждением каждые 2 минуты. Температура реакции не превышала 35 °С. Полученную массу осаждали в 300 мл 94 %-ного этанола, затем фильтровали и промывали 70 %-ным этанолом до нейтрального состояния. Полученный продукт высушивали в лиофильной сушилке в течение 6–8 часов.

2.2. Выделение серицина из натурального шелкового волокна

Серицин выделяли из натурального шелкового волокна методом термического гидролиза. Измельчённое шелковое волокно замачивали в воде в соотношении 1:10 и обрабатывали в автоклаве при температуре 110 °С в течение 24 часов. Полученную массу фильтровали, а фильтрат сушили в лиофильной сушилке в течение 8–10 часов.

2.3. Синтез привитого сополимера ДКМЦ/серицин

Готовили 2 %-ный раствор ДКМЦ, который смешивали с 3 %-ным раствором серицина в массовом соотношении 1:1. Реакцию образования оснований Шиффа проводили при 60 °С в течение 1 часа. Полученный раствор высушивали в чашках Петри при 37 °С.

2.4. Формирование серебряных наночастиц в матрице привитого сополимера ДКМЦ/серицин

Для формирования серебряных наночастиц в матрице сополимера использовали 0,1 М водный раствор нитрата серебра (AgNO_3) аналитической чистоты (по ГОСТ 277-75). Готовили 2 %-ный водный раствор сополимера, к которому при температуре 25 °С добавляли 3–10 мл раствора AgNO_3 концентрацией 0,1 М (pH = 5,14). Смесь перемешивали в течение 30 минут при скорости 1400 об/мин, затем обрабатывали в ультразвуковом диспергаторе (UZDN-2, U-4.2, Россия) в течение 20 минут. Полученные гидрогели и плёночные образцы исследовали методами ИК-Фурье и УФ-спектроскопии.

2.5. ИК-Фурье-спектроскопия

ИК-спектры регистрировали на приборе Inventio-S IR Fourier (Bruker, Германия). Спектры анализировали в диапазоне 500–4000 см^{-1} с разрешением 0,085 см^{-1} .

2.6. УФ-спектроскопия

УФ-спектры образцов регистрировали на спектрофотометре «Specord M210» в диапазоне длин волн 200–900 нм.

Обсуждение и результаты. В наших предыдущих исследованиях был изучен процесс синтеза диальдегидкарбоксиметилцеллюлозы (ДКМЦ) с высокой степенью окисления (82 %) и молекулярной массой 141 кДа, полученной методом периодатного окисления под воздействием сверхвысокочастотного излучения (СВЧ) [10].

При этом реакции окисления образцов Na-КМЦ в различных условиях под воздействием СВЧ-излучения в присутствии натрия периодата протекают согласно следующему уравнению:

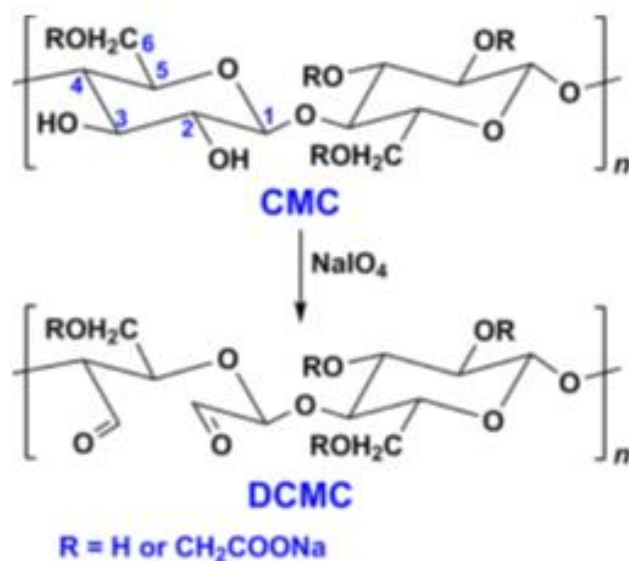


Рис. 1. Реакция окисления Na-КМЦ в присутствии натрия периодата

Кроме того, под воздействием сверхвысокочастотного излучения (СВЧ) были установлены условия получения серицина с высоким выходом и эффективностью из волокнистых отходов шелковой промышленности [11].

Процесс синтеза привитого сополимера на основе полученных ДКМЦ и серицина представлен на рисунке 2.

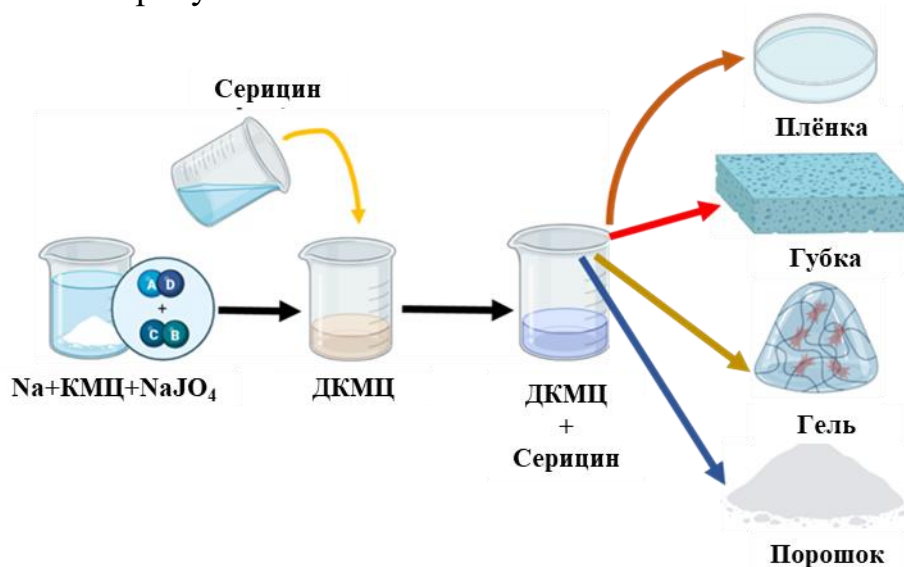


Рис. 2. Синтез привитого сополимера ДКМЦ/серицин

При этом аминогруппы и альдегидные группы вступают в реакцию нуклеофильного присоединения [10], в результате чего образуются основания Шиффа и формируется привитый сополимер за счёт образования иминных (карбиноламинных) связей [12].

Новые полосы поглощения в составе полученного привитого сополимера ДКМЦ/серицин были исследованы методом ИК-спектроскопии.

Как видно из рисунка 3, при образовании сополимера ДКМЦ/серицин наблюдается исчезновение полосы поглощения в области 1726 см^{-1} , характерной для карбонильной группы ($-\text{C}=\text{O}$) диальдегида. В составе полученного сополимера ДКМЦ/серицин выявлены полосы поглощения, соответствующие амидным группам серицина (амид I, II и III) в областях 1620 , 1516 и 1240 см^{-1} соответственно [13].

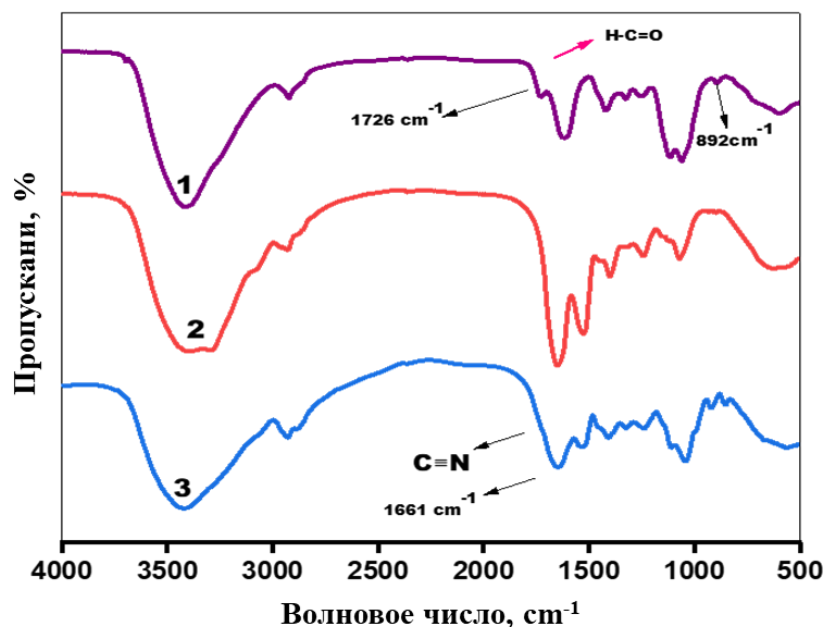


Рис. 3. ИК-спектры ДКМЦ (1), серицина (2) и привитого сополимера ДКМЦ/серицин (3)

Кроме того, в спектре сополимера появилась новая полоса поглощения при 1661 см^{-1} , характерная для иминной связи ($\text{C}=\text{N}$), что подтверждает образование оснований Шиффа.

Формирование серебряных наночастиц в матрице привитого сополимера осуществлялось по методике, описанной в работе [14]. Результаты анализа серебряных наночастиц, сформированных в матрице сополимера, методом УФ-спектроскопии представлены на рисунке 4.

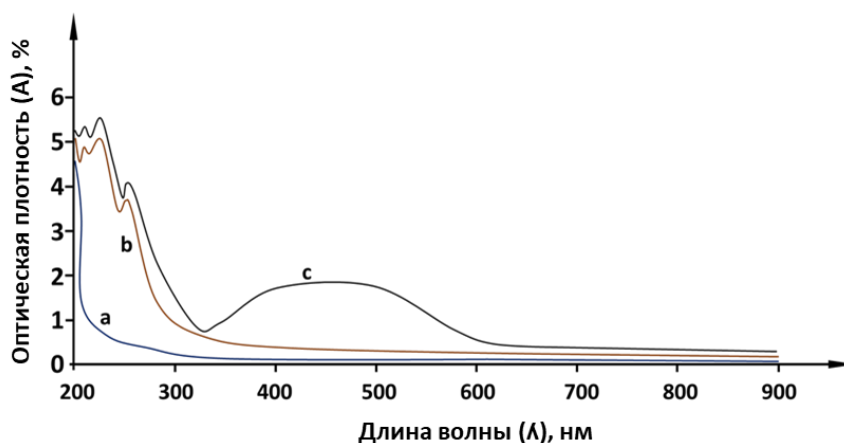


Рис. 4. УФ-спектры образцов привитого сополимера ДКМЦ/серицин, содержащих серебряные наночастицы: (а) ДКМЦ/серицин; (b) Ag^+ /ДКМЦ/серицин; (с) Ag^0 /ДКМЦ/серицин

УФ-спектры привитого сополимера ДКМЦ/серицин и его образцов, модифицированных ионами серебра и наночастицами, были проанализированы в диапазоне 200–800 нм (рис. 4). В полученных спектрах чётко выделяются три характерных состояния: (а) исходная сополимерная матрица, (б) система, комплексированная ионами Ag^+ , и (с) система, содержащая наночастицы Ag^0 , образованные в результате фотооблучения.

Для исходного сополимера ДКМЦ/серицин в спектре наблюдается широкая полоса поглощения низкой интенсивности в области 260–290 нм. Данный сигнал обусловлен электронными переходами $n \rightarrow \pi^*$ и $\pi \rightarrow \pi^*$, связанными с ароматическими аминокислотами серицина (тирозин, триптофан), а также карбонильными ($\text{C}=\text{O}$) и иминными ($\text{C}=\text{N}$) группами [13,28]. Это косвенно подтверждает успешное образование оснований Шиффа в структуре сополимера.

В образце с введёнными ионами серебра (Ag^+) наблюдается увеличение интенсивности поглощения и расширение спектральной полосы в области 270–300 нм. Это связано с образованием координационных комплексов между ионами Ag^+ и функциональными группами полимерной матрицы ($-\text{CHO}$, $-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_2$). Кроме того, перераспределение электронной плотности приводит к усилению $n \rightarrow \pi^*$ переходов. На данном этапе металлические наночастицы ещё не формируются, и в системе преобладают ион–полимерные взаимодействия.

После фотооблучения в спектре образца появляется выраженный максимум поглощения в диапазоне 400–450 нм ($\lambda_{\text{max}} \approx 420\text{--}430$ нм). Данный пик соответствует поверхностному плазмонному резонансу (Surface Plasmon Resonance, SPR), характерному для серебряных наночастиц, и свидетельствует об успешной редукции $\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}^0$ [16,27]. Относительная ширина и асимметричная форма SPR-пика указывают на полидисперсность наночастиц и их различную морфологию (преимущественно сферическую с частичным присутствием анизотропных форм).

Расположение SPR-пика в области около 420 нм свидетельствует о том, что размер наночастиц находится примерно в диапазоне 20–80 нм. Смещение пика в сторону длинных волн и увеличение его интенсивности могут быть связаны с процессами кластеризации и межчастичного взаимодействия в полимерной матрице. Это подтверждает, что матрица ДКМЦ/серицин выполняет не только восстановительную, но и эффективную стабилизирующую функцию.

Заключение. В данной работе была исследована возможность формирования серебряных наночастиц в матрице привитого сополимера ДКМЦ/серицин. Результаты SEM-анализа показали, что исходная полимерная матрица характеризуется аморфной, слоистой и микропористой структурой, при этом после формирования серебряных наночастиц наблюдаются существенные изменения морфологии.

Установлено, что наночастицы формируются в диапазоне размеров 30–90 нм, преимущественно сферической формы с частичным присутствием анизотропной морфологии. Их относительно равномерное распределение в матрице обусловлено высокой стабилизирующей способностью системы ДКМЦ/серицин.

Результаты физико-химических методов анализа (SEM, UV–Vis) достоверно подтверждают кристаллическую природу и размеры наночастиц. Наличие элементов анизотропной морфологии связано с конкурирующими кинетическими механизмами стадий нуклеации и роста в процессе фотохимической редукции.

На основании проведённых исследований был синтезирован привитый сополимер ДКМЦ/серицин, содержащий стабилизированные серебряные наночастицы размером 30–90 нм.

Данная работа выполнена в лаборатории «Химия и технология целлюлозы и её производных» Института химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбекистан в рамках базовой научно-исследовательской программы «Научные основы функционализации природных биополимеров и их производных с целью их активации» (2026 г.), а также в рамках прикладного проекта AL-9224093626 «Получение полимерных бактерицидных препаратов, содержащих биметаллические наночастицы, для лечения онкологических заболеваний».

Список литературы

1. Klemm D., Neublein B., Fink H. P., Bohn A. Целлюлоза: удивительный биополимер и устойчивое сырьё // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2018. – Т. 57. – С. 137–152.
2. Habibi Y. Ключевые достижения в химической модификации наноцеллюлозы // *Chemical Society Reviews*. – 2018. – Т. 47. – С. 1519–1542.
3. Isikgor F. H., Becer C. R. Лигноцеллюлозная биомасса как устойчивая платформа для получения биохимикатов и полимеров // *Polymer Chemistry*. – 2018. – Т. 9. – С. 382–399.
4. George J., Sabapathi S. N. Нанокристаллы целлюлозы: синтез, свойства и применение // *Carbohydrate Polymers*. – 2019. – Т. 218. – С. 240–257.
5. Rahman M. S., Hasan M. S., Nitai A. S. и др. Современные достижения в области карбоксиметилцеллюлозы // *Polymers*. – 2021. – Т. 13. – Ст. 1345.
6. Roy D., Semsarilar M., Guthrie J. T., Perrier S. Модификация целлюлозы методом прививки полимеров // *Progress in Polymer Science*. – 2019. – Т. 88. – С. 125–151.
7. Li J., Cai W., Gao J. и др. Функциональные материалы на основе целлюлозы // *Carbohydrate Polymers*. – 2020. – Т. 231. – Ст. 115734.
8. Zhao Z., Gao J., Cai W. и др. Гидрогели на основе окисленной КМЦ для доставки лекарств // *European Polymer Journal*. – 2023. – Т. 199. – Ст. 112437.
9. Sethi S., Kaith B. S., Kaur M. и др. Гидрогели на основе диальдегидной КМЦ // *Journal of Chemical Sciences*. – 2020. – Т. 132. – Ст. 15.
10. Goyibnazarov I. S., Yuldoshov S. A. и др. Физико-химические характеристики сополимера ДКМЦ/серицин // *Journal of Polymer Research*. – 2025. – Т. 32. – Ст. 205.
11. Heinze T., Koschella A., Kull A. H. Производные целлюлозы // *Cellulose Chemistry and Technology*. – 2018. – Т. 52. – С. 113–130.
12. Dash R. и др. Композиты на основе полисахаридов и белков // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2021. – Т. 182. – С. 1325–1345.
13. Ahmed S., Ahmad M., Swami B. L., Ikram S. «Зелёный» синтез серебряных наночастиц // *Journal of Advanced Research*. – 2018. – Т. 7. – С. 17–28.
14. Irvani S. «Зелёный» синтез металлических наночастиц // *Green Chemistry*. – 2019. – Т. 21. – С. 173–185.
15. Dhand C. и др. Нанокompозиты на основе биополимеров // *Biotechnology Advances*. – 2021. – Т. 45. – Ст. 107653.
16. Yunusov K. E., Sarymsakov A. A., Jalilov J. Z. O., Atakhanov A. A. O. Физико-химические свойства и антимикробная активность нанокompозитных плёнок на основе карбоксиметилцеллюлозы и серебряных наночастиц // *Polymers for Advanced Technologies*. – 2021. – Т. 32, № 4. – С. 1822–1830.

17. Singh P. и др. Биологический синтез наночастиц // *Nanomaterials*. – 2021. – Т. 11. – Ст. 152.
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H.P., & Bohn, A. (2018). Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition*, 57, 137–152.

**СЕРИЦИН НАТУРАЛЬНОГО ШЕЛКА: ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ
ГИДРОТЕРМИЧЕСКОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ
НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА**

Юлдошов Ш.А., Ярматов С.С., Гойибназаров И.Ш., Сарымсаков А.А.

Юлдошов Ш.А.

*Доктор химических наук, старший научный сотрудник
Институт химии и физики полимеров Академии наук
Республики Узбекистан
sherzodbek_y@mail.ru*

Ярматов С.С.

*Кандидат химическим наук, старший научный сотрудник
Институт химии и физики полимеров Академии наук
Республики Узбекистан,
sardor.yarmatov@yandex.com*

Гойибназаров И.Ш.

*Кандидат химическим наук, младший научный сотрудник
Институт химии и физики полимеров Академии наук
Республики Узбекистан,
igoyibnazarov@bk.ru*

Сарымсаков А.А.

*Доктор технических наук, профессор Институт химии и физики полимеров Академии наук
Республики Узбекистан
sarymsakov1948@gmail.com*

В данной научной работе исследован процесс выделения серицина из волокнистых отходов натурального шелка путем гидротермальной обработки при воздействии повышенных температуры и давления. Процесс гидротермального гидролиза осуществляли при температурах 100 и 110°C в течении 2–24 часов, в результате чего из природного шелка были выделены образцы серицина с молекулярной массой 20–240 кДа с выходом продукта 10–29,9 %. Физико-химические свойства полученных образцов серицина были проанализированы с использованием современных методов исследования.

Ключевые слова: *натуральный шёлк, серицин, молекулярная масса, аминокислотный состав, вязкость*

SILK SERICIN FROM NATURAL SILK: INFLUENCE OF HYDROTHERMAL EXTRACTION CONDITIONS ON PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES

Yuldoshov Sh.A.

*Doctor of Chemical Sciences, Senior Researcher Institute of Polymer Chemistry
and Physics Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
sherzodbek_y@mail.ru*

Yarmatov S.S.

*Candidate of Chemistry, Senior Researcher Institute of Polymer Chemistry and
Physics Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
sardor.yarmatov@yandex.com*

Goyibnazarov I.Sh.

*Candidate of Chemistry, Junior Researcher Institute of Polymer Chemistry and
Physics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,
igoyibnazarov@bk.ru*

Sarymsakov A.A.

*Doctor of Technical Sciences, Professor Institute of Polymer Chemistry and
Physics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
sarymsakov1948@gmail.com*

In this work, the process of sericin extraction from fibrous waste of natural silk by hydrothermal treatment under high temperature and high pressure was investigated. Hydrothermal hydrolysis was carried out at temperatures of 100 and 110 °C for durations ranging from 2 to 24 hours, resulting in the isolation of sericin samples with molecular weights of 20–240 kDa with product yields of 10–29.9 %. The physicochemical properties of the obtained sericin samples were analyzed using modern analytical techniques.

Key words: *natural silk, sericin, molecular weight, amino content, viscosity*

Натуральный шёлк содержит два типа белковых веществ: фиброин, обладающий волокнистой структурой [1] и серицин — белок с глобулярной структурой. Серицин соединяет макромолекулы фиброина между собой посредством дисульфидных [2], связей обеспечивая тем самым высокую механическую прочность натурального шёлкового волокна [3]. Содержание серицина в составе натурального шёлка составляет до 25–30 % от сухой массы, при этом он включает смесь из 18 аминокислот [4]. Аминокислотный состав серицина характеризуется тем, что около 70 % (0,7 доли от сухой массы) аминокислот имеют гидрофильную природу [5], среди которых 32,3 % приходится на серин [6], 4 % — на лейцин, 3 % — на аргинин [7], 3,39 % — на метионин и 0,44 % — на цистин [8]. Благодаря сложному составу, представленному смесью различных аминокислот, серицин находит широкое применение в различных областях [9]. В частности, серицин с молекулярной массой менее 20 кДа используется в биоматериалах, косметической продукции и медицине, тогда как серицин с молекулярной массой более 20 кДа широко применяется в косметологии, биотехнологии и фармацевтике [10]. В

настоящее время активно проводятся исследования по использованию биоматериалов на основе серицина в кожной инженерии, направленные на регенерацию тканей и улучшение их функций [11]. Благодаря таким свойствам, как биосовместимость и биоразлагаемость, серицин применяется в различных областях медицины [12]. Кроме того, серицин используется в индустрии упаковки пищевых продуктов [13]. Пищевые продукты, обработанные с использованием серицина, характеризуются увеличенным сроком хранения и повышенной устойчивостью к воздействию внешних факторов, включая ферменты и окислительные процессы (антиоксидантную защиту) [12].

Установлено, что биологическая, в частности антибактериальная активность серицина изменяется в зависимости от условий его получения. В частности, серицин, выделенный из натурального шёлка под воздействием карбонатных солей и давления, проявляет активность против бактерий *E. coli* и *S. aureus* [14]. Кроме того, образцы серицина с молекулярной массой менее 29 кДа также демонстрируют антибактериальные свойства [15].

Одним из важных свойств серицина является его антиоксидантная активность. Полярные функциональные группы, входящие в состав серицина, способны инактивировать различные свободные радикалы и тем самым предотвращать нарушения клеточного метаболизма. В частности, карбоксильные и гидроксильные группы в структуре серицина нейтрализуют неспаренные электроны свободных радикалов, что приводит к снижению их реакционной способности и утрате биологической активности [16].

В данном процессе также показана возможность использования хелатных комплексов серицина с металлами. Кроме того, серицин применяется при различных воспалительных заболеваниях, в замедлении процессов старения кожи, а также в составе пищевых продуктов для содействия расщеплению избыточного количества жиров [17].

Широкий спектр применения серицина и высокая эффективность его воздействия непосредственно зависят от его физико-химических свойств, а также условий выделения из состава натурального шёлка. В настоящее время серицин может быть получен с использованием физических методов. Преимуществом данного подхода является возможность выделения серицина без применения различных химических реагентов и дополнительных солей. Однако данный метод имеет ряд недостатков: процесс выделения серицина требует значительного времени и характеризуется низким выходом продукта [18].

Целью данной работы служит выделение серицина с различной молекулярной массой из натурального шёлка в условиях высоких температур и давления, а также изучение его физико-химических свойств.

Натуральный шёлк состоит из 65–75 % фиброина, 17–30 % серицина, а также 3–5 % органических и неорганических веществ. Степень чистоты фиброина, очищенного от жировосковых и минеральных примесей, была определена с помощью энергодисперсионного элементного анализатора рентгеновского спектрометра. По результатам энергодисперсионного спектрального анализа установ-

лено, что содержание элементов С, N и O, составляющих основу аминокислотного состава натурального шёлка, равно $59,27 \pm 1,33$, $10,99 \pm 1,81$ и $29,73 \pm 2,03$ мг/г (%) соответственно.

Серицин, являющийся одним из основных структурных компонентов натуральных шёлковых волокон, был выделен методом гидротермального гидролиза в водной среде. Установлено, что с повышением температуры и продолжительности гидролиза молекулярная масса выделяемого серицина снижается, тогда как содержание первичных аминогрупп ($-\text{NH}_2$) и карбоксильных групп ($-\text{COOH}$) в его составе возрастает.

При проведении гидротермального гидролиза при температуре 100°C в течение 2 часов молекулярная масса серицина составила 240 кДа, а выход продукта на данном этапе — 10 %. С увеличением продолжительности гидролиза молекулярная масса серицина резко снижалась: через 12 часов она составила 50 кДа, а через 24 часа — 30 кДа. Одновременно было установлено, что содержание свободных аминогрупп ($-\text{NH}_2$) в составе серицина возросло с 0,3 % до 5,8 %, а карбоксильных групп ($-\text{COOH}$) — с 0,1 % до 4,2 %. Данная закономерность объясняется глубокой деструкцией молекулярных цепей и образованием свободных функциональных групп.

При повышении температуры гидротермального гидролиза до 110°C была зафиксирована существенно более высокая скорость деструкции серицина. В ходе данного процесса молекулярная масса через 2 часа составила 200 кДа, а к 24-му часу снизилась до 20 кДа. Соответственно, содержание свободных групп $-\text{NH}_2$ и $-\text{COOH}$ возросло до 6,2 % и 4,8 % соответственно. При этом выход серицина в процессе гидролиза оказался достаточно высоким и к 24-му часу достиг 29,9 %.

В УФ-Вид спектре раствора серицина, полученного методом гидротермальной обработки при температуре 110°C и давлении 0,143 МПа в течение 24 часов, в диапазоне $\sim 215\text{--}225$ нм наблюдался интенсивный пик поглощения, характерный для ароматических аминокислот, таких как тирозин и фенилаланин. Слабый пик в области $250\text{--}280$ нм может свидетельствовать о наличии незначительных конформационных особенностей или окисленных боковых цепей. Отсутствие заметного поглощения выше 300 нм подтверждает прозрачность белка в видимой области спектра и отсутствие хромофорных примесей. Совокупность полученных результатов подтверждает белковую природу и высокую степень чистоты гидролизата серицина. В рамках настоящего исследования было изучено влияние различных методов выделения серицина из раствора на его физико-химические свойства: термического высушивания, осаждения с использованием органических растворителей, а также сублимационного высушивания с применением лиофильной сушилки.

Интенсивности поглощения, соответствующие функциональным группам в составе полученных образцов серицина, были проанализированы методом ИК-спектроскопии. В образцах, высушенных сублимационным методом с использованием лиофильной сушилки, в области поглощения $1630\text{--}1650\text{ см}^{-1}$, характерной для амида I ($\text{C}=\text{O}$), наблюдалась меньшая ширина полос поглощения по сравнению с образцами, полученными термическим методом. Это может

свидетельствовать о меньшем количестве водородных связей между сильными электроотрицательными группами в данных образцах. При высушивании образцов термическим методом в области поглощения $1630\text{--}1650\text{ см}^{-1}$, характерной для карбоксильных групп, и в области $3200\text{--}3500\text{ см}^{-1}$, характерной для гидроксильных групп, наблюдалось уширение полос вследствие увеличения числа водородных связей. Помимо этого, в области поглощения $1520\text{--}1540\text{ см}^{-1}$ были зафиксированы колебания функциональных групп амида II (вторичная N–H связь), а в области $1230\text{--}1270\text{ см}^{-1}$ — колебания амида III (C–N и N–H связи). В частности, были зафиксированы интенсивности поглощения, характерные для белковых структур: амид I — при 1650 см^{-1} и 1630 см^{-1} , амид II — при 1540 см^{-1} и 1520 см^{-1} , амид III — при 1270 см^{-1} и 1230 см^{-1} . Функциональные группы C=O, формирующие вторичную структуру серицина и характерные для амида I, проявляли интенсивности поглощения в области $1600\text{--}1700\text{ см}^{-1}$. По результатам ИК-спектроскопического анализа установлено, что под воздействием температуры сильноэлектроотрицательные элементы в составе серицина, образуя водородные связи, претерпевают конформационный переход от α -структуры к β -структуре.

При количественном анализе аминокислотного состава полученных образцов было установлено, что содержание серина составило 211,79 мг/г, аспарагина — 135,67 мг/г, глицина — 104,84 мг/г, аргинина — 82,019 мг/г, треонина — 75,050 мг/г, глутаминовой кислоты — 57,24 мг/г.

Изучены реологические свойства (вязко-текучее поведение) образцов серицина, выделенных из натурального шёлка (рис. 1).

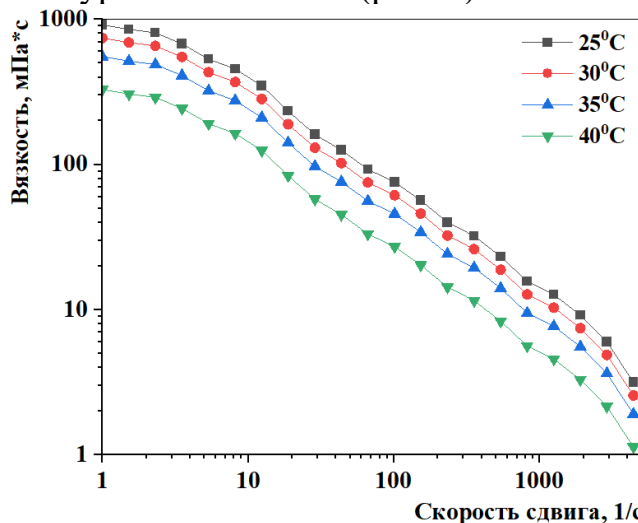


Рис. 1. Изменение вязкости раствора серицина

Установлено, что вязкость раствора серицина снижается с повышением температуры. Это объясняется тем, что при увеличении температуры возрастает подвижность макромолекул серицина и уменьшаются внутренние сопротивления. В результате при возрастании сдвигового напряжения полимерные растворы легче переходят в текучее состояние. Таким образом, в диапазоне температур от 25°C до 40°C наблюдается постепенное снижение вязкости раствора серицина.

Модули накопления (G') и потерь (G'') являются важными характеристиками полимерных растворов, позволяющими оценить изменение их вязкоупругого поведения во времени. В связи с этим были проанализированы значения модулей накопления и потерь раствора серицина при различных температурах.

В соответствии с вязко-текучим поведением установлено, что с повышением температуры значения модулей G' и G'' уменьшаются. Это связано с уменьшением внутреннего трения в растворе серицина при повышении температуры, что приводит к снижению указанных модулей. Однако также отмечено, что при увеличении температуры кривые зависимостей G' и G'' снижаются равномерно и со временем остаются практически неизменными.

Заключение. Из натурального шёлка были выделены образцы серицина с молекулярной массой 20–200 кДа при обработке в условиях 100–110°C в течение 2–24 часов с выходом 10–29,9 %. Установлено, что содержание первичных аминных и карбоксильных групп в составе серицина варьирует в пределах 0,5–6,2 % и 0,3–4,8 % соответственно.

Показано, что в процессе термической сушки структура серицина переходит из α -структуры в β -структуру, тогда как при сублимационной (лиофильной) сушке сохраняется молекулярная конформация серицина.

На последующих этапах исследования планируется получение биологически активных добавок на основе выделенного серицина, направленных на профилактику и лечение сахарного диабета II типа, а также разработка полисахарид-белковых биоматериалов с лечебными свойствами против воспалительных заболеваний кожи с использованием образцов серицина различной молекулярной массы.

Данное исследование выполнено в рамках узбекско-белорусского международного совместного фундаментального проекта Инновационного агентства развития при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан на 2025–2027 годы по теме FL-8824063220 «Научные основы создания биологически активных добавок на основе олигопептидов Bombyx mori для профилактики сахарного диабета II типа», а также в рамках проекта AL-9224093626-R2 «Получение бактерицидных препаратов в полимерной форме, содержащих биметаллические наночастицы, для применения против онкологических заболеваний».

Список литературы

1. A. A. Sarymsakov, S. S. Yarmatov, and K. E. Yunusov, "Physicochemical, Sorption, and Morphological Characteristics of Bombyx Mori Silkworm Cocoon Fibroin and a Multifunctional Hemosorbent Obtained on Its Basis," *Med. Polym.*, vol. 65, no. 3, pp. 256–263, 2023, doi: 10.1134/S0965545X23700906.
2. A. A. Sarymsakov, M. M. Baltaeva, and K. O. Eshchanov, "Preparation and study of properties of sorbents based on the fibrous waste of 'Bombyx mori' natural silk," *Lat. Am. Appl. Res.*, vol. 54, no. 4, pp. 531–538, 2024, doi: 10.52292/J.LAAR.2024.3298.
3. X. Dong, S. X. Zhao, X. L. Yin, H. Y. Wang, Z. G. Wei, and Y. Q. Zhang, "Silk sericin has significantly hypoglycaemic effect in type 2 diabetic mice via anti-oxidation and anti-

- inflammation,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 150, pp. 1061–1071, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.111.
4. T.-T. Cao and Y.-Q. Zhang, “Processing and characterization of silk sericin from *Bombyx mori* and its application in biomaterials and biomedicines,” *Mater. Sci. Eng., C*, vol. 61, p. 940, 2016.
5. K. Yakul *et al.*, “Enzymatic valorization process of yellow cocoon waste for production of antioxidative sericin and fibroin film,” *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 96, no. 4, pp. 953–962, Apr. 2021, doi: 10.1002/jctb.6604.
6. J.-H. Kim, B.-S. Shin, K.-G. Lee, J.-H. Yeo, and H.-Y. Kweon, “Sericinjam Sericin: Structural and Thermal Properties,” *Int. J. Ind. Entomol.*, vol. 19, no. 2, pp. 255–258, 2009.
7. I. S. Goyibnazarov *et al.*, “Physico-chemical characteristics of dialdehyde carboxymethylcellulose/sericin graft copolymer,” *J. Polym. Res.*, vol. 32, no. 205, pp. 2–18, 2025, doi: <https://doi.org/10.1007/s10965-025-04437-6>.
8. M. Pan, Y. Jin, Y. Ye, W. Jiang, L. Zhu, and W. Lu, “An efficient and eco-friendly method for removing sericin using microwave-assisted steam degumming,” *Environ. Technol. Innov.*, vol. 35, no. March, p. 103674, 2024, doi: 10.1016/j.eti.2024.103674.
9. N. Sahu *et al.*, “Non-Mulberry and Mulberry Silk Protein Sericins as Potential Media Supplement for Animal Cell Culture,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2016, 2016, doi: 10.1155/2016/7461041.
10. [10] Q. Zhang, L. Cui, P. Wang, C. Deng, Q. Wang, and X. Fan, “Improving properties of silk sericin membranes via enzymatic oxidation with laccase and TEMPO,” *Biotechnol. Appl. Biochem.*, vol. 65, no. 3, pp. 372–380, 2018, doi: 10.1002/bab.1609.
11. A. S. Silva *et al.*, “Silk Sericin: A Promising Sustainable Biomaterial for Biomedical and Pharmaceutical Applications,” Nov. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/polym14224931.
12. S. Tengattini *et al.*, “Chromatographic profiling of silk sericin for biomedical and cosmetic use by complementary hydrophylic, reversed phase and size exclusion chromatographic methods,” *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 186, no. March, p. 113291, 2020, doi: 10.1016/j.jpba.2020.113291.
13. S. J. Seo, G. Das, H. S. Shin, and J. K. Patra, “Silk Sericin Protein Materials: Characteristics and Applications in Food-Sector Industries,” Mar. 01, 2023, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/ijms24054951.
14. D. Gupta, A. Agrawal, and A. Rangi, “Extraction and characterization of silk sericin,” *Indian J. Fibre Text. Res.*, vol. 39, no. 4, pp. 364–372, 2014.
15. A. A. Sarymsakov, S. S. Yarmatov, and K. E. Yunusov, “Extraction of Sericin from Cocoons of the Silkworm *Bombyx Mori*, Its Characteristics, and a Dietary Supplement on Its Basis to Prevent Diabetes Mellitus,” *Polym. Sci. Ser. B*, pp. 1–8, 2024, doi: 10.1134/S1560090424600268.
16. R. Wang, Y. Zhu, Z. Shi, W. Jiang, X. Liu, and Q. Q. Ni, “Degumming of raw silk via steam treatment,” *J. Clean. Prod.*, vol. 203, pp. 492–497, 2018, doi: 10.1016/j.jclepro.2018.08.286.
17. H. Teramoto, A. Kakazu, K. Yamauchi, and T. Asakura, “Role of hydroxyl side chains in *Bombyx mori* silk sericin in stabilizing its solid structure,” *Macromolecules*, vol. 40, no. 5, pp. 1562–1569, 2007, doi: 10.1021/ma062604e.
18. P. Wang *et al.*, “Cross-linking of dialdehyde carboxymethyl cellulose with silk sericin to reinforce sericin film for potential biomedical application,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 212, pp. 403–411, 2019, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.02.069.

**ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ АКТИВНОГО ЦЕНТРА
КАРБАПЕНЕМАЗЫ ОХА-23: ПРЕДПОСЫЛКИ К РАЗРАБОТКЕ НОВЫХ
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

Байроченко Д.С., Мацко М.И.

Байроченко Д.С.

Студент лечебного факультета

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Беларусь

bairon0404@gmail.com;

Мацко М.И.

Студент стоматологического факультета

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Беларусь

mariamatsko08@gmail.com;

В статье рассмотрены особенности механизмов ингибирования карбапенемазы ОХА-23 двумя различными структурами: антибактериальным препаратом меропенемом и созданным на основе его структуры соединением НА-1-157. Проведен анализ аминокислотного состава активного центра упомянутого фермента с целью сравнения взаимодействий, возникающих в нем в процессе ингибирования. Выявлена и обоснована возможность разработки новых лекарственных средств путем модификации соединения НА-1-157.

Ключевые слова: ОХА-23; активный центр; ингибирование ферментов; антибактериальные препараты

**STRUCTURAL FEATURES OF THE OXA-23 CARBAPENEMASE ACTIVE
CENTER: PREREQUISITES FOR THE DEVELOPMENT OF NEW
ANTIBACTERIAL DRUGS**

Bairachenka D.S.

Student of the Medical Faculty of the Educational Institution "Belarusian State Medical University",

Minsk, Belarus

bairon0404@gmail.com;

Matsko M.I.

Student of the Dentistry Faculty of the Educational Institution "Belarusian State Medical University",

Minsk, Belarus

Minsk, Belarus

mariamatsko08@gmail.com;

This article discusses the specific mechanisms of OXA-23 carbapenemase inhibition by two different structures: the antibacterial drug meropenem and the compound NA-1-157 created on the basis of its structure. The analysis of the amino acid composition of the active center of the mentioned enzyme was carried out in order to compare

the interactions that occur in it during the inhibition process. The possibility of developing new drugs by modifying the compound NA-1-157 has been identified and substantiated.

Key words: OXA-23; active center; enzyme inhibition; antibiotics

Постоянно растущая устойчивость микроорганизмов к антибактериальным препаратам является серьезной угрозой, с которой сегодня сталкивается медицина. Данная проблема становится все более актуальной: растёт число бактериальных осложнений, возникающих в ходе лечения, особенно в хирургических и отделениях реанимации и интенсивной терапии. Помимо этого, увеличение числа резистентных штаммов влечет за собой необходимость более длительного нахождения пациентов в условиях круглосуточного стационара и, соответственно, увеличение затрат на лечение. В 2015 году Всемирной ассамблеей здравоохранения был утвержден Глобальный план действий по устойчивости к противомикробным препаратам, включающий и устойчивость к антибиотикам [1].

Согласно списку, опубликованному Всемирной организацией здравоохранения в 2017 году, к патогенам, борьба с которыми имеет критический уровень приоритетности, относится в том числе *Acinetobacter baumannii*.

Данный патоген обладает устойчивостью к антибиотикам резервного ряда и обуславливает возникновение нозокомиальных инфекций различных локализаций, в том числе кровотока, дыхательных путей, кожи и мягких тканей, нервной системы, мочевыводящих путей [2]. Что существенно усложняет процесс лечения.

Одним из способов преодоления антибиотикорезистентности является воздействие на фермент, инактивирующий лекарственные средства. Выбор фермента, ингибирование которого позволило бы решить вопрос резистентности *A. baumannii*, основывался на литературных данных, полученных в базе данных PubMed, а также на официальном сайте Всемирной организации здравоохранения. Согласно данным глобального исследования SENTRY, проведенного в 2020–2021 году, 73 % клинических изолятов CRAB (Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*) продуцировали оксациллиназу OXA-23, способную расщеплять карбапенемы, что и обуславливало их резистентность [3]. Разработка высокоаффинных ингибиторов упомянутой карбапенемазы является перспективным направлением для решения вопросов множественной лекарственной устойчивости.

Далее из базы данных 3D структур белков и нуклеиновых кислот Protein Data Bank (PDB) было выбрано два комплекса: 9NT0 и 9NSZ. Они использовались для изучения аминокислотного окружения и взаимодействий, возникающих между OXA-23 и лигандами, находящимися в этих комплексах.

В состав 9NT0 входит карбапенемаза OXA-23 и меропенем, в состав 9NSZ – OXA-23 и структура NA-1-157 (модифицированная молекула меропенема, рис. 1), которая связывается с активным центром белковой молекулы, что было подтверждено *in vitro* методом рентгеноструктурного анализа [4].

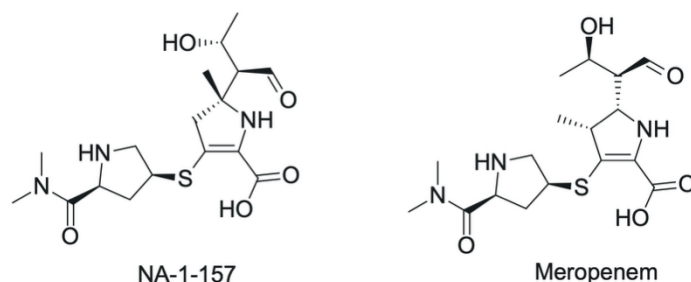


Рис. 1. Сравнение структур меропенема и NA-1-157

Выбор этой карбапенемазы основывался на ее широкой распространенности, а самих 9NT0 и 9NSZ на их высоком разрешении (1,6Å и 1,8Å соответственно), а также высоком качестве предоставленных структур, оцениваемом по 5-ти параметрам: Rfree, Clashscore, Ramachandran outliers, Sidechain outliers, RSRZ outliers (рис. 2).

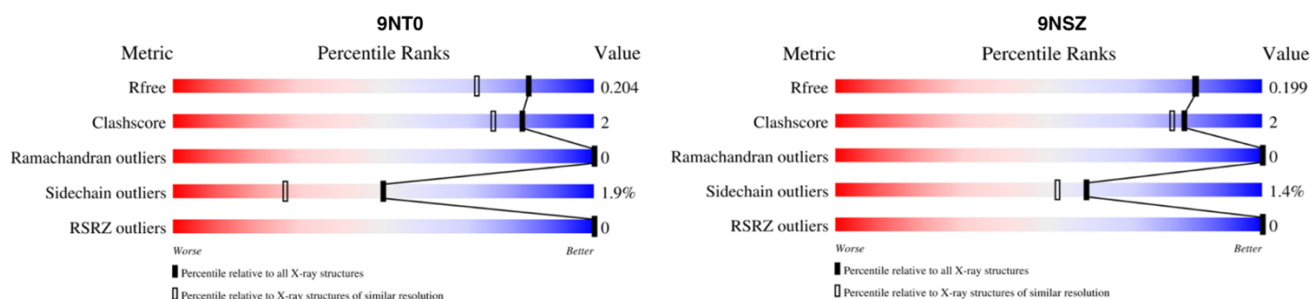


Рис. 2. Характеристика качества 3D-структуры отобранных моделей, предоставляемые базой данных PDB

При этом NA-1-157, взаимодействуя с активным центром карбапенемазы, ингибирует ее гидролитическую активность. Сравнительный анализ возникающих взаимодействий между меропенемом, NA-1-157 и аминокислотным окружением активного центра ОХА-23 позволит установить, какие взаимодействия могут играть ключевую роль в стабилизации комплекса, а также правильной ориентации молекулы лиганда в активном центре фермента. Данная информация перспективна в отношении моделирования более аффинных структур, являющихся потенциальными ингибиторами карбапенемазы.

С использованием программы SwissDock был проведен полугибкий докинг, по результатам которого было выяснено, что значение энергии связывания для меропенема выше, чем для NA-1-157 (-7,42 ккал/моль и -7,685 ккал/моль соответственно).

С целью определения межмолекулярных взаимодействий, которые могут оказывать значительное влияние на улучшение энергии связывания, была проведена их визуализация и анализ с использованием веб-сервиса PLIP и программы PyMOL версии 3.1.6.1.

Белок ОХА-23 состоит из двух доменов: смешанного α/β домена, который имеет две α -спирали и шестицепочечную β -структуру, и из полностью α -домена. При этом активный сайт фермента лежит в области между этими двумя доменами [5].

Рассмотрим структуру активного центра ОХА-23 (рис. 3). Для всех представителей класса D β -лактамаз характерно наличие консервативного серин-лизинового мотива структуры Ser-X-X-Lys. У данного фермента каталитическими аминокислотными остатками являются Ser-79 и Lys-82, разделенные Thr-80 и Phe-81. При этом Lys-82 карбоксилирован, что играет ключевую роль в образовании ацил-ферментного комплекса с последующим гидролизом лактамного кольца. Карбоксилизин находится во внутреннем лизиновом кармане, стенки которого представлены Asn-85, Tyr-131, Trp-165, а также боковой частью спирали $\alpha 3$. Лизиновый карман отделен от активного центра гидрофобным колпачком – Val-128, Leu-166. Ser-79 также является каталитическим (откуда и происходит группа сериновых β -лактамаз), к нему ковалентно присоединяется лиганд.

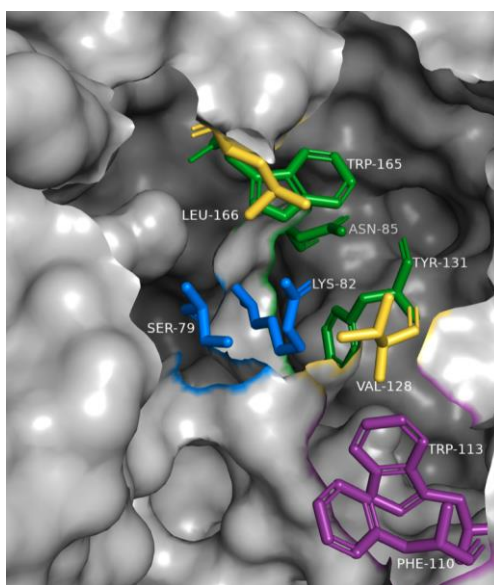


Рис. 3. Структура активного центра ОХА-23 (синим цветом обозначены каталитические аминокислотные остатки, зеленым - внутренний лизиновый карман, желтым - гидрофобный колпачок, фиолетовым - остатки, удаляющиеся от колпачка по время катализа)

Процесс гидролиза возможен лишь в случае вхождения в активный центр фермента молекулы, содержащей в своей структуре β -лактамное кольцо. Механизм ферментативного катализа основан на образовании ацил-ферментного комплекса с последующим гидролизом лактамного кольца (рис. 4). На первом этапе происходит активация каталитического серина с образованием алкоксид-аниона. Далее происходит нуклеофильная атака лактамного кольца субстрата с его раскрытием и последующим образованием ацил-ферментного комплекса. Затем карбоксилизин активирует молекулу воды, которая реагирует со сложноэфирной связью ацил-ферментного комплекса, расщепляя ее. Таким образом происходит восстановление структуры активного центра карбапенемазы с образованием продукта реакции с раскрытым лактамным кольцом, что приводит к потере антибиотиком способности связываться с пенициллинсвязывающими белками бактерии, из-за чего препарат теряет свою эффективность.

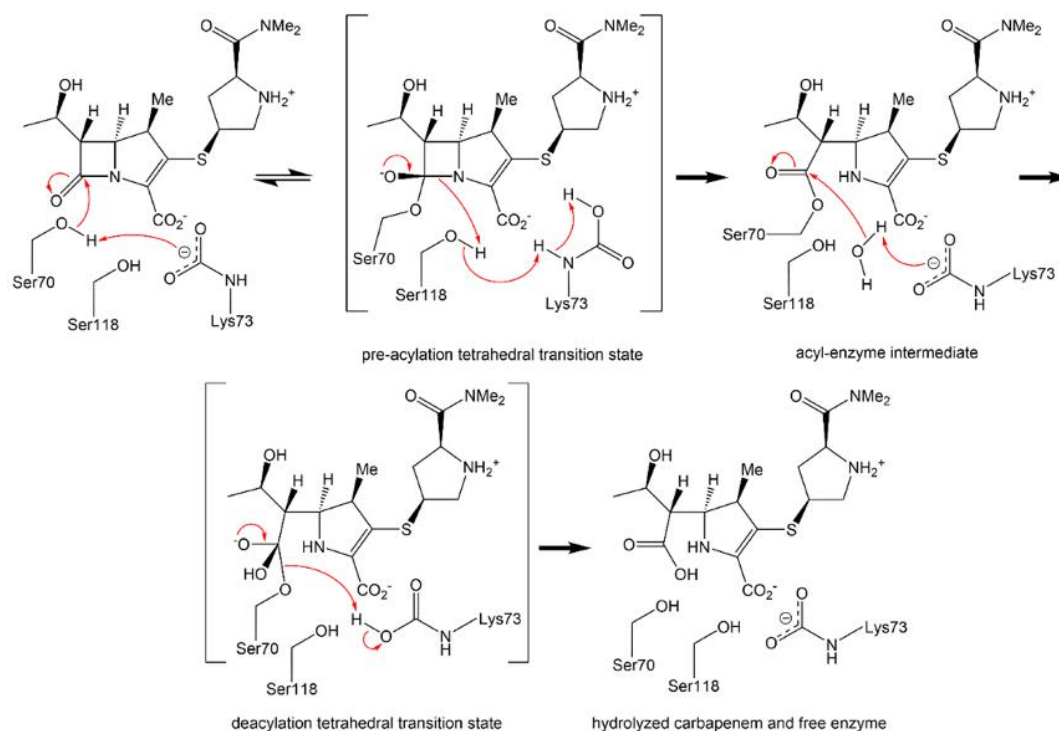


Рис. 4. Схематическое изображение механизма катализа OXA-23

Необходимо сравнить взаимодействия, возникающие между OXA-23 и NA-1-157 и меропенемом. С этой целью был использован веб-сервис PLIP. Полученные данные представлены в таблицах 1 и 2.

Гидрофобные взаимодействия играют ключевую роль в распознавании сайта связывания, а также фиксации и правильной ориентации молекулы NA-1-157 в активном центре белковой молекулы вблизи гидрофобного колпачка. Водородные связи дополнительно фиксируют лиганд в активном центре фермента. Особую значимость представляет таковая с каталитическим Ser-79. Образование водного и солевого мостиков с Lys-216 и Arg-259, вероятно, способствует стабилизации комплекса.

Таблица 1

Взаимодействия между NA-1-157 и OXA-23

№	Тип взаимодействия	Аминокислотный остаток	Межатомное расстояние, (Å)
1	гидрофобные	Val-128	3,79
2	гидрофобные	Leu-166	3,85
3	гидрофобные	Trp-219	3,62
4	гидрофобные	Met-221	3,84
5	водородная связь	Ser-79	1,94-2,77*
6	водородная связь	Ser-126	3,10-3,91*
7	водородная связь	Thr-217	2,07-2,76*
8	водородная связь	Thr-219	1,80-2,76*
9	водный мостик	Lys-216	2,78-2,75
10	солевой мостик	Arg-259	3,39

Примечание. *для водородной связи: атом-акцептор - Н - атом-акцептор - атом-донор электронов

Взаимодействия между меропенемом и ОХА-23

№	Тип взаимодействия	Аминокислотный остаток	Межатомное расстояние, (Å)
1	гидрофобные	Phe-110	3,40
2	гидрофобные	Trp-113	3,78
3	гидрофобные	Val-128	3,61
4	водородная связь	Ser-79	1,98-2,77*
5	водородная связь	Ser-126	1,86-2,84*
6	водородная связь	Thr-217	2,41-3,04*
7	водородная связь	Thr-219	1,96-2,92*
8	солевой мостик	Lys-216	5,17
9	солевой мостик	Arg-259	3,50

Примечание. *для водородной связи: атом-акцептор - Н - атом-акцептор - атом-донор электронов

Между меропенемом и таргетным белком также наблюдается образование гидрофобных взаимодействий. При этом возникновение Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий с Phe-110 и Trp-113 наиболее вероятно приводит к движению их боковых цепей, вследствие чего возникает отверстие в гидрофобном колпачке, открывая таким образом доступ к лизиновому карману и способствуя активации молекулы воды с расщеплением ацил-ферментного комплекса и последующим высвобождением гидролизованного меропенема. Водородные связи в данном комплексе идентичны таковым между NA-1-157 и ОХА-23. Образование двух солевых мостиков с Lys-216 и Arg-259 способствует стабилизации полученного комплекса.

Анализ структуры активного центра карбапенемазы ОХА-23 и механизмов ферментативной реакции проясняют принципы функционирования данного фермента. За счет рассмотрения взаимодействий, возникающих между ОХА-23 с одной стороны, меропенемом и NA-1-157 с другой, были определены ключевые взаимодействия, обеспечивающие связывание и ориентацию лигандов в активном центре фермента: гидрофобные взаимодействия с Val-128, водородные связи с каталитическим Ser-79, а также Ser-126, Thr-217, Thr-219 и образование водных и солевых мостиков с Lys-216, Arg-259. Полученные данные являются предпосылкой для последующего моделирования лигандов-потенциальных ингибиторов ОХА-23.

Список литературы

1. Устойчивость к антибиотикам [Электронный ресурс] / Всемирная организация здравоохранения. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>. – Дата доступа: 10.03.2026.
2. Инфекции, вызванные *Acinetobacter baumannii*: факторы риска, диагностика, лечение, подходы к профилактике / Ю.Л. Горбич, И.А. Карпов, О.И. Кречикова // Медицинские новости. – 2011. – № 5. – С. 31–39.
3. Combating Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Insights from Japan, with Global Relevance / Y. Yoshino, Y. Kimura, F. Ito // Infect Drug Resist. – 2025. – Vol. 18. – P. 6673–6683.
4. Dual mechanism of the OXA-23 carbapenemase inhibition by the carbapenem NA-1-157 / M. Toth, N.K. Stewart, P. Quan, M.M.K. Khan [et al.] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2025. – Vol. 69, 10. – P. e00918-25.

5. The Dynamics of OXA-23 β -Lactamase from *Acinetobacter baumannii* / R. Arrigoni, A. Ballini, L. Santacroce, L.L. Palese // International journal of molecular sciences. – 2023. – Vol. 24, № 24. – P. 17527.

СИНТЕЗ ФТОРСОДЕРЖАЩИХ ХАЛКОНОВ И ПИРАЗОЛИНОВ НА ИХ ОСНОВЕ

Ковганко В.Н., Дорощук Д.С., Собонович М.И.

Ковганко В.Н.

*Кандидат химических наук, доцент,
доцент кафедры физической, коллоидной и аналитической химии
УО «Белорусский государственный технологический университет»,
г. Минск, Беларусь
umkauhanka@belstu.by*

Дорощук Д.С.

*Ведущий инженер кафедры физической, коллоидной и аналитической химии
УО «Белорусский государственный технологический университет»,
г. Минск, Беларусь
dimon92av@gmail.com*

Собонович М.И.

*Студентка факультета Технологии органических веществ
УО «Белорусский государственный технологический университет»,
г. Минск, Беларусь
mariasobotovich2@gmail.com*

Синтезирован ряд 1,3-диарил-проп-2-ен-1-онов (халконов), которые являются ценными промежуточными веществами для получения различных пяти и шести членных гетероциклических соединений. Синтез осуществляли конденсацией соответствующих бензальдегидов и ацетофенонов в присутствии гидроксида калия. Ряд синтезированных соединений относится к классу фторсодержащих халконов. Взаимодействием халконов с фенилгидразином получены соответствующие пиразолины.

Ключевые слова: 1,3-диарил-проп-2-ен-1-оны, фторсодержащие халконы; пиразолины; органический синтез

SYNTHESIS OF FLUORINE-CONTAINING CHALCONES AND THE CORRESPONDING PYRAZOLINES

U.M. Kauhanka

*Candidate of Chemistry, Associate Professor,
Associate Professor of the Department of Physical, Colloidal, and Analytical
Chemistry, Belarusian State Technological University, Minsk, Belarus
umkauhanka@belstu.by*

D.S. Darashchuk

*Leading Engineer of the Department of Physical, Colloidal, and Analytical
Chemistry, Belarusian State Technological University, Minsk, Belarus
dimon92av@gmail.com*

M.I. Sobotovich

*Student of the Faculty of Organic Substances Technology,
Belarusian State Technological University, Minsk, Belarus*

A series of 1,3-diaryl-prop-2-en-1-ones (chalcones) were synthesized. These are valuable intermediates for the preparation of various five- and six-membered heterocyclic compounds. The synthesis was accomplished by condensation of the corresponding benzaldehydes and acetophenones in the presence of potassium hydroxide. Several of the synthesized compounds belong to the class of fluorinated chalcones. The reaction of chalcones with phenylhydrazine yielded the corresponding pyrazolines.

Key words: 1,3-diaryl-prop-2-en-1-ones, fluorinated chalcones; pyrazolines; organic synthesis

Замещенные 1,3-диарил-проп-2-ен-1-оны (халконы) обладают широким спектром биологической активности. Так, для халконов обнаружены противобактериальные свойства, антимикобактериальная активность, фунгицидная активность, цитотоксичность [1, 2]. Замещенные халконы также являются ценными полупродуктами при синтезе различных биологически активных соединений. В частности, химической трансформацией халконов могут быть синтезированы различные производные пиразола, для которых также обнаружены различные типы биологической активности [3-6].

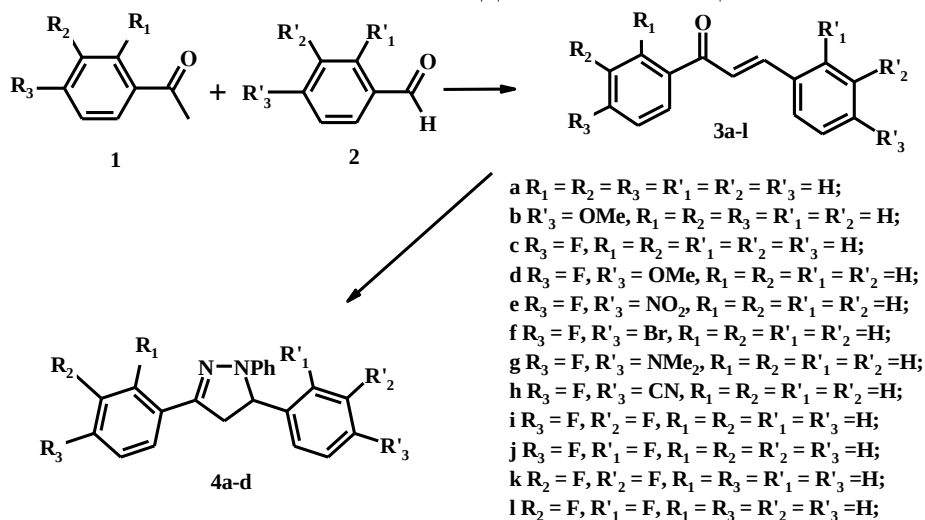
В качестве примера можно указать применяемые на практике медицинские препараты, содержащих замещенный пиразольный гетероцикл [3-6]. К таким препаратам относятся анальгетики и антипиретики производные антипирина: антипирин (феназон), метамизол натрия (анальгин), фенилбутазон (бутадион) и пропифеназон. Пиразольный цикл содержат нестероидные противовоспалительные препараты с обезболивающим эффектом целекоксиб и тепоксалин, используемый в ветеринарии. В последнее время особый интерес представляют фторсодержащие производные пиразола, среди которых обнаружены эффективные фунгициды, вещества с противобактериальными и антималярийными свойствами [3-6].

Нашей исследовательской группой проводится работа по синтезу и изучению свойств новых фторсодержащих пиразолов [7]. Один из этапов данной работы включает синтез фторсодержащих халконов 3 и соответствующих пиразолинов 4. В данной работе приводятся полученные к настоящему моменту результаты.

Синтез халконов 3a-l осуществляли конденсацией соответствующих бензальдегидов и ацетофенонов в присутствии гидроксида калия. Следует указать, что для отработки методик синтеза и установления взаимосвязи биологической активности со структурой соответствующих пиразолов, нами синтезированы халконы 3a,b не содержащие атомов фтора.

Строение соединений 3a-l подтверждается данными УФ, ИК и ЯМР спектроскопии. Так, в УФ спектрах соединений 3 присутствуют максимумы характерные для поглощения сопряженных 1,3-диарил-проп-2-ен-1-онов. В ИК спектрах всех полученных веществ присутствуют интенсивные полосы

колебаний С=О групп в области 1647-1672 см⁻¹. В спектрах ЯМР ¹Н и ¹³С синтезированных соединений присутствуют сигналы ароматических циклов как соответствующих исходных ацетофенонов, так и бензальдегидов. Протоны двойной связи в спектрах ЯМР ¹Н проявляются в виде дублетов с константой спин-спинового взаимодействия 16 Гц.



Пиразолины 4a-d синтезированы реакцией халконов 3a-d с фенилгидразином. Выход целевых продуктов составил 72–86 %.

Строение синтезированных пиразолинов 4a-d доказано на основании данных УФ, ИК и ЯМР спектров. В ИК спектрах всех полученных веществ отсутствуют полосы колебаний С=О групп. В спектрах ЯМР ¹Н соединений 4a-d в области, характерной для сигналов ароматических протонов, присутствуют сигналы протонов трех бензольных колец. Протонам пиразолинового цикла 4-CH₂ и 5-CH соответствуют три однопротонных дублета дублетов. В частности, в спектре вещества 4a данные мультиплеты проявляются при δ 3,11 и 3,94 м.д. (4-CH₂) и 5,42 м.д. (5-CH). В спектре ЯМР ¹³С этого соединения присутствуют сигнал углерода группы 4-CH₂ при δ 45,01 м.д. и сигнал углерода группы 5-CH при δ 65,80 м.д.

В заключение следует отметить, что синтезированные соединения содержат различные фармакофорные группировки, что позволяет предположить наличие у этих веществ различных видов биологической активности. О дальнейших синтетических превращениях и микробиологических исследованиях полученных веществ будет сообщено дополнительно.

Экспериментальная часть. УФ спектры зарегистрированы в растворах на спектрофотометре Solar CM2203. ИК спектры в области 400-4000 см⁻¹ записаны в таблетках бромида калия на ИК-Фурье спектрометре Nexus (Nicolet). Спектры ЯМР записаны на приборе Bruker Avance 500 (рабочая частота 500.13 МГц для ¹Н и 125.75 МГц для ¹³С) в растворах в соответствующих дейтерированных растворителях. Химические сдвиги приведены относительно ТМС как внутреннего стандарта. Ход реакций и чистоту полученных соединений контролировали с помощью пластин Kieselgel 60 F₂₅₄ фирмы Merck.

1,3-Дифенилпроп-2-ен-1-он 3а. К раствору 45,73 г (0,4309 моль) бензальдегида и 51,79 г (0,4310 моль) ацетофенона в 300 мл метанола прибавили при перемешивании 70 мл 10 % водного раствора гидроксида калия. Реакционную смесь перемешивали 17,5 ч при комнатной температуре. Добавили 300 мл воды. Выпавший осадок отфильтровали и последовательно промыли водой (5×100 мл) и охлажденным гексаном (100 мл). После осушки получено 87,86 г халкона 3а. Из маточного раствора аналогичным образом дополнительно получено 1,83 г продукта. Выход 99,9 %. Аналитический образец получен перекристаллизацией из метанола первой порции вещества. УФ спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 215, 229, 312. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3060, 3033, 3016 (C-H_{алкен.}, C-H_{аром.}), 1662 (C=O), 1605, 1594, 1576, 1497 (C=C, C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., дейтероацетонитрил): 7,71 (1H, д, J 16 Гц, C-H_{алкен.}), 7,78 (1H, д, J 16 Гц, C-H_{алкен.}); 7,43–7,47 (2H, м), 7,55 (2H, тт, J₁ 1,5 Гц, J₂ 7,5 Гц), 7,64 (1H, тт, J₁ 1,5 Гц, J₂ 7,5 Гц), 7,74–7,77 (2H, м), 8,06–8,09 (2H, м) {аром. протоны}. Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д., дейтероацетонитрил): 123,27, 129,44, 129,59, 129,71, 129,99, 131,57, 133,92, 135,98, 139,11, 144,99 (C аром., C=C алкен), 190,88 (C=O).

Соединения 3b-l получены по методике, аналогичной методике синтеза халкона 3а.

1-Фенил-3-(4-метоксифенил)-проп-2-ен-1-он 3b. Выход 98 %. УФ спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 245, 351. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3086, 3057, 3016 (C-H_{алкен.}, C-H_{аром.}), 2950, 2926, 2900, 2841 (C-H_{алк.}), 1658 (C=O), 1600, 1577, 1512 (C=C, C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., дейтероацетон): 3,86 (3H, с, OMe), 7,01 (2H, д, J 9 Гц), 7,55 (2H, м); 7,63 (1H, тт, J₁ 1,5 Гц, J₂ 7,5 Гц), 7,76 (2H, д, J 9 Гц), 7,77–7,81 (2H, м), 8,11–8,15 (2H, м) {C-H_{алкен.}, аром. протоны}. Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д., дейтероацетон): 55,76 (OMe), 115,21, 120,33, 128,55, 129,15, 129,43, 131,30, 133,39, 139,36, 144,76, 162,68, (C аром., C=C алкен), 189,74 (C=O).

1-(4-Фторфенил)-3-фенил-проп-2-ен-1-он 3с. Выход 96 %. УФ спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 227, 318. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3103, 3061, 3029 (C-H_{алкен.}, C-H_{аром.}), 1664 (C=O), 1607, 1597, 1588, 1575, 1505, 1497 (C=C, C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., дейтероацетон): 7,81 (1H, д, J 16 Гц, C-H_{алкен.}), 7,90 (1H, д, J 16 Гц, C-H_{алкен.}); 7,33 (2H, т, J 9 Гц), 7,45–7,49 (3H, м), 7,83–7,87 (2H, м), 8,26 (2H, дд, J₁ 5,5 Гц, J₂ 9 Гц) {аром. протоны}. Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д., дейтероацетон): 116,43 (д, J_{C-F} 22 Гц), 122,53, 129,67 (д, J_{C-F} 33 Гц), 131,38, 132,24 (д, J_{C-F} 9 Гц), 135,64, 135,93, 145,03, 165,38, 167,39 (C аром., C=C алкен), 188,38 (C=O).

1-(4-Фторфенил)-3-(4-метоксифенил)-проп-2-ен-1-он 3d. Выход 87 %. УФ спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 215, 246, 351. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3071, 3059, 3028 (C-H_{алкен.}, C-H_{аром.}), 2955, 2931, 2837 (C-H_{алк.}), 1660 (C=O), 1601, 1588, 1572, 1513, 1506 (C=C, C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., дейтероацетон): 3,87 (3H, с, OMe), 7,75 (1H, д, J 16 Гц, C-H_{алкен.}), 7,79 (1H, д, J 16 Гц, C-H_{алкен.}); 7,02 (2H, д, J 9 Гц), 7,31 (2H, т, J 9 Гц), 7,80 (2H, д, J 9 Гц), 8,23 (2H, дд, J₁ 5,5 Гц, J₂ 9 Гц) {аром. протоны}. Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д., дейтероацетон): 55,78 (OMe),

115,23, 116,32 (д, J_{C-F} 22 Гц), 120,00, 128,51, 131,37, 132,03 (д, J_{C-F} 9 Гц), 144,98, 162,76, 165,24, 167,24 (С аром., С=С алкен), 188,23 (С=О).

1-(4-Фторфенил)-3-(4-нитрофенил)-проп-2-ен-1-он 3e. Выход 87 %. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3118, 3076 (С-Н_{алкен.}, С-Н_{аром.}), 1672 (С=О), 1613, 1595, 1508 (С=С, С=С аром.), 1515, 1342 (NO₂). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., дейтероацетон): 7,85 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}), 8,09 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}); 7,34 (2H, т, J 9 Гц), 8,27 (2H, дд, J₁ 5,5 Гц, J₂ 9 Гц), 8,12 (2H, д, J 9 Гц), 8,30 (2H, д, J 9 Гц), {аром. протоны}.

1-(4-Фторфенил)-3-(4-бромфенил)-проп-2-ен-1-он 3f. Выход 90 %. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3066, 3015 (С-Н_{алкен.}, С-Н_{аром.}), 1660 (С=О), 1608, 1584, 1509 (С=С, С=С аром.). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., дейтероацетон): 7,35 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}), 7,92 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}); 7,31 (2H, т, J 9 Гц), 8,24 (2H, дд, J₁ 5,5 Гц, J₂ 9 Гц), 7,64 (2H, д, J 8 Гц), 7,79 (2H, д, J 8 Гц), {аром. протоны}.

1-(4-Фторфенил)-3-(4-N,N-диметиламинофенил)-проп-2-ен-1-он 3g. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 1647 (С=О), 1596, 1574, 1551, 1526, 1504 (С=С, С=С аром.). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., дейтероацетон): 3,05 (6H, с, N(CH₃)₂), 7,59 (1H, д, J 15,5 Гц, С-Н_{алкен.}), 7,76 (1H, д, J 15,5 Гц, С-Н_{алкен.}); 7,28 (2H, т, J 9 Гц), 8,19 (2H, дд, J₁ 5,5 Гц, J₂ 9 Гц), 6,77 (2H, д, J 9 Гц), 7,67 (2H, д, J 9 Гц), {аром. протоны}.

1-(4-Фторфенил)-3-(4-цианофенил)-проп-2-ен-1-он 3h. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3107, 3063, 3045 (С-Н_{алкен.}, С-Н_{аром.}), 2232 (С≡N), 1661 (С=О), 1610, 1594, 1504 (С=С, С=С аром.). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., дейтероацетон): 7,82 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}), 8,05 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}); 7,34 (2H, т, J 9 Гц), 8,27 (2H, дд, J₁ 5,5 Гц, J₂ 9 Гц), 7,87 (2H, д, J 8 Гц), 8,06 (2H, д, J 8 Гц) {аром. протоны}.

1-(4-Фторфенил)-3-(3-фторфенил)-проп-2-ен-1-он 3i. Выход 88 %. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3052 (С-Н_{алкен.}, С-Н_{аром.}), 1670 (С=О), 1611, 1600, 1508 (С=С, С=С аром.). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., дейтероацетон): 7,78 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}), 7,96 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}); 7,33 (2H, т, J 9 Гц), 8,27 (2H, дд, J₁ 5,5 Гц, J₂ 9 Гц), 7,23 (1H, м, J₁ 1 Гц, J₂ 2,5 Гц, J₃ 8 Гц), 7,51 (1H, дт, J₁ 6 Гц, J₂ 8 Гц), 7,65 (1H, уш. д, J 8 Гц), 7,70 (1H, тд, J₁ 2 Гц, J₂ 10 Гц) {аром. протоны}.

1-(4-Фторфенил)-3-(2-фторфенил)-проп-2-ен-1-он 3j. Выход 82 %. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3116, 3073, 3051, 3036 (С-Н_{алкен.}, С-Н_{аром.}), 1660 (С=О), 1609, 1587, 1576, 1510 (С=С, С=С аром.). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., дейтероацетон): 7,91 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}), 7,95 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}); 7,32 (2H, т, J 9 Гц), 8,24 (2H, дд, J₁ 5,5 Гц, J₂ 9 Гц), 7,25 (1H, ддд, J₁ 1 Гц, J₂ 8 Гц, J₃ 11 Гц), 7,30 (1H, м), 7,52 (1H, м), 8,00 (1H, дт, J₁ 2 Гц, J₂ 8 Гц) {аром. протоны}.

1-(3-Фторфенил)-3-(3-фторфенил)-проп-2-ен-1-он 3k. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3067 (С-Н_{алкен.}, С-Н_{аром.}), 1667 (С=О), 1615, 1606, 1585 (С=С, С=С аром.). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., дейтероацетон): 7,81 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}), 7,96 (1H, д, J 16 Гц, С-Н_{алкен.}); 7,24 (1H, м, J₁ 1 Гц, J₂ 2,5 Гц, J₃ 9 Гц), 7,45 (1H, м, J₁ 1 Гц, J₂ 2,5 Гц, J₃ 9 Гц), 7,52 (1H, дт, J₁ 6 Гц, J₂ 8 Гц), 7,63 (1H, дт, J₁ 6 Гц, J₂ 8 Гц), 7,67 (1H, уш. д, J 8 Гц), 7,73 (1H, тд, J₁ 2,5 Гц, J₂ 10 Гц), 7,89 (1H, ддд, J₁ 1,6 Гц, J₂ 2,5 Гц, J₃ 10 Гц), 8,03 (1H, тд, J₁ 1,5 Гц, J₂ 8 Гц) {аром. протоны}.

1-(3-Фторфенил)-3-(2-фторфенил)-проп-2-ен-1-он 3l. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3067, 3015 (С-Н_{алкен.}, С-Н_{аром.}), 1664 (С=О), 1612, 1602, 1584, 1577 (С=С, С=С

аром.). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., дейтероацетон): 7,92 (1H, д, J 16 Гц, C-H_{алкен.}), 7,97 (1H, д, J 16 Гц, C-H_{алкен.}); 7,27 (1H, ддд, J_1 1 Гц, J_2 9 Гц, J_3 11 Гц), 7,31 (1H, дт, J_1 1 Гц, J_2 8 Гц), 7,45 (1H, м, J_1 1 Гц, J_2 2,5 Гц, J_3 8,5 Гц), 7,53 (1H, м), 7,64 (1H, дт, J_1 5,5 Гц, J_2 8 Гц), 7,86 (1H, ддд, J_1 1,5 Гц, J_2 2,5 Гц, J_3 10 Гц), 8,01 (1H, тд, J_1 1 Гц, J_2 8 Гц), 8,04 (1H, дт, J_1 1,5 Гц, J_2 8 Гц) {аром. протоны}.

1,3,5-Трифенилпиразолин 4а. Раствор 6.90 г (0,0331 моль) халкона 3а, 5.27 г (0,0364 моль) фенилгидразин гидрохлорида и 2.99 г (0,0364 моль) ацетата натрия в смеси 120 мл этанола и 20 мл воды кипятили 2,5 ч с обратным холодильником. Выпавший после охлаждения до комнатной температуры осадок отфильтровали и последовательно промыли охлажденным этанолом (50 мл), водой (200 мл) и гексаном (50 мл). После осушки получено 8.90 г пиразолина 4а. Выход 86 %. Аналитический образец получен перекристаллизацией из 2-пропанола. УФ спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 220, 244, 366. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3081, 3052, 3023 (C-H), 1597, 1503, 1491 (C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., дейтероацетон): 3,11 (1H, дд, J_1 7 Гц, J_2 17 Гц), 3,94 (1H, дд, J_1 12 Гц, J_2 17 Гц) {4-CH₂}, 5,42 (1H, дд, J_1 7 Гц, J_2 12 Гц, 5-CH), 6,72 (1H, тт, J_1 1 Гц, J_2 7 Гц), 7,06–7,10 (2H, м), 7,14 (2H, м), 7,22–7,28 (1H, м), 7,31–7,37 (5H, м), 7,41 (2H, м), 7,76–7,80 (2H, м) {аром. протоны}. Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д., дейтероацетон): 45,01 (4-CH₂), 65,80 (5-CH), 115,05, 120,56, 127,53, 127,73, 129,24, 130,36, 130,54, 130,83, 134,71, 144,79, 146,71, 148,82 (C аром.).

Соединения 4b-d получены по методике, аналогичной методике синтеза пиразолина 4а.

1,3-Дифенил-5-(4-метоксифенил)-пиразолин 4b. Выход 84 %. УФ спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 232, 367. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3061, 3028, 3009 (C-H_{аром.}), 2960, 2929, 2835 (C-H_{алк.}), 1611, 1597, 1555, 1512, 1502, 1493 (C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., дейтероацетон): 3,74 (3H, с, OMe), 3,10 (1H, дд, J_1 7 Гц, J_2 17 Гц), 3,90 (1H, дд, J_1 12 Гц, J_2 17 Гц) {4-CH₂}, 5,38 (1H, дд, J_1 7 Гц, J_2 12 Гц, 5-CH), 6,71 (1H, тт, J_1 1,2 Гц, J_2 7 Гц), 6,88 (2H, д, J 9 Гц), 7,06–7,10 (2H, м), 7,13 (2H, м), 7,26 (2H, д, J 9 Гц), 7,34 (1H, тт, J_1 1,5 Гц, J_2 7 Гц), 7,41 (2H, м), 7,75–7,79 (2H, м) {аром. протоны}. Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д., дейтероацетон): 45,03 (4-CH₂), 56,44 (OMe), 65,33 (5-CH), 115,12, 116,11, 120,51, 127,50, 128,95, 130,31, 130,36, 130,51, 134,82, 136,63, 146,76, 148,79 (C аром.), 160,93 (3-C=N).

1,5-Дифенил-3-(4-фторфенил)-пиразолин 4с. Выход 72 %. УФ спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 222, 244, 360. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3062, , 3050, 3026 (C-H_{аром.}), 2917, 2878 (C-H_{алк.}), 1597, 1567, 1515, 1498 (C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., дейтероацетон): 3,11 (1H, дд, J_1 7 Гц, J_2 17 Гц), 3,93 (1H, дд, J_1 12 Гц, J_2 17 Гц) {4-CH₂}, 5,41 (1H, дд, J_1 7 Гц, J_2 12 Гц, 5-CH), 6,72 (1H, тт, J_1 1 Гц, J_2 7 Гц), 7,05–7,08 (2H, м), 7,11–7,15 (2H, м), 7,17 (2H, тт, J_1 2 Гц, J_2 9 Гц), 7,23–7,28 (1H, м), 7,31–7,35 (4H, м), 7,81 (2H, м) {аром. протоны}. Спектр ЯМР ^{13}C (δ , м.д., дейтероацетон): 44,10 (4-CH₂), 64,97 (5-CH), 114,07, 116,25 (д, $J_{\text{C-F}}$ 22 Гц), 119,63, 126,75, 128,28, 128,57 (д, $J_{\text{C-F}}$ 9 Гц), 129,70 (д, $J_{\text{C-F}}$ 36,5 Гц), 130,28, 143,75, 145,73, 146,94, 162,73 (C аром.), 164,70 (3-C=N).

1-Фенил-3-(4-фторфенил)-5-(4-метоксифенил)-пиразолин 4d. Выход 84 %. УФ спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 369. ИК спектр (KBr, cm^{-1}): 3062, 3040, (C-H

аром.), 2999, 2960, 2931, 2905, 2836 (C-H_{алк.}), 1602, 1595, 1569, 1513, 1498 (C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., дейтероацетон): 3,75 (3H, с, OMe), 3,10 (1H, дд, J₁ 7 Гц, J₂ 17 Гц), 3,90 (1H, дд, J₁ 12 Гц, J₂ 17 Гц) {4-CH₂}, 5,38 (1H, дд, J₁ 7 Гц, J₂ 12 Гц, 5-CH), 6,72 (1H, тт, J₁ 1,2 Гц, J₂ 7 Гц), 6,89 (2H, д, J 9 Гц), 7,05–7,09 (2H, м), 7,13 (2H, м), 7,18 (2H, м), 7,26 (2H, д, J 9 Гц), 7,82 (2H, м) {аром. протоны}. Спектр ЯМР ¹³C (δ, м.д., дейтероацетон): 44,13 (4-CH₂), 55,45 (OMe), 64,51 (5-CH), 114,14, 115,14, 116,26 (д, J_{C-F} 22 Гц), 119,58, 127,96, 128,55 (д, J_{C-F} 8 Гц), 129,53, 135,57, 145,79, 146,93, 159,98, 162,72 (C аром.), 164,68 (3-C=N).

Работа выполнена в рамках НИР «Синтез новых фторсодержащих гетероциклических соединений с широким спектром биологической активности с использованием веществ природного происхождения», ГПНИ «Химические процессы и технологии», подпрограмма 2.2. «Биологически активные субстанции и материалы».

Список литературы

1. Zhuang C., Zhang W., Sheng C., Zhang W., Xing C., Miao Z. Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry // Chem. Rev. – 2017. – Vol. 117, №12. – P. 7762–7810.
2. Dan W., Dai J. Recent developments of chalcones as potential antibacterial agents in medicinal chemistry // Eur. J. Med. Chem. – 2020. – Vol. 187. – Article 111980. – 36 P.
3. J.V. Faria, P.F. Vegi, A.G.C. Miguita, M.S. dos Santos, N. Boechat, A.M.R. Bernardino. Recently Reported Biological Activities of Pyrazole Compounds // Bioorg. Med. Chem. – 2017. – Vol. 25, № 21. – P. 5891–5903.
4. L. Ravindar, S. A. Hasbullah, K.P. Rakesh, N.I. Hassan. Pyrazole and pyrazoline derivatives as antimalarial agents: A key review // Eur. J. Pharm. Sci. – 2023. – Vol. 183. – Article 106365. – 30 P.
5. S. Sharma, V. Singh, Vaishali, R. Kumar, R. Jamra, N. Banyal, Jyoti. From 2011 to 2022: The development of pyrazole derivatives through the α,β-unsaturated carbonyl compounds // J. Heterocyclic Chem. – 2024. – Vol. 61, № 2. – P. 232–284.
6. P.K. Mykhailiuk. Fluorinated Pyrazoles: From Synthesis to Applications // Chem. Rev. – 2021. – Vol. 121, №3. P. 1670–1715.
7. В.Н. Ковганко, Н.Н. Ковганко, Л.И. Симоненко, И.Н. Слабко, Т.Н. Зинькова, А.В. Креч. 3-Арил-3-кетозэфиры в синтезе микобактерицидов. // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2013. – № 3. – С. 94–99.

**ДИЗАЙН IN SILICO И ОЦЕНКА АФФИННОСТИ НОВЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ 6-ТИОДЕЗОКСИГУАНОЗИНА К АКТИВНОМУ
ЦЕНТРУ ТЕЛОМЕРАЗЫ**

Красная М.С., Ринейская О.Н., Грязнов С.М.

Красная М.С.

*Студентка 2 курса лечебного факультета УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
mariakrasnaaa@gmail.com*

Ринейская О.Н.

*Кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей химии УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
ryneiskaya@mail.ru*

Грязнов С.М.

*PhD, Главный научный сотрудник, Майя Биотехнолоджи,
Чикаго, Иллинойс, США
sgryaznov@maiabiotech.com*

В данной статье рассмотрен активный центр теломеразы, а также ее взаимодействие с субстратом 5'-трифосфатом 6-тиодезоксигуанозина. Авторами были предложены структурные аналоги 6-тиодезоксигуанозина и проведено моделирование их молекулярных контактов с теломеразой для оценки стабильности комплексов белок-лиганд. Для сравнения энергии взаимодействия использовали результаты докинга 6-тиодезоксигуанозина. По результатам исследования наибольшую аффинность к теломеразе имели производные, содержащие полярные заместители на С₂ аминогруппе пуринового кольца, которые характеризуются делокализацией электронной плотности и М-эффектом.

Ключевые слова: теломераза, субстрат, молекулярный докинг, 6-тиодезоксигуанозин, π-π-стэкинг.

IN SILICO DESIGN AND AFFINITY EVALUATION OF NEW 6-THIODEOXYGUANOSINE DERIVATIVES TO THE ACTIVE SITE OF TELOMERASE

Krasnaya M.S.

*Second-year student, Faculty of General Medicine, Belarusian State University,
Minsk, Belarus
mariakrasnaaa@gmail.com*

Ryneiskaya O.N.

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of General
Chemistry, Belarusian State University, Minsk, Belarus
ryneiskaya@mail.ru*

Gryaznov S.M.

*PhD, Chief Scientific Officer, Maia Biotechnology, Inc., Chicago, Illinois, USA
sgryaznov@maiabiotech.com*

This article examines the active site of telomerase and its interactions with 5'-triphosphate of 6-thio-2'-deoxyguanosine (6S-dG). The authors introduced structural analogs of 6-S-dG and performed molecular docking with the active catalytic site of telomerase to assess the stability of protein-ligand complexes. The results of 6S-dG re-docking were used as a reference. The study revealed that derivatives containing polar substituents at the C₂ amino group of the purine ring, which characterized by delocalization of electron density and the M-effect, exhibited the highest affinity to telomerase.

Key words: *telomerase, inhibitor, molecular docking, 6-thiodeoxyguanosine, pi-stacking.*

В последние десятилетия приоритетным направлением в онкофармакологии стала разработка таргетных препаратов. Примером может служить создание средств на основе олигонуклеотидов, действие которых направлено на ингибирование механизмов поддержания длины теломер. Эти механизмы являются критическим условием для неограниченной пролиферации злокачественных клеток. Основной мишенью подобных лекарственных средств выступает теломераза — специализированная рибонуклеопротеиновая обратная транскриптаза [1].

Поскольку активная экспрессия теломеразы характерна для стволовых, герминативных и более чем 90 % опухолевых клеток, но практически не обнаруживается в большинстве дифференцированных соматических тканей, данный фермент может рассматриваться как высокоспецифичная мишень для антипролиферативной терапии. На современном этапе активную разработку проходят препараты, использующие каталитический потенциал теломеразы для реализации цитотоксического эффекта. К числу наиболее перспективных соединений относится 6-тио-2'-дезоксигуанозин (ТНЮ, МНН: атэганозин), являющийся модифицированным нуклеотидным аналогом и антиметаболитом 2'-дезоксигуанозина [2].

Механизм действия ТНЮ принципиально отличается от классического конкурентного ингибирования. Препарат выступает в роли «ложного субстрата»,

который теломераза селективно встраивает в структуру теломер опухолевой клетки. Инкорпорация ТНЮ приводит к нарушению архитектуры теломерного хроматина, дестабилизации защитного белкового комплекса (шелтеринов) и индукции каскада теломер-специфичного повреждения ДНК (telomere-associated foci, TAF). Результатом является запуск селективного апоптоза малигнизированных клеток и предотвращение рецидивирования заболевания за счет элиминации пула клеток с высоким репликативным потенциалом [3, 4, 5].

Дальнейшее развитие данной технологии требует детального моделирования и сравнительного анализа взаимодействия атеганозина и природного дезоксигуанозина с активным центром теломеразы. Исследование структурных и термодинамических параметров связывания методами *in silico* открывает возможности для направленного дизайна новых производных нуклеозидов с целью создания аналогов, обладающих более высоким сродством к ферменту и повышенной эффективностью встраивания в теломерную ДНК.

Целью настоящего исследования явился рациональный дизайн новых высокоаффинных ингибиторов теломеразы на основе сравнительного анализа молекулярного взаимодействия атеганозина с каталитическим доменом.

Материалы и методы. Для проведения вычислительного эксперимента из базы данных Protein Data Bank (PDB) была получена кристаллическая структура каталитической субъединицы теломеразы (TERT) под идентификатором PDB ID: 3KYL (*Tribolium castaneum*). Данная модель была выбрана в качестве референтной ввиду отсутствия в каталитическом домене нативных лигандов и высокой степени гомологии активного центра со структурой теломеразы человека [6]. При подготовке макромолекулы к процедуре молекулярного докинга проводилось удаление молекул растворителя и минорных примесей. В структуре активного центра был сохранен кофактор – ион магния, который локализован в каталитическом узле и играет ключевую роль в координации фосфатных групп атеганозина и его производных, обеспечивая стабилизацию переходного комплекса в процессе связывания. Для обеспечения корректной посадки исследуемых лигандов в каталитическом кармане фермента и устранения стерических затруднений в процедуре докинга было осуществлено удаление одного дезоксирибонуклеотида из состава терминального участка теломерной ДНК. Данный этап позволил освободить целевой сайт связывания для оценки аффинности атеганозина и его производных в позиции, соответствующей акту элонгации цепи.

Затем при помощи программного пакета ChemOffice были разработаны 22 структурных аналога 6-тиодезоксигуанозина путем введения различных по размеру и полярности заместителей в положения 1, 2, 7 и 8 пуринового кольца, а также в аминогруппу при C₂ (Рис.1). При подготовке лигандов к процедуре молекулярного докинга использовались нуклеозидтрифосфатные формы атеганозина и его производных. Данный подход обусловлен биологической обоснованностью выбранных структур: в нативных условиях теломераза, подобно другим ДНК-зависимым полимеразам, осуществляет захват и последующее включение нуклеотидов в растущую цепь исключительно в виде дезоксирибонуклеозидтрифосфатов. Так как биохимический процесс, катализируемый теломеразой, проис-

ходит с участием ионов магния, важным было на стадии подготовки лиганда установить отрицательный заряд остатков фосфорной кислоты. Пространственная оптимизация геометрии лигандов и расчет их парциальных зарядов проводились с использованием программного обеспечения Chem3D при помощи метода энергетической минимизации в силовом поле MM2.

Преобразование файлов в формат .pdbqt было произведено с помощью сервиса Science Codons. Расчет энергии связывания в системе белок-лиганд производился посредством AutoDock Vina. Каждый лиганд подвергался молекулярному докингу с теломеразой (3KYL). Далее проводились отбор и анализ полученных комплексов при помощи PyMOL, онлайн сервисов ProteinPlus, PLIP; оценка энергии сродства лигандов к активному центру фермента по величине свободной энергии Гиббса (ккал/моль).

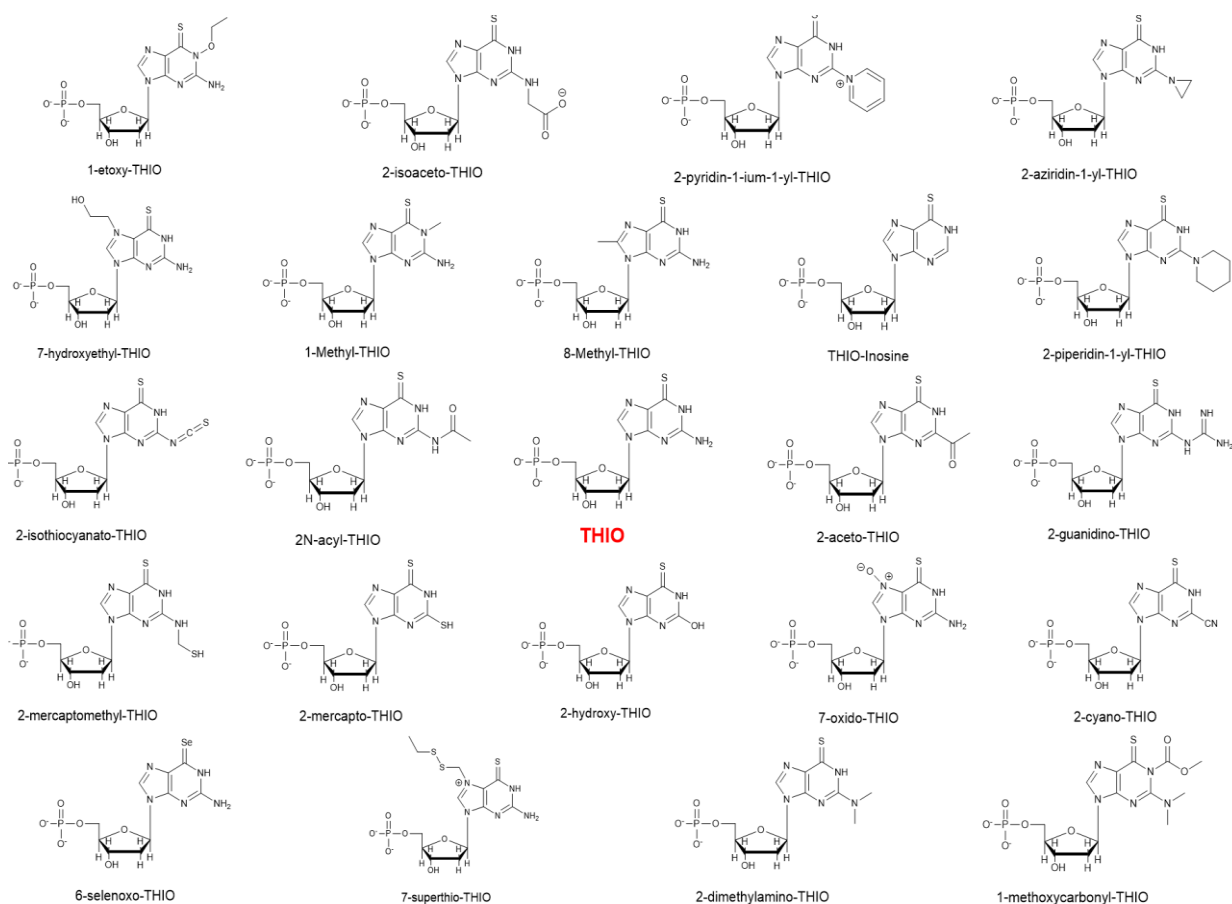


Рис. 1. Структурные аналоги 6-тио-2'-дезоксигуанозина

Результаты и обсуждение. Для каждого исследуемого лиганда в результате молекулярного докинга было генерировано по 9 конформационных решений (поз), ранжированных по значению расчетной энергии связывания. Путем сравнительного конформационного анализа и 3D-визуализации в программной среде PyMOL из полученного набора отбирались позы, характеризующиеся нативной ориентацией в каталитическом центре, то есть те, где лиганд располагался параллельно плоскости терминального нуклеотида в цепи теломерной ДНК. Данный критерий отбора обеспечивал соответствие геометрических параметров лиганда условиям последующего акта каталитической элонгации.

Далее была проведена сравнительная оценка аффинности ряда производных 6-тио-2'-дезоксигуанозина к каталитическому домену теломеразы. В качестве референтного значения использовался показатель энергии связывания немодифицированного нуклеозидтрифосфата ТНЮ, составивший -8,905 ккал/моль (Таблица 1). Анализ результатов свидетельствует о том, что ряд модификаций в положениях N1, C2 и C8 пуринового ядра приводит к дестабилизации взаимодействия с теломеразой.

Наиболее выраженное снижение аффинности зафиксировано для соединений с метилтио-группой (Таблица 1, №10: -6,719 ккал/моль) и гидроксипропиловым радикалом (Таблица 1, №21: -6,74 ккал/моль). Также неблагоприятными с энергетической точки зрения оказались этокси-производное (Таблица 1, №2: -8,098 ккал/моль) и ацилирование непосредственно по кольцу (Таблица 1, №8: -7,567 ккал/моль). Подобное снижение термодинамической стабильности может быть обусловлено возникновением стерических затруднений в каталитическом кармане фермента, что препятствует оптимальной координации трифосфатной группы нуклеотида относительно иона магния и РНК-матрицы.

Таблица 1

Результаты молекулярного докинга и значения свободной энергии связывания производных 6-тио-2'-дезоксигуанозинтрифосфата с теломеразой

№	Название лиганда	Энергия связывания, ккал/моль
Эталон	ТНЮ	-8,905
1	1-methyl-THIO	-8,673
2	1-etoxy-THIO	-8,098
3	1-methoxycarbonyl-THIO	-8,849
4	2-hydroxy-THIO	-8,362
5	2-mercapto-THIO	-8,741
6	8-methyl-THIO	-8,560
7	THIO-inosine	-8,752
8	2-aceto-THIO	-7,567
9	2N-acyl-THIO	-9,626
10	2-mercaptomethyl-THIO	-6,719
11	2-piperidin-1-yl-THIO	-7,700
12	2-cyano-THIO	-8,275
13	2-dimethylamino-THIO	-9,009
14	2-isothiocyanato-THIO	-8,57
15	2-aziridin-1-yl-THIO	-8,339
16	2-guanidino-THIO	-9,031
17	7-oxido-THIO	-7,762
18	2-pyridin-1-ium-1-yl-THIO	-9,962
19	2-isoaceto-THIO	-9,556
20	7-superthio-THIO	-9,120
21	7-hydroxyethyl-THIO	-6,740
22	6-selenoxo-THIO	-8,483

В то же время некоторые производные продемонстрировали показатели, сопоставимые с эталоном или незначительно его превосходящие. Так, введение

метильных групп в соединении №13 (-9,009 ккал/моль) или гуанидинового фрагмента (Таблица 1, №16: -9,031 ккал/моль) подтверждает возможность замены заместителей в положении 2 без потери эффективности связывания. Интересно отметить, что селеносодержащий аналог (Таблица 1, №22, SNIO) с показателем -8,483 ккал/моль уступает референтной структуре, что подчеркивает уникальность серы в обеспечении специфических контактов в активном центре.

Наибольшую аффинность продемонстрировали три структуры: 2-isoaceto-THIO (Таблица 1, №19: -9,556 ккал/моль), 2N-acyl-THIO (Таблица 1, №9: -9,626 ккал/моль), 2-Py-THIO (Таблица 1, №18: -9,962 ккал/моль). Абсолютным лидером молекулярного докинга стало соединение №18 (2-пиридино-6-тиодезоксигуанозинтрифосфат), энергия связывания которого на 1,057 ккал/моль ниже эталонного значения.

Существенный прирост аффинности указанных соединений, возможно, объясняется введением объемных ароматических или ацильных заместителей в положение 2, что способствует усилению π - π -стэкинг-взаимодействий с азотистыми основаниями РНК-матрицы и гидрофобными остатками каталитического кармана. Несмотря на возможную дестабилизацию канонических водородных связей в паре с матричным нуклеотидом, наличие расширенной системы сопряжения в радикалах лигандов №18 и №19 обеспечивает, по-видимому, более выгодную термодинамическую конфигурацию соединения в активном центре, что и отражается в снижении энергии Гиббса. Для соединений 2N-acyl-THIO (№9) и 2-isoaceto-THIO (№19) важным фактором является наличие карбонильной группы, сопряженной с аминогруппой пуринового кольца. Это приводит к образованию планарной конфигурации заместителя, что уменьшает энтропийные потери при связывании. Кроме того, атом кислорода в ацильных и ацето-группах выступает в роли дополнительного акцептора водородной связи, формируя новые контакты с микроокружением активного центра теломеразы (Рис. 2).

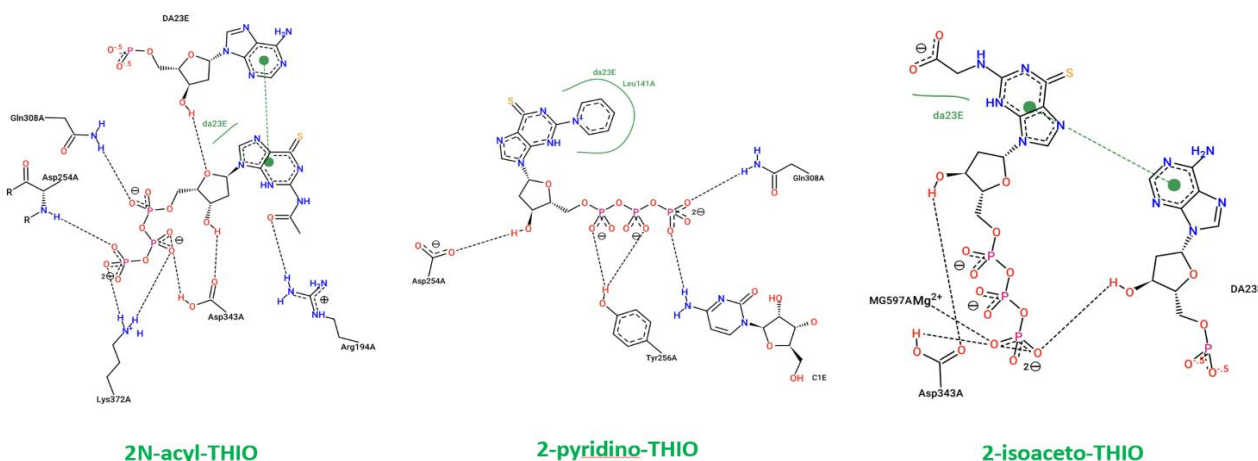


Рис. 2. Визуализация пространственного расположения соединений-лидеров в активном центре теломеразы и ключевые межмолекулярные взаимодействия (по данным ProteinPlus)

Напротив, отсутствие систем сопряжения и наличие алифатических или объемных гидрофильных радикалов (например, в структурах №21 и №2) нарушает электронный баланс пуриновой системы и создает пространственные препятствия.

Заключение. В ходе проведенного исследования методами рационального дизайна и молекулярного моделирования *in silico* была обоснована перспективность разработки новых производных 6-тио-2'-дезоксигуанозина как эффективных «ложных субстратов» теломеразы. Проведенный сравнительный анализ ряда соединений позволил выявить три структуры (№18, №9 и №19), характеризующиеся наилучшей геометрической и энергетической комплементарностью к каталитическому центру фермента.

Установлено, что критическим фактором, определяющим высокую термодинамическую устойчивость комплексов «теломераза–лиганд», является наличие в положении C2 заместителей с развитой системой делокализации электронной плотности (ацильной, пиридиновой и изоацето-групп). Формирование расширенной системы сопряжения в данных модификациях способствует усилению π - π -стэкинг-взаимодействий в активном центре, что делает эти соединения приоритетными объектами для дальнейшего изучения.

Полученные результаты открывают возможности для перехода к следующему этапу исследований, включающему детальный анализ стабильности комплексов методами молекулярной динамики и последующую верификацию биологической активности синтезированных соединений в экспериментах *in vitro* на клеточных культурах. Разработанные модификации могут представлять существенный интерес для таргетной онкофармакологии как потенциальные агенты, способные эффективно подавлять репликативный потенциал и вызывать гибель злокачественных клеток.

Список литературы

1. Shay, J. W. Telomeres and telomerase: three decades of progress / J. W. Shay, W. E. Wright // *Nature Reviews Genetics*. – 2019. – Vol. 20, № 5. – P. 299–309.
2. Ажибек, Н. А. Ингибирование теломеразы человека олигонуклеотидами : автореф. дис. ... канд. хим. наук : 02.00.10 / Н. А. Ажибек ; Моск. гос. ун-т им. М. В. Ломоносова. – М., 2014. – 24 с.
3. Induction of Telomere Dysfunction Mediated by the Telomerase Substrate Precursor 6-Thio-2'-Deoxyguanosine / I. Mender, S. Gryaznov [et al.] // *Cancer Cell*. – 2015. – Vol. 28, № 2. – P. 236–249.
4. THIO-Targeted Telomere Therapy: A Novel Strategy for Cancer Treatment / S. Sengupta, S. Gryaznov [et al.] // *Cancers*. – 2022. – Vol. 14, № 15. – Art. 3662.
5. Mender, I. 6-Thio-2'-Deoxyguanosine (THIO) as a New Frontier in Cancer Immunotherapy / I. Mender, S. Gryaznov, J. W. Shay // *Frontiers in Oncology*. – 2020. – Vol. 10. – Art. 601350.
6. Structural basis for telomerase catalytic subunit TERT binding to RNA template and telomeric DNA / M. Mitchell [et al.] // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2010. – Vol. 17, № 4. – P. 513–518.

**МОЛЕКУЛЯРНОЕ И ЦИФРОВОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ
В СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПРОПЕДЕВТИКЕ
НА ПРИМЕРЕ ПРЕПОДАВАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ДИСЦИПЛИН
НА КАФЕДРЕ ОБЩЕЙ ХИМИИ БГМУ**

Лахвич Ф.Ф., Ринейская О.Н., Романовский И.В.

Лахвич Ф.Ф.

*Кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусского государственного медицинского университета»,
г. Минск, Беларусь
lakhvichtt@gmail.com*

Ринейская О.Н.

*Кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусского государственного медицинского университета»,
г. Минск, Беларусь
ryneiskaya@mail.ru*

Романовский И.В.

*Кандидат медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей химии УО
«Белорусского государственного медицинского университета»,
г. Минск, Беларусь*

Аннотация. В данной работе анализируется роль фундаментальной химической подготовки в контексте формирования профессиональных компетенций студентов медицинских университетов. Авторы обосновывают неизбежность трансформации образовательного процесса и перехода от традиционных дескриптивных методов к инновационным стратегиям молекулярного моделирования и биоинформатического анализа. В статье представлен многолетний опыт кафедры по интеграции профессионального программного обеспечения (пакет ChemOffice, AutoDock) и глобальных биоинформатических репозиториев (Protein Data Bank) в учебный процесс и структуру научно-исследовательской работы. Установлено, что глубокое внедрение методов *in silico* и алгоритмов молекулярного докинга не только интенсифицирует процесс усвоения знаний, но и способствует развитию критического мышления, формируя адаптивные навыки будущего врача и провизора в условиях тотальной цифровизации естественных наук.

Ключевые слова: биополимеры, макромолекулярная архитектура, молекулярный дизайн, молекулярный докинг, Protein Data Bank, медицинское образование, биохимия, ChemOffice, *in silico*, AutoDock.

**MOLECULAR & DIGITAL MODELING IN MEDICAL PROPAEDEUTICS:
A CASE STUDY OF TEACHING CHEMICAL DISCIPLINES
AT THE DEPARTMENT OF GENERAL CHEMISTRY
OF BELARUSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY**

Lakhvich T.

Belarusian State Medical University, Republic of Belarus, Minsk, Associate professor of the department of General Chemistry, Associate professor lakhvichtt@gmail.com

Ryneiskaya O.N.

Belarusian State Medical University, Republic of Belarus, Minsk, Associate professor of the department of General Chemistry, Associate Professor ryneiskaya@mail.ru

Romanovsky I.V.

Belarusian State Medical University, Republic of Belarus, Minsk, Professor of the department of General Chemistry, Professor

Abstract. *The article analyzes the fundamental role of chemical education in the formation of professional competencies among medical and pharmaceutical students. The authors substantiate the necessity of transforming the educational process by shifting from traditional descriptive methods to innovative strategies of molecular modeling and bioinformatics. The paper presents the long-term experience of the department in integrating professional software (ChemOffice, AutoDock) and global bioinformatic repositories (Protein Data Bank) into the curriculum and student research activities. It was established that the implementation of in silico methods and molecular docking algorithms not only intensifies the learning process but also promotes the development of critical thinking and adaptive skills. These competencies are essential for future physicians and pharmacists in the context of the total digitalization of natural sciences and the transition to structure-based drug design.*

Key words: *biopolymers, molecular modeling, molecular docking, Protein Data Bank, medical education, biochemistry, ChemOffice, in silico, AutoDock, drug discovery.*

Введение. Не подлежит сомнению, что познание процессов жизнедеятельности и постижение внутренней «логики живого» на молекулярном уровне являются обязательной составляющей медицинского образования. Именно молекулярный уровень познания служит тем фундаментом, на котором базируется вся последующая медико-биологическая, клиническая и профилактическая подготовка квалифицированных врачей и провизоров. Осмысление того, что жизнь представляет собой особую форму существования биополимерных систем, характеризующихся хиральной чистотой и способностью к саморепликации в условиях постоянного обмена энергией и информацией, требует от современного студента глубоких знаний в области стереохимии и термодинамики.

Текущий этап развития естественных наук характеризуется качественным переходом от описательной биохимии к прецизионной структурной биологии.

Современный инструментарий позволяет не только верифицировать пространственную конфигурацию низкомолекулярных метаболитов, но и детально картировать архитектуру сверхсложных биополимеров — белков и нуклеиновых кислот. Решение задач по определению нативной структуры макромолекул, а также их динамических комплексов с потенциальными лекарственными лигандами, стало возможным благодаря совместному использованию физико-химических методов: рентгеноструктурного анализа, спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и сверхвысокоразрешающей криоэлектронной микроскопии. Глобальный массив данных, генерируемый ведущими лабораториями мира, систематизируется в крупнейшем общедоступном репозитории — **Protein Data Bank (PDB)**. Стандартизированные цифровые форматы обеспечивают возможность последующей визуализации биополимеров в специализированных редакторах, таких как **PyMol**, и на серверах **PLIP** или **Protein-Plus**, что позволяет студенту наглядно оценить механизмы взаимодействия лекарственного вещества с активным центром мишени.

Результаты и обсуждение.

1. Цифровой дизайн и аналитическое прогнозирование в среде *ChemOffice*

Преподавание биоорганической химии для студентов медицинских специальностей и органической химии для фармацевтического факультета сегодня невозможно представить без использования профессионального программного обеспечения. Мы исходим из того, что современному студенту недостаточно текстового описания структуры; эффективное когнитивное восприятие требует интерактивной манипуляции объектом в виртуальном пространстве. Опираясь на опыт кафедры (более 15 лет), мы интегрируем пакет программ **ChemOffice** во все этапы обучения. В ходе лабораторных занятий студенты не только овладевают техникой построения сложных структурных формул, но и осуществляют расчет физико-химических дескрипторов.

Особую ценность для студентов фармацевтического факультета представляет модуль **ChemNMR**, позволяющий моделировать масс-спектры и спектры ЯМР (^1H и ^{13}C). Это дает студентам возможность сопоставлять теоретически предсказанные сигналы с реальными экспериментальными данными, что является основой структурной идентификации фармацевтических субстанций. Программный комплекс позволяет автоматически генерировать названия соединений по номенклатуре IUPAC, исключая человеческий фактор при составлении номенклатурных описаний. Модуль **Chem3D** обеспечивает визуализацию электронных эффектов и пространственных конформаций, что позволяет студентам детально изучать стерические затруднения и оценивать геометрию связей внутри сложных органических молекул.

2. Валидация практических компетенций и биоинформатическая интеграция

В течение последних трех лет в структуру аттестации студентов БГМУ внедрена обязательная защита практических навыков. Данные навыки прописаны в учебной программе (www.bsmu.by/universitet/uchebnaya-deyatelnost/uchebno-programmnaya-dokumentaciya/) Первый из практических

навыков, который формулируется как «Моделирование структур биологически важных соединений и лекарственных средств с помощью симуляционных программ визуализации; конвертация их тривиальных и систематических названий в молекулярные модели», проверяется в специализированных компьютерных классах. Студенты демонстрируют умение конвертировать систематические названия в точные молекулярные модели в **ChemDraw**, анализируя при этом распределение зарядов и геометрию связей.

Второй критически важный для формирования медико-биологического мышления навык — «Использование баз данных для оценки строения и функциональности биологических макромолекул; конвертация форматов визуализации макромолекул» — подразумевает автономную работу с **RCSB PDB**. Обучающиеся проводят поиск конкретных кристаллографических структур белков-мишеней, анализируют параметры экспериментального разрешения и осуществляют визуализацию в **PLIP** и **Protein-Plus**. Использование этих ресурсов позволяет наглядно увидеть, как именно формируются нековалентные связи в комплексе «рецептор-лиганд», что превращает абстрактные знания о водородных связях в понимание реальных биохимических механизмов и основ фармакодинамики.

3. Научно-исследовательская работа *in silico*: алгоритмы докинга и оценки аффинности

Кафедра активно привлекает студентов к выполнению комплексных проектов, где ключевым элементом является молекулярный докинг [5-7]. Процесс включает анализ научной периодики, выбор мишени в PDB и молекулярный дизайн потенциальных кандидатов в ChemOffice. Для обеспечения совместимости данных применяется конвертер **OpenBabelGUI**, который подготавливает структуры лигандов, добавляя атомы водорода и определяя типы атомов для корректного силового поля.

Для реализации финальных стадий вычислений используются **AutoDock4** и **DockingServer**. В случаях, когда топография активного центра неизвестна, реализуется протокол «слепого» (blind) докинга. Проведение масштабного пула итераций (до 100 «пробегов») позволяет охватить всю поверхность белка и локализовать наиболее вероятные сайты связывания. В результате студенты получают подробный отчет, позволяющий выявить наиболее предпочтительные зоны стыковки.

Детальное рассмотрение взаимодействий в программах **PyMol** и **PLIP** дает возможность дифференцированно оценить вклад гидрофобных и стекинг-взаимодействий, водородных, галогеновых и ионных связей. На основании расчетов изменения энергии Гиббса полученных комплексов можно определить наиболее предпочтительный из них. Далее, как правило, проводится докинг с модифицированными структурами лигандов в выявленном активном центре (ограниченный докинг) для выявления молекулы-лидера. Завершается цикл направленным докингом модифицированных структур в выявленный центр для определения «молекулы-лидера». Подобная работа в группах «преподаватель-студент» способствует социальной интеграции и формированию профессиональной идентичности, подготавливая выпускника к работе в условиях наукоемкого фармацевтического производства.

Заключение. Интеграция молекулярных редакторов и симуляционных платформ в процесс обучения и НИР направлена на достижение долгосрочных целей профессионального образования. Органическая химия и биология стремительно теряют черты описательных наук, становясь частью глобальных процессов дигитализации и моделирования. В современной фармакологии принцип «структура — свойство» является доминирующим. Следовательно, владение инструментарием визуализации и экспериментов *in silico* является фундаментальной компонентой компетенций будущего врача и провизора, обеспечивающей их конкурентоспособность в современном мире и формирующей навыки критического анализа сложных биологических систем.

Список литературы

1. Балаева-Тихомирова, О. М. Применение наглядного моделирования при изучении органической и биологической химии / О. М. Балаева-Тихомирова [и др.] // *Universum: психология и образование*. – 2020. – № 10 (76).
2. Лахвич, Ф. Ф. Использование элементов исследовательской технологии рационального драг-дизайна в процессе обучения студентов фармацевтических специальностей / Ф. Ф. Лахвич, О. Н. Ринейская // *Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине*. – СПб., 2021. – С. 296–301.
3. Amgad, M. Medical student research: an integrated mixed-methods systematic review and meta-analysis / M. Amgad, M. Tsui // *PLoS ONE*. – 2015. – Vol. 10, № 6. – Art. e0127470.
4. Lakhvich, T. Beautylity of chemistry visualization: Whether useful can be aesthetic / T. Lakhvich // *Problems of Education in the 21st Century*. – 2010. – Vol. 19. – P. 46–50.
5. Kitchen, D. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery / D. Kitchen, H. Decornez // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2004. – Vol. 3, № 11. – P. 935–949.
6. Lakhvich, T. Student Research: Acquiring Knowledge about the Nature and Process of Science / T. Lakhvich // *Journal of Baltic Science Education*. – 2017. – Vol. 16, № 6. – P. 832–835.
7. Sharp, J. The management of a student research project / J. Sharp, J. Peters, K. Howard. – Gower Publishing, Ltd., 2012. – 278 p.
8. Ragno, R. Teaching and Learning Computational Drug Design / R. Ragno, V. Esposito // *Journal of Chemical Education*. – 2020. – Vol. 97, № 7. – P. 1922–1930.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ И ПРОГНОЗ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНЫХ 2-АЗЕТИДИНОНА

Ринейская О.Н.

Ринейская О.Н.

*Кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский
университет»,
г.Минск, Беларусь
ryneiskaya@mail.ru*

Исследование посвящено разработке и анализу новых производных 2-азетидинона (эзетимиба), способных связываться с белком-транспортером холестерина NPC1L1. Методами молекулярного моделирования установлено, что наиболее высокой аффинностью (до -12,2 ккал/моль) обладают структуры с компактными заместителями и гетероциклическими фрагментами. Анализ при помощи SwissADME подтвердил благоприятный фармакокинетический профиль большинства соединений: они характеризуются высокой абсорбцией в желудочно-кишечном тракте, оптимальной липофильностью и соответствием правилам биодоступности. Несмотря на выявленную способность ряда производных взаимодействовать с изоферментами CYP1A2, CYP2C19 и CYP2C9, отсутствие ингибирования ключевых цитохромов CYP2D6 и CYP3A4 указывает на низкую вероятность критических взаимодействий между лекарственными средствами, что позволяет считать отобранные соединения перспективными для дальнейшей оптимизации и доклинических испытаний.

Ключевые слова: 2-азетидинон, молекулярный докинг, NPC1L1, SwissADME, фармакокинетика, эзетимиб.

MOLECULAR DOCKING AND PREDICTION OF BIOPHARMACEUTICAL PROPERTIES OF 2-AZETIDINONE DERIVATIVES

Ryneiskaya O.N.

*MD, PhD, Associate Professor of Department of General Chemistry
of educational Institution "Belarusian State Medical University",
Minsk, Belarus
ryneiskaya@mail.ru*

The study focused on the development and analysis of new 2-azetidinone (ezetimibe) derivatives capable of binding to the cholesterol transporter protein NPC1L1. Molecular modeling revealed that structures with compact substituents and heterocyclic fragments exhibited the highest affinity (up to -12.2 kcal/mol). SwissADME analysis confirmed the favorable pharmacokinetic profile of most compounds: they are characterized by high absorption in the gastrointestinal tract, optimal lipophilicity, and compliance with bioavailability guidelines. Despite the identified ability of several derivatives to interact with the CYP1A2, CYP2C19, and CYP2C9 isoenzymes, the lack of

inhibition of key cytochromes CYP2D6 and CYP3A4 indicates a low probability of critical drug-drug interactions, suggesting that the selected compounds are promising for further optimization and preclinical testing.

Key words: 2-azetidinone, NPC1L1, molecular docking, SwissADME, ezetimibe, pharmacokinetics.

Актуальность. Коррекция нарушений липидного обмена представляет собой приоритетную задачу здравоохранения Республики Беларусь ввиду взаимосвязи между уровнем холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) и риском развития сердечно-сосудистых осложнений [1]. Современные терапевтические стратегии ориентированы на достижение целевых концентраций ХС-ЛПНП, однако широкое применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы ограничено феноменом статин-резистентности и развитием побочных эффектов у значительной группы пациентов [2,3]. Данные обстоятельства обуславливают необходимость внедрения комбинированных схем терапии, направленных на ингибирование абсорбции экзогенного холестерина.

Ключевой мишенью для фармакологической модуляции в данном контексте является трансмембранный белок энтероцитов Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1), обеспечивающий транспорт холестерина в клетки из просвета кишечника [4]. На текущий момент лекарственное средство эзетимиб остается единственным селективным ингибитором NPC1L1, используемым в клинической практике. Тем не менее, актуальность поиска новых производных 2-азетидинона сохраняется ввиду необходимости повышения аффинности к целевому белку и оптимизации фармакокинетических параметров соединений [5,6]. Известно, что эзетимиб быстро всасывается в кишечнике, подвергается глюкуронизации и способен как в свободном состоянии, так и в виде глюкуронида блокировать мишень. Это позволяет препарату и его метаболиту многократно воздействовать на NPC1L1 энтероцита, минимизируя воздействие на другие органы [7].

Применение методов молекулярного моделирования в разработке инновационных гиполипидемических агентов позволяет идентифицировать ключевые структурные детерминанты, обеспечивающие комплементарность лигандов к связывающему карману NPC1L1, что существенно повышает эффективность дизайна высокоспецифичных молекул с заданными терапевтическими характеристиками. Завершение этапа молекулярного моделирования и докинга требует верификации отобранных молекул с точки зрения их биодоступности других фармакокинетических параметров, что является определяющим для подтверждения теоретической возможности применения моделируемых соединений качестве эффективных лекарственных препаратов.

Целью работы является *in silico* дизайн новых производных эзетимиба и комплексная оценка их сродства к белку NPC1L1 методом молекулярного докинга с последующим прогнозированием фармакокинетических параметров и биодоступности полученных соединений.

Материалы и методы. Подготовка структурных моделей новых лигандов выполнялась в программной среде ChemOffice (модуль ChemDraw). Для корректной пространственной конфигурации молекул проведена оптимизация геометрии

с минимизацией энергии методами молекулярной механики до достижения градиента сходимости $<0,01$ ккал/(моль·Å) в приложении Chem 3D. В качестве биологической мишени выбрана кристаллографическая структура транспортного белка NPC1L1 (PDB ID: 7DFZ), депонированная в Protein Data Bank. Препроцессинг макромолекулы, включающий удаление молекул растворителя и нативных лигандов, достройку атомов водорода и расчет парциальных зарядов и молекулярный докинг осуществлялся в среде UCSF Chimera. Оценка аффинности комплексов «белок-лиганд» проводилась по значениям расчетной свободной энергии связывания (ΔG , ккал/моль). Топология активного центра и характер межмолекулярных взаимодействий (водородные связи, гидрофобные и π -контакты) верифицировались с помощью сервисов Proteins Plus и PLIP. Финальная визуализация и графический анализ полученных моделей выполнены в программе PyMOL. Прогнозирование фармакокинетических параметров и оценка «лекарственноподобности» (drug-likeness) разработанных соединений осуществлялись с помощью веб-ресурса SwissADME [8]. Анализ включал расчет ключевых физико-химических параметров, таких как молекулярная масса, количество связей, вокруг которых возможно вращение, молекулярная рефракция, коэффициент распределения в системе октанол-вода (LogP), растворимость в воде (LogS), количество акцепторов и доноров водородных связей, топологическая полярная площадь поверхности (TPSA).

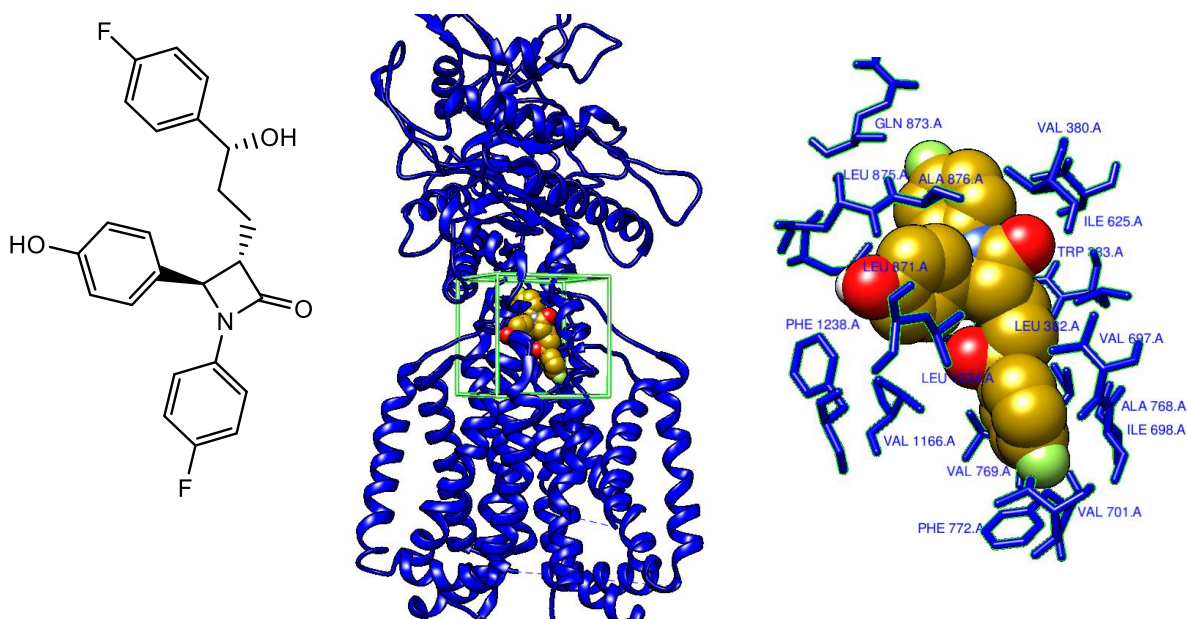


Рис. 1. Структурная формула эзетимиба и молекулярное моделирование его с белком-мишенью NPC1L1-EZE (Chimera)

Оценка соответствия структур критериям пероральной биодоступности проводилась на основании правил Lipinski и др.). Дополнительно анализировался профиль всасывания в желудочно-кишечном тракте (GI-абсорбция) и способность к проникновению через гематоэнцефалический барьер (модель BOILED-Egg), а также взаимодействие с Р-гликопротеином и основными изоформами цитохрома P450 для оценки потенциальных межлекарственных взаимодействий.

Результаты и их обсуждение. Полученный из базы данных комплекс белка-мишени и эзетимиба был проанализирован при помощи средств визуализации Proteins Plus и PLIP, что позволило выявить наиболее важные аминокислоты, участвующие в связывании лиганда (в радиусе 5 Å).

Полученные результаты позволили рассчитать центр области направленного молекулярного докинга, координаты которого составили $x=173,14$; $y=175,89$; $z=185,22$ с размером ячейки $20 \times 20 \times 20$ Å (рис. 1).

Эзетимиб представляет собой производное 2-азетидиона, выполняющего роль жесткого каркаса (рис. 1). Фармакологическая активность соединения обусловлена наличием двух фторфенольных колец, способствующих устойчивости к метаболическому окислению, и алифатической и фенольной гидроксильными группами. Соединение хирально: конфигурация атомов 3R и 4S обеспечивает комплементарность активному центру мишени.

На рисунке 1 также представлен результат трехмерной реконструкции комплекса эзетимиб-NPC1L1 в программе Chimera (комплекс получен в результате докинга). Белок представлен в виде α -спиральных участков, формирующих надмембранную часть и трансмембранный канал, где расположен лиганд в рамках области молекулярного докинга (ограничена кубом с зелеными ребрами).

Визуальный анализ подтверждает высокую степень стерического соответствия, удерживаясь за счет гидрофобных взаимодействий ароматических колец с неполярными аминокислотными остатками. Расчетная энергия связывания составила -12.11 ккал/моль, что свидетельствует о формировании термодинамически стабильного комплекса и подтверждает высокую аффинность эзетимиба к данному центру связывания.

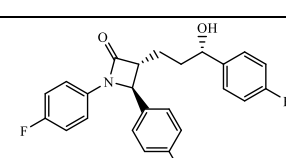
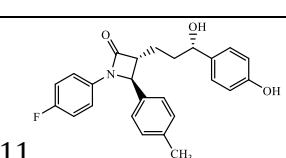
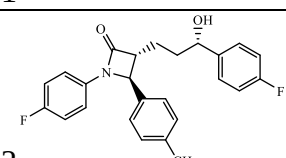
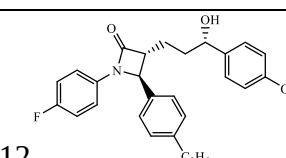
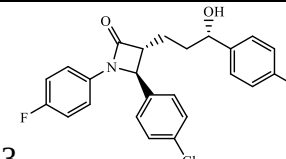
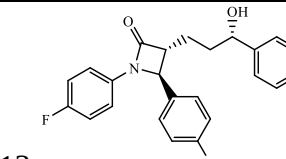
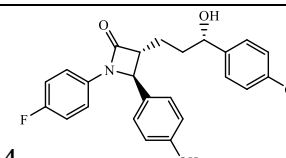
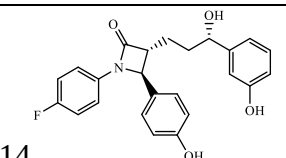
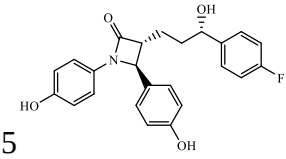
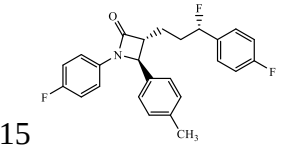
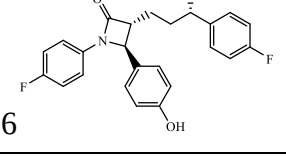
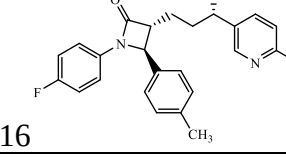
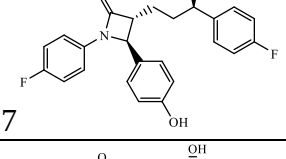
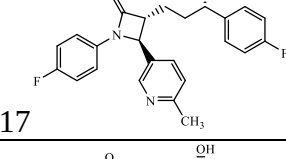
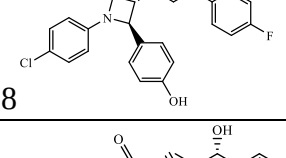
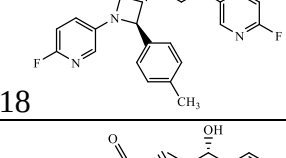
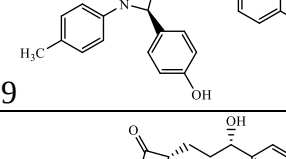
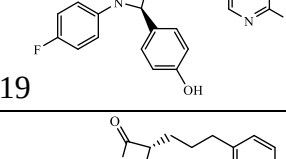
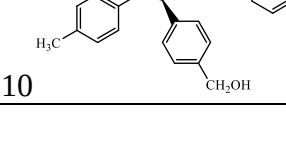
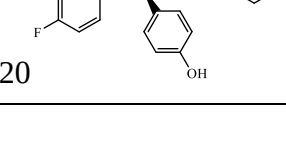
При помощи ChemOffice произведено проектирование 20-ти структур, являющихся производными эзетимиба, полученными путем введения или замещения функциональных групп в фенильных кольцах и боковой алифатической цепи (Таблица 1).

Анализ результатов молекулярного докинга показал, что наиболее высокой аффинностью к мишени NPC1L1 обладают соединения с компактными электроотрицательными заместителями (F, Cl) или метильными группами, в то время как введение объемных (метокси-) или полярных (ОН-групп в определенных позициях) заместителей снижает сродство из-за стерических препятствий.

Оптимальный результат (-11,8...-12,2 ккал/моль) достигается при использовании карбоциклических фрагментов или пиридинового цикла, способного образовывать дополнительные водородные связи. При этом этильные заместители (соед. 12) оказались неэффективными.

Таблица 1

Характеристики взаимодействия (энергия связывания, ΔG) производных эзетемиба с рецептором

Формула	ΔG , ккал/моль	Формула	ΔG , ккал/моль
 1	-11,6	 11	-11,1
 2	-11,6	 12	-9,7
 3	-11,8	 13	-10,5
 4	-11,5	 14	-11,1
 5	-10,8	 15	-12,2
 6	-10,4	 16	-11,9
 7	-11,4	 17	-11,7
 8	-11,3	 18	-11,8
 9	-11,3	 19	-10,8
 10	-11,2	 20	-11,5

Все перспективные производные сохраняют единый способ ориентации в активном центре и стабилизируются за счет прочных гидрофобных контактов, что подтверждает их потенциал в качестве гиполипидемических агентов.

Результаты анализа в SwissADME подтверждают высокую перспективность отобранных соединений, демонстрируя их соответствие ключевым критериям фармацевтической разработки. Большинство исследуемых производных характеризуются высокой желудочно-кишечной абсорбцией и оптимальной липофильностью (показатели $\text{Log } P$) в диапазоне 3.3–5.0), что напрямую коррелирует с ранее установленной способностью молекул образовывать устойчивые гидрофобные контакты в активном центре белка NPC1L1. Несмотря на то что некоторые соединения (например, соедин. 14) могут быть субстратами Р-гликопротеина, что теоретически ограничивает их накопление, их высокие значения аффинности и сохранение единого способа ориентации в сайте связывания перевешивают этот фактор. Отсутствие ингибирования большинства изоферментов цитохрома Р450 (в частности, CYP2D6 и CYP3A4 для многих позиций) указывает на низкий риск межлекарственных взаимодействий. Таким образом, сочетание высокого расчетного сродства к мишени с благоприятными фармакокинетическими профилями и приемлемой синтетической доступностью обосновывает выбор этих структур как надежных кандидатов для дальнейшей оптимизации и разработки новых гиполипидемических средств.

Заключение. Проведенное комплексное исследование позволило установить, что модификация структуры эзетимиба путем введения атомов фтора и азотсодержащих гетероциклических фрагментов (пиридинового цикла) способствует достижению оптимальной комплементарности к сайту связывания NPC1L1, что подтверждается высокими значениями расчетной энергии аффинности (до -12,2 ккал/моль). Согласно данным прогностического моделирования ADME, соединения-лидеры (в частности, 15, 16 и 18) характеризуются сбалансированными физико-химическими параметрами, высокой желудочно-кишечной абсорбцией и приемлемым профилем метаболической стабильности в отношении основных изоферментов цитохрома Р450. Совокупность полученных результатов обосновывает перспективность данных структур как фундамента для направленного синтеза и последующих биологических испытаний новых высокоэффективных гиполипидемических агентов.

Список литературы

1. Статкевич Т.В. современные подходы к диагностике и лечению дислипидемий: фокус на новын клинические рекомендации/ Т.В. Статкевич, М.С. Денисевич, И.П. Патеюк // Кардиология в Беларуси. – 2023. – Т.15. – №4 – С. 452-465.
2. Mach, F. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk / F. Mach, C. Baigent, A. L. Catapano // European Heart Journal. – 2020. – Vol. 41, № 1. – P. 111–188.
3. Zhang, Y. Structural insights into the inhibition of NPC1L1 by ezetimibe / Y. Zhang, L. Ge, X. Huang // Nature Communications. – 2022. – Vol. 13, № 1. – Art. 3456.
4. Bhardwaj, S. NPC1L1: A Systemic Review on Intestinal Cholesterol Absorption and its Inhibition / S. Bhardwaj, K. K. Garg, P. Kumar [et al.] // Current Cardiology Reviews. – 2021. – Vol. 17, № 2. – P. 150–161.

5. Global, P. Recent advances in the discovery of NPC1L1 inhibitors as hypolipidemic agents / P. Global, S. Kumar, R. Singh // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2023. – Vol. 258. – Art. 115598.

6. Тюрина, Е. П. Молекулярный докинг как метод поиска новых лекарственных веществ / Е. П. Тюрина, А. В. Соколов // *Фармация и фармакология*. – 2021. – Т. 9, № 3. – С. 164–175.

7. Soulele, K. On the population pharmacokinetics and the enterohepatic recirculation of total ezetimibe / K. Soulele, V. Karalis // *Xenobiotica*. – 2019. – Vol. 49, № 3. – P. 320–330.

8. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules [Electronic resource] / Swiss Institute of Bioinformatics. – 2024. – Mode of access: [swissadme.ch](https://www.swissadme.ch). – Date of access: 07.05.2024.

**СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ,
ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИИ И АДсорбЦИОННЫМ СВОЙСТВАМ
МЕЗОПористОГО КРЕМНЕЗЕМА ДЛЯ БИомЕДИЦИНСКИХ
ПРИМЕНЕНИЙ**

Кузнецова Т.Ф., Копыш Е.А.

Кузнецова Т.Ф.

*Кандидат химических наук, заведующий лабораторией адсорбентов и адсорбционных процессов государственного научного учреждения «Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
tatyana.fk@gmail.com*

Копыш Е.А.

*Младший научный сотрудник лаборатории адсорбентов и адсорбционных процессов государственного научного учреждения «Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск, Беларусь
liza_kopusch@mail.ru*

В статье рассмотрены современные стратегии синтеза наночастиц мезопористого оксида кремния(IV) (MSN) с акцентом на «зеленые» методы получения из растительного сырья (рисовая шелуха, кукурузные кочерыжки, отходы сахарного тростника). Обсуждены механизмы роста частиц, по Штёберу, и формирование структур ядро – оболочка. Проанализирована взаимосвязь «синтез – пористая структура – адсорбционная способность» по отношению к лекарственным препаратам (будесонид, ибупрофен, доксорубицин) и биомолекулам. Особое внимание уделено pH-чувствительным системам доставки на основе хитозанового покрытия, а также каталитической активности MSN в реакциях окисления и деградации органических красителей. Приведены данные о биосовместимости и цитотоксичности мезопористого кремнезема.

Ключевые слова: мезопористый оксид кремния(IV); наночастицы; адсорбция; доставка лекарств; золь-гель синтез; биосовместимость; зелёная химия; катализ.

MODERN APPROACHES TO THE PRODUCTION, FUNCTIONALIZATION AND ADSORPTION PROPERTIES OF MESOPOROUS SILICA FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Kouznetsova T.F.

Candidate of Chemical Sciences, Head of the Laboratory of Adsorbents and Adsorption Processes of the State Scientific Institution "Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus
tatyana.fk@gmail.com

Kapysh E.A.

Junior Researcher, Laboratory of Adsorbents and Adsorption Processes, State Scientific Institution "Institute of General and Inorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Belarus
liza_kopusch@mail.ru

This article reviews current strategies for the synthesis of mesoporous silica nanoparticles (MSNs), with an emphasis on green methods utilizing plant-based raw materials (rice husk, corn cobs, sugarcane bagasse). The mechanisms of particle growth via the Stöber method and the formation of core-shell structures are discussed. The relationship between synthesis, porous structure, and adsorption capacity with respect to drugs (budesonide, ibuprofen, doxorubicin) and biomolecules is analyzed. Special attention is paid to pH-sensitive drug delivery systems based on chitosan coating, as well as the catalytic activity of MSNs in oxidation reactions and the degradation of organic dyes. Data on the biocompatibility and cytotoxicity of mesoporous silica are presented.

Key words: mesoporous silica; nanoparticles; adsorption; drug delivery; sol-gel synthesis; biocompatibility; green chemistry; catalysis.

Мезопористые наночастицы оксида кремния(IV) (MSN) занимают одно из центральных мест в современной химии материалов. Это обусловлено уникальным сочетанием свойств: высокая удельная поверхность (до 1000 м²/г), регулируемый размер пор (2 – 15 нм), поверхность, легко поддающаяся химической модификации за счет силанольных групп (–Si–OH), а также доказанная биосовместимость [1 – 6]. Наноструктурированный кремнезём применяется не только в традиционной адсорбции и катализе, но и в таргетной доставке противоопухолевых препаратов, пероральной доставке глюкокортикоидов (будесонид) [3], а также в фотодинамической терапии [4].

Тем не менее, классические методы синтеза MSN (например, с использованием токсичных темплатов и органических растворителей) не всегда удовлетворяют принципам «зеленой химии». В связи с этим активно развиваются подходы, использующие возобновляемое биогенное сырьё: рисовую шелуху, кукурузные кочерыжки, багассу сахарного тростника [2]. Кроме того, важным направлением является создание «умных» адсорбентов с pH-чувствительным покрытием (хитозан, полимерные мицеллы), позволяющих контролировать высвобождение лекарственных молекул в кислой среде опухоли или воспаленного очага [5 – 7].

Цель данной работы — обобщить современные представления о синтезе, адсорбционных свойствах и применении MSN, уделяя особое внимание новым «зелёным» технологиям и стимулируемым системам доставки.

На адсорбционную структуру могут влиять методы синтеза и некоторые факторы.

1. Классический золь-гель процесс и метод Штёбера

Наиболее распространённым способом синтеза монодисперсных сферических частиц кремнезема является метод Штёбера, основанный на гидролизе тетраэтоксисилана (ТЭОС) в смеси этанол–вода в присутствии аммиака как катализатора. В работе [7] показано, что введение вторичных и третичных алканоламинов позволяет контролировать размер частиц в диапазоне 50–500 нм и влиять на мезопористую структуру. Позднее Chen и соавт. (2020) предложили бестемплатную самосборку («self-templating»), модифицируя классический метод Штёбера для получения частиц MCM-41-подобной структуры без использования ПАВ. Удельная поверхность таких материалов достигала 500 м²/г при диаметре пор 3.0 нм, что сравнимо с традиционными мезопористыми кремнеземами.

2. Биогенный синтез из растительного сырья

«Зелёный» синтез приобретает всё большее значение. В обзоре Shafiei et al. (2021) детально описано получение наночастиц кремнезема и кремния из рисовой шелухи. Процесс включает кислотную обработку шелухи для удаления неорганических примесей, последующее сжигание при 600–700 °С и щелочное выщелачивание. Образующиеся частицы имеют аморфную структуру, размер 10–70 нм и удельную поверхность до 160–300 м²/г. Показано, что такие био-SiO₂ эффективно работают как носители для Penicillin G (модельный антибиотик) [8].

Ещё один интересный подход — биоконверсия кукурузных кочерыжек с использованием гриба *Fusarium culmorum* [9]. В результате получают сферические частицы кремнезема (40–70 нм) с содержанием силоксановых связей, подтверждённым ИК-спектроскопией. Бактериальный синтез с использованием *BKN1* также продемонстрировал возможность выделения наночастиц из неорганических силикатов [10].

3. Синтез полых и структурированных частиц

Для увеличения адсорбционной ёмкости и создания резервуаров для лекарств разработаны методы получения полых мезопористых наночастиц (hollow MSN). Ikuno и соавт. (2014) использовали наночастицы оксида железа(III), Fe₂O₃, в качестве шаблона, которые затем удаляли кислотным травлением. Полученные полые частицы демонстрировали быструю кинетику адсорбции и высокую загрузку модельного белка. Другой подход — однореакторный контроль морфологии с изменением соотношения цетилтриметиламмония бромида (СТАВ) и со-растворителей, позволяющий получать стержневидные, сферические или эллипсоидные MSN [11].

Адсорбция лекарственных препаратов и биомолекул. Адсорбционная способность MSN определяется сочетанием микропор, мезопор и поверхностных функциональных групп [12]. В таблице 1 приведены характерные значения адсорбционной ёмкости для различных лекарств.

Важно отметить, что функционализация аминогруппами (APTES) повышает загрузку отрицательно заряженных молекул за счет электростатического взаимодействия, а также позволяет ковалентно связывать ферменты для создания биокатализаторов [12, 13].

Спектр взаимодействий в механизмах связывания включает:

- Водородные связи между силанолами и карбонильными/гидроксильными группами лекарства.
- Электростатические взаимодействия (при pH ниже точки нулевого заряда кремнезёма, $\approx 2 - 3$, поверхность заряжена отрицательно).
- π - π стэкинг в случае ароматических молекул (доксорубицин, ципрофлоксацин).
- Ковалентное связывание через линкеры (например, дисульфидные мостики для глутатион-чувствительного высвобождения).

Таблица 1

Адсорбция лекарственных средств на MSN

Лекарственный препарат	Тип функционализации	Ёмкость адсорбции (мг/г)	Условия десорбции	Источник
Будесонид	$-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$	120 – 180	pH 6.8 / 24 ч	Yoncheva et al., 2015
Ибупрофен	Хитозановое покрытие	250	pH 5.5 (40 % за 8 ч)	Popat et al., 2013
Доксорубицин	FA-таргетинг + HBP	190	pH 5.0 (ускоренное)	Li et al., 2020
Пенициллин G	Биогенный SiO_2	85	Имитированная жидкость тела	Salavati-Niasari, 2013

Управляемое высвобождение и стимулируемые системы. Ключевое преимущество MSN перед традиционными адсорбентами – возможность создания систем с запускаемым (стимулируемым) высвобождением.

1. pH-чувствительные системы

Покрытие хитозаном (полисахарид с $\text{pK}_a \approx 6.5$) блокирует поры при нейтральном pH (кровь, нормальные ткани) и способствует быстрому высвобождению в кислой среде эндосом (pH 4.5–5.5). В работе Popat и соавт. (2013) показано, что высвобождение ибупрофена из хитозан-покрытых MSN при pH 5.5 достигало 40 % за 8 ч, тогда как при pH 7.4 – лишь 10 %. Аналогичный эффект продемонстрирован для будесонида, пероральная биодоступность которого повышается при использовании функционализированных MSN [3].

2. Ферментативно-чувствительные (глутатионовые) системы

Введение дисульфидных связей в каркас кремнезема (например, через бис-[3-(триэтоксисилил)пропил]дисульфид) позволяет достичь деградации носителя

в присутствии внутриклеточного глутатиона (1–10 мМ), тогда как во внеклеточной среде (микромольные уровни GSH) материал стабилен [4].

Каталитические и экологические применения. MSN выступают не только как адсорбенты, но и как носители каталитически активных наночастиц (Pd, Au, Fe₃O₄). В работе Khazaei и соавт. (2017) описана иммобилизация Pd на поверхности магнитных ядер Fe₃O₄ с оболочкой из SiO₂. Данный катализатор эффективно восстанавливает органические красители (метиленовый синий, метиловый оранжевый) и проводит гидроксилирование фенилбороновой кислоты с выходом до 96 % за 15 мин.

Также мезопористый кремнезем с иммобилизованными MnO₂ [15] используется для деградации азокрасителя Acid Orange 7 (эффективность 95 % за 2 ч). Следует подчеркнуть, что биогенный кремнезем (из диатомей или рисовой шелухи) проявил себя как отличный носитель для фото- и соно-катализаторов (ZnO/biosilica, CdS/диатомит), обеспечивая деградацию красителей под действием УФ или ультразвука [16, 17].

Биосовместимость и токсикологические аспекты. Большинство исследований *in vitro* и *in vivo* подтверждают низкую цитотоксичность MSN при концентрациях до 100–200 мкг/мл [6, 18]. Биodeградация происходит путём гидролиза силоксанового каркаса с образованием ортокремниевой кислоты Si(OH)₄, которая выводится почками. Однако при многократном введении высоких доз наблюдается кумуляция в печени и селезенке, что требует осторожности при разработке лекарственных форм.

Важно: введение функциональных групп (NH₂, SH, COOH) может изменять токсический профиль. Например, аминированные MSN проявляют гемолитическую активность из-за электростатического взаимодействия с отрицательными мембранами эритроцитов. Покрытие биосовместимыми полимерами (ПЭГ, хитозан) снижает этот эффект.

Мезопористые наночастицы кремнезема представляют собой уникальную платформу для адсорбции и доставки лекарств. В статье показано, что биогенный синтез из сельскохозяйственных отходов (рисовая шелуха, кукурузные кочерыжки) является экологичной и экономически выгодной альтернативой золь-гель методу. Адсорбционная ёмкость MSN достигает 250 мг/г по ибупрофену и может быть направленно изменена путём функционализации (аминогруппы, карбоксильные группы, тиолы). pH-Чувствительные покрытия (хитозан, полимерные мицеллы) обеспечивают контролируемое высвобождение лекарств в кислом микроокружении опухолей. MSN являются отличными носителями для катализаторов (Pd, Au, MnO₂), эффективных в реакциях восстановления красителей и окисления.

Дальнейшие исследования должны быть направлены на масштабирование «зелёных» синтезов, изучение хронической токсичности *in vivo* и создание мультифункциональных систем «адсорбция + катализ + диагностика» (тераностика).

Список литературы

1. Yi, Z. A New Insight into Growth Mechanism and Kinetics of Mesoporous Silica Nanoparticles by in Situ Small Angle X-ray Scattering / Z. Yi [et al.] // *Langmuir*. – 2015. – Vol. 31, № 30. – P. 8478-8487. DOI: 10.1021/acs.langmuir.5b01637.
2. Shafiei, N. Green Synthesis of Silica and Silicon Nanoparticles and Their Biomedical and Catalytic Applications / N. Shafiei, M. Nasrollahzadeh, S. Irvani // *Comments on Inorganic Chemistry*. – 2021. – Vol. 41, №. 6. – P. 317-372. DOI: 10.1080/02603594.2021.1904912.
3. Кузнецова, Т. Ф. Синтез и модификация упорядоченных кремнеземных материалов / Т. Ф. Кузнецова, Ю. Д. Саука // *Физикохимия поверхности и защита материалов*. – 2022. – Т. 58, № 2. – С. 155–162.
4. Kouznetsova, T. Template synthesis and gas adsorption properties of ordered mesoporous aluminosilicates / T. Kouznetsova, J. Sauka, A. Ivanets // *Applied Nanoscience*. – 2021. – V. 11, N 6. – P. 1903–1915.
5. Способ получения металлосиликата : пат. 22895 Респ. Беларусь / Т. Ф. Кузнецова, А. И. Иванец, Ю. Д. Савка. — Опубл. 28.02.2020.
6. Кузнецова, Т. Ф. Синтез и структурная характеристика нанопористых титаносиликатов методом физической адсорбции азота / Т. Ф. Кузнецова, А. И. Иванец, Ю. Д. Саука, Л. В. Кульбицкая // *Физикохимия поверхности и защита материалов*. – 2020. – Т. 56, № 1. – С. 33–40.
7. Кузнецова, Т.Ф. Разработка и поиск функциональностей новых органокремнеземных гибридных нанокомпозитов с включением биополимеров целлюлозы и хитозана в силоксановую основу при их преобразовании в монодисперсные частицы мезопористого кремнезема / Т. Ф. Кузнецова [и др.] // *Труды Кольского научного центра РАН. Химия и материаловедение*. – 2022. – Т. 13, № 3. – С. 210–215. DOI:10.37614/2307-5252.2022.3.6.029.
8. Soltani, R.D.C. Ultrasonically induced ZnO-biosilica nanocomposite for degradation of a textile dye / R.D.C. Soltani [et al.] // *Ultrasonics Sonochemistry*. – 2016. – Vol. 32. – P. 331-337. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.04.012.
9. Арбенин А. Ю. Синтез и физико-химические свойства наночастиц железа в мезопористых кремнеземных матрицах : автореф. дис. ... канд. хим. наук. СПб., 2013. 23 с.
10. Knezevic N. Functionalized mesoporous silica nanoparticles for stimuli-responsive and targeted drug delivery : dissertation ... PhD. Ames : Iowa State University, 2009. 3396980.
11. Lin Y.-S. Critical Considerations in Development of Mesoporous Silica Nanoparticles for Biological Applications : dissertation ... PhD. Minneapolis : University of Minnesota, 2012. 3512568.
12. Piela, A. Biogenic synthesis of silica nanoparticles from corn cobs husks. Dependence of the productivity on the method of raw material processing / A. Piela [et al.] // *Bioorganic Chemistry*. – 2020. – Vol. 99. 103773. DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.103773.
13. Show, S. Bacterial (BKH1) assisted silica nanoparticles from silica rich substrates: a facile and green approach for biotechnological applications / S. Show [et al.] // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2015. – Vol. 126. – P. 245-250. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.12.020.
14. Song, G. Green synthesis of mesoporous silica from rice husk ash for efficient photocatalytic degradation of methylene blue / G. Song [et al.] // *Journal of Porous Materials*. – 2021. – Vol. 28, № 4. – P. 1107-1116. DOI: 10.1007/s10934-021-01073-z.
15. Khataee, A. Synthesis and immobilization of MnO₂ nanoparticles on bio-silica for the efficient degradation of an azo dye in the aqueous solution / A. Khataee [et al.] // *Current Nanoscience*. – 2015. – Vol. 11, № 1. – P. 129-134. DOI: 10.2174/1573413710666140917211140.
16. Gimenez, R. Mesoporous metal-oxide-semiconductor capacitors detect intra-porous fluid changes / R. Gimenez [et al.] // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2017. – Vol. 524. – P. 66-70. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2017.04.035.
17. Durand J.-O. Мезопористые наночастицы кремнезема для одно- и двухфотонной фотодинамической терапии // *Реферативный журнал ВИНТИ. Сер. Химия*. – 2015. – № 12.
18. Gorinova С., Tzankov В., Tzankova V., Yoncheva К. Новый взгляд на полимерные мицеллы и наночастицы мезопористого диоксида кремния, а также на их биосовместимость // *Реферативный журнал ВИНТИ. Сер. Биология*. – 2017. – № 1.

Научное издание

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ

Сборник материалов Международной научной конференции,
посвященной 80-летию со дня рождения профессора Е. В. Барковского

(Минск, 22 мая 2026 года)

Верстка: А. В. Янушкевич

Издание разработано с помощью программного обеспечения

Microsoft Office Word, Adobe Acrobat Pro.

Подписано к использованию 19.05.2026.

Объем издания: 7,37 Мб.

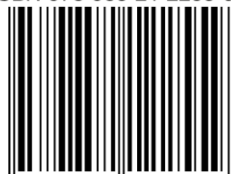
Издатель: учреждение образования

«Белорусский государственный медицинский университет».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 24.11.2023.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск

ISBN 978-985-21-2255-9



9 789852 122559