



УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

КАЗАНСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА

СЕРИЯ
ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

220-летие КФУ

Том 166

Книга 4

2024

Ученые записки Казанского университета.

Серия Естественные науки

2024

Т. 166, кн. 4

рецензируемый научный журнал

УЧЕННЫЕ ЗАПИСКИ КАЗАНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ОСНОВАНЫ В 1834 ГОДУ

Редакционная коллегия

Главный редактор

Д.А. Таюрский – д-р физ.-мат. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Члены редколлегии

Г.К. Зиятдинова (зам. гл. ред.) – д-р хим. наук, доц., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

А.Д. Калмыкова (секретарь) – Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Н.И. Акберова – канд. биол. наук, ст. науч. сотр., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

И.С. Антипин – д-р хим. наук, проф., чл.-корр. РАН, Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

А.С. Борисов – д-р геол.-минер. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Г.К. Будников – д-р хим. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

А.С. Бяков – д-р геол.-минер. наук, доц., Северо-Восточный комплексный научно-исследовательский институт

им. Н.А. Шило ДВО РАН, г. Магадан, Россия

А.А. Варнек – канд. хим. наук, д-р теоретической химии, проф., Страсбургский университет, г. Страсбург, Франция

О.П. Ермолаев – д-р геогр. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Р.И. Жданов – д-р хим. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

И.Б. Ившина – д-р биол. наук, акад. РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия

С.В. Костров – д-р биол. наук, проф., чл.-корр. РАН, Институт молекулярной генетики РАН, г. Москва, Россия

Я. Лабуда – д-р наук, проф., Словацкий технологический университет в Братиславе, г. Братислава, Словацкая Республика

М. Либонати – д-р мед. наук, почетный проф., Университет Вероны, г. Верона, Италия

В.В. Малахов – д-р биол. наук, акад. РАН, Московский государственный университет, г. Москва, Россия

А.И. Мелентьев – д-р биол. наук, проф., Институт биологии УНЦ РАН, г. Уфа, Россия

Д.К. Нургалиев – д-р геол.-минер. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

А.А. Паутов – д-р биол. наук, проф., Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

Ю.П. Переведенцев – д-р геогр. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Р.М. Сабиров – канд. биол. наук, доц., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

С.Ю. Селивановская – д-р биол. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

В.В. Силантьев – д-р геол.-минер. доцент, Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

О.Г. Синяшин – д-р хим. наук, акад. РАН, Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ

РАН, г. Казань, Россия

Н.Ю. Степанова – д-р биол. наук, проф., Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Р.Н. Хазипов – д-р мед. наук, Средиземноморский институт нейробиологии, г. Марсель, Франция; Казанский федеральный

университет, г. Казань, Россия

Ф. Хеллер – д-р наук, почетный проф., Швейцарская высшая техническая школа Цюриха, г. Цюрих, Швейцария

Редактор английского текста А.О. Кармазина

Учредитель и издатель: ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций

Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-41874 от 27 августа 2010 г.

Журнал реферируется/индексируется в Scopus, DOAJ, EBSCO, eLIBRARY.RU, Emerging Sources Citation Index, Google Scholar,

CAB Abstracts and Global Health, CAS Source Index, GeoRef, Ulrich's Periodicals Directory, WorldCat, КиберЛенинка

Подписной индекс 19422. Цена свободная

Адрес издателя и редакции «Ученые записки Казанского университета»:

420008, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

Телефон: (843) 233-73-01; e-mail: uz.ku@kpfu.ru; сайт: <https://uzakuesc.elpub.ru>

Дата выхода в свет 20.11.2024. Формат 70×108/16.

Бумага офсетная. Усл. печ. л. 15,64.

Уч.-изд. л. 13,66. Тираж 300 экз. Заказ 3/11

Отпечатано в типографии Издательства

Казанского университета

420008, Российская Федерация, Республика Татарстан,

Казань, ул. проф. Нужина, д. 1/37

Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta.

Seriya Estestvennye Nauki

[Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series]

Peer-Reviewed Scientific Journal

2024

Vol. 166,

no. 4

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA FOUNDED IN 1834

Editorial Board

Editor-in-Chief

Dmitrii A. Tayurskii – Doctor of Physics and Mathematics, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Members of Editorial Board

Guzel K. Ziyatdinova (Deputy Editor-in-Chief) – Doctor of Chemistry, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Alena D. Kalmykova (Secretary) – Kazan Federal University, Kazan, Russia

Natalya I. Akberova – PhD in Biology, Associate Professor, Senior Research Fellow, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Igor S. Antipin – Doctor of Chemistry, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Aleksander S. Biakov – Doctor of Geology and Mineralogy, Associate Professor, North-East Interdisciplinary Scientific Research Institute
n. a. N.A. Shilo, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Magadan, Russia

Anatolij S. Borisov – Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Herman C. Budnikov – Doctor of Chemistry, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Oleg P. Ermolaev – Doctor of Geography, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Renad I. Zhdanov – Doctor of Chemistry, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Friedrich Heller – Doctor of Science, Professor Emeritus, Swiss Federal Institute of Technology in Zürich, Zürich, Switzerland

Irina B. Ivshina – Doctor of Biology, Member of Russian Academy of Sciences, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of
Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

Roustem N. Khazipov – Doctor of Medicine, Mediterranean Institute of Neurobiology, Marseille, France; Kazan Federal University, Kazan, Russia

Sergey V. Kostrov – Doctor of Biology, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Institute of Molecular Genetics of Russian
Academy of Sciences, Moscow, Russia

Jan Labuda – Doctor of Science, Professor, Slovak University of Technology in Bratislava, Bratislava, Slovak Republic

Massimo Libonati – Doctor of Medicine, Emeritus Professor, Verona University, Verona, Italy

Vladimir V. Malakhov – Doctor of Biology, Member of Russian Academy of Sciences, Moscow State University, Moscow, Russia

Aleksandr I. Melentiev – Doctor of Biology, Professor, Institute of Biology, Ufa Research Center of Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

Danis K. Nurgaliev – Doctor of Geology and Mineralogy, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Anatolii A. Pautov – Doctor of Biology, Professor, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Jurij P. Perevedentsev – Doctor of Geography, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Rushan M. Sabirov – PhD in Biology, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Svetlana Ju. Selivanovskaya – Doctor of Biology, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Vladimir V. Silantev – Doctor of Geology and Mineralogy, Associate Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Oleg G. Sinyashin – Doctor of Chemistry, Member of Russian Academy of Sciences, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan
Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

Nadezhda Yu. Stepanova – Doctor of Biology, Professor, Kazan Federal University, Kazan, Russia

Alexandre Varnek – PhD in Chemistry, Professor, Habilitation in Theoretical Chemistry, University of Strasbourg, Strasbourg, France

English Editor: *A.O. Karmazina*

Founder and Publisher: Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Kazan (Volga Region) Federal University"

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technologies and Mass Media

Registration certificate PI No. FS77-41874 dated August 27, 2010

The journal is abstracted and/or indexed in Scopus, DOAJ, EBSCO, eLIBRARY.RU, Emerging Sources Citation Index, Google Scholar,

CAB Abstracts and Global Health, CAS Source Index, GeoRef, Cyberleninka, Ulrich's Periodicals Directory, WorldCat

Subscription index: 19422. Free price

Contacts: Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta, ul. Kremlevskaya 18, Kazan, Republic of Tatarstan, 420008 Russia

Phone: (843) 233-73-01; e-mail: uz.ku@kpfu.ru; website: <https://uzakuesc.elpub.ru>

Date of publication: November 20, 2024. Page size: 70×108/16.

Offset printing. Conventional printing sheet: 15.64. Publisher's

signature: 13.66. Circulation: 300 copies. Order: 3/11

Printed in KFU Publishing House

ul. Prof. Nuzhina 1/37, Kazan,
Republic of Tatarstan, 420008 Russia

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие.....	561
<i>Хабибрахманова А.М., Фаизова Р.Г., Герасимова Д.П., Тризна Е.Ю., Лодочникова О.А., Каюмов А.Р., Латыпова Л.З., Курбангалиева А.Р.</i> Оптически активные сульфоксиды на основе 2(5 <i>H</i>)-фуранона и монотерпеновых спиртов: синтез, строение и антибактериальная активность.....	563
<i>Амиров Р.Р., Андрианова К.А., Никитин В.С., Антипин И.С., Амирова Л.М.</i> Порошковые эпокси-бензоксазиновые связующие для получения армированных композитов с градиентом матрицы.....	590
<i>Пугачев М.В., Штырлин Н.В., Агафонова М.Н., Васильева О.С., Фафанова Е.М., Штырлин Ю.Г.</i> Синтез и анальгетическая активность пролекарственных бифармакофорных производных на основе пиридоксина и кеторолака.....	608
<i>Маннанов И.И., Варфоломеев М.А., Ганиева Г.Р., Гимаева А.Р., Гиниятуллин Р.Р.</i> Применение машинного обучения в задачах выбора объектов воздействия и проектирования кислотной обработки.....	623
<i>Гайнуллин Ш.Э., Казакова П.Ю., Павельев Р.С., Тавочкин В.М., Варфоломеев М.А.</i> Промоторы образования гидрата углекислого газа на основе производных лимонной и аминокислот.....	640
<i>Бурцева А.В., Смирнова Э.В., Абрамов С.Н., Тихомирова М.В., Афанасьева З.А., Абрамова З.И.</i> Особенности аутофагии в мононуклеарных клетках пациентов с аутоиммунным тиреоидитом.....	658
<i>Муллагулова А.И., Шаймарданова А.А., Мухамедицина Я.О., Соловьева В.В., Ибрахим А., Ризванов А.А.</i> Анализ биораспределения аденоассоциированных вирусов 9 и rh.10 серотипов, кодирующих ген арилсульфатазы А, после предварительной иммунизации свиней вирусом 9 серотипа.....	683
<i>Зарипов Ш.Х., Тарасова Д.А., Кожевникова М.В., Костерина Е.А.</i> Математическая модель для расчета динамики запасенного углерода в лесном сообществе.....	704
<i>Переведенцев Ю.П., Мирсаева Н.А.</i> Метеорология и климатология в Казанском университете: к 190-летию гидрометеорологической службы России.....	724

CONTENTS

Preface.....	561
<i>Khabibrakhmanova A.M., Faizova R.G., Gerasimova D.P., Trizna E.Y., Lodochnikova O.A., Kayumov A.R., Latypova L.Z., Kurbangalieva A.R.</i> Optically active sulfoxides from 2(5 <i>H</i>)-furanone and monoterpene alcohols: synthesis, structure, and antibacterial activity	563
<i>Amirov R.R., Andrianova K.A., Nikitin V.S., Antipin I.S., Amirova L.M.</i> Epoxy-benzoxazine powder binders for producing reinforced composites with a matrix gradient	590
<i>Pugachev M.V., Shtyrlin N.V., Agafonova M.N., Vasileva O.S., Fafanova E.M., Shtyrlin Y.G.</i> Synthesis and analgesic properties of prodrug bipharmacophore compounds based on pyridoxine and ketorolac	608
<i>Mannanov I.I., Varfolomeev M.A., Ganieva G.R., Gimaeva A.R., Giniyatullin R.R.</i> Application of machine learning for target selection and acid treatment design	623
<i>Gainullin S.E., Kazakova P.Yu., Pavelyev R.S., Tavochkin V.M., Varfolomeev M.A.</i> Promoters of carbon dioxide hydrate formation derived from citric and amino acids.....	640
<i>Burtseva A.V., Smirnova E.V., Abramov S.N., Tikhomirova M.V., Afanasyeva Z.A., Abramova Z.I.</i> Autophagy in mononuclear cells from patients with autoimmune thyroiditis	658
<i>Mullagulova A.I., Shaimardanova A.A., Mukhamedshina Ya.O., Solovyeva V.V., Ibrahim A., Rizvanov A.A.</i> Biodistribution analysis of adeno-associated viral vectors of serotypes 9 and rh.10 encoding arylsulfatase A following prior immunization with serotype 9 in pigs	683
<i>Zaripov Sh.Kh., Tarasova D.A., Kozhevnikova M.V., Kosterina E.A.</i> A mathematical model for estimating carbon storage dynamics of forest communities.....	704
<i>Perevedentsev Yu.P., Mirsaeva N.A.</i> Meteorology and climatology at Kazan University: Celebrating the 190th anniversary of Russia's Hydrometeorological Service.....	724

ПРЕДИСЛОВИЕ

Казанский университет является одним из старейших высших учебных заведений в России и в этом году празднует свое 220-летие. Со дня основания университета в его стенах активно развиваются исследования в области естественных наук, которые сформировались в научные школы, получившие известность не только в стране, но и в мире.

Так, мировую известность университету принесла Казанская химическая школа, ярчайшими представителями которой являются Н.Н. Зинин, К. Клаус, А.М. Бутлеров, В.В. Марковников, Е.Е. Вагнер, Ф.М. Флавицкий, А.М. Зайцев, А.Н. Реформатский, С.Н. Реформатский, А.А. Альбицкий, А.Е. Арбузов, Д.М. Марко, Б.А. Арбузов. Знаковыми открытиями стали получение анилина из нитробензола Н.Н. Зининым, открытие К. Клаусом нового химического элемента рутения, сформулированная А.М. Бутлеровым теория химического строения органических соединений.

Развитие биологии в Казанском университете связано с именами К. Фукса, Н.Ф. Леваковского (основатель Казанской школы экологической физиологии растений), О.О. Баума, С.М. Смирнова, Ю.К. Шелля, П.Н. Крылова, С.И. Коржинского, А.Я. Гордягина, М.В. Маркова, В.И. Баранова (основатель Казанской палеоботанической школы) и А.М. Алексеева. П.Н. Крылов, С.И. Коржинский и А.Я. Гордягин стали основателями Казанской геоботанической школы. Среди выдающихся зоологов, работавших в университете, необходимо отметить Э.А. Эверсмана, А.О. Ковалевского, М.Н. Богданова, Н.П. Вагнера, М.М. Усова, Э.К. Мейера, М.Д. Рузского, А.А. Остроумова, Н.А. Ливанова, В.М. Аристовского, И.В. Тюрина. Основоположником Казанской микологической школы по праву считается Н.В. Сорокин. Исследования в области биохимии в университете связаны с появлением первой в Европе кафедры под руководством А.Я. Данилевского и последующей плодотворной работой В.А. Энгельгардта, открывшего явление окислительного фосфорилирования, и А.А. Баева, изучавшего нуклеиновые кислоты и геном человека. Первые исследования по генетике в университете проводил В.Н. Слепков. Значимый вклад в мировую науку внесла Казанская физиологическая школа, представителями которой являются В.Ф. Овсянников, Н.О. Ковалевский, Н.А. Миславский, В.М. Бехтерев, В.В. Парин, а основателем Казанской электрофизиологической школы считается А.Ф. Самойлов.

Исследования в области метеорологии и климатологии стали развиваться под руководством Ф.К. Броннера, А.Я. Купфера, Н.И. Лобачевского, а затем Э.А. Кнорра, А.С. Савельева, И.А. Больцани, И.Н. Смирнова. Основателем первой в России кафедры охраны природы, а затем и экологического факультета является В.А. Попов.

Геологические исследования также проводятся со дня основания университета. Первые работы принадлежат А.Я. Купферу, П.И. Вагнеру, Ф.Ф. Розену и Г.В. Вульф. У истоков Казанской геологической школы стоят Н.А. Головкинский и его преемник А.А. Штукенберг. Весомый вклад в развитие геологии в Казанском университете внесли В.И. Тимьянский, К.И. Броннер, А.М. Зайцев, А.В. Лаврский, Б.К. Поленов, Б.П. Кротов, М.Э. Ноинский, А.В. Нечаев, П.И. Кротов, М.Э. Янишевский.

В настоящее время в университете продолжают активные исследования в рассмотренных областях естественно-научного знания. При этом наблюдается выраженный тренд на междисциплинарность, что способствует появлению новых направлений исследований как фундаментального, так и практикоориентированного характера.

Достижения ученых Казанского университета публикуются в ведущих научных изданиях страны и мира, в том числе в журнале «Ученые записки Казанского университета», учрежденного в 1834 г. по инициативе ректора Н.И. Лобачевского и отмечающего в этом году 190-летний юбилей. За всю историю существования журнала в нем были опубликованы работы Н.И. Лобачевского, Н.Н. Зинина, К.К. Клауса, И.Н. Березина, Э.А. Эверсмана, А.М. Бутлерова, В.В. Марковникова, А.М. Зайцева, Н.Ф. Катанова, В.М. Бехтерева, Н.А. Ливанова, А.Е. Арбузова, Б.А. Арбузова и других выдающихся ученых.

В этом номере журнала представлены статьи по актуальным направлениям исследований, проводимых в Казанском университете в настоящее время в области естественных наук.

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 547.72+547.279.52

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.563-589

ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СУЛЬФОКСИДЫ НА ОСНОВЕ 2(5*H*)-ФУРАНОНА И МОНОТЕРПЕНОВЫХ СПИРТОВ: СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ

А.М. Хабибрахманова¹, Р.Г. Фаизова¹, Д.П. Герасимова², Е.Ю. Тризна¹,
О.А. Лодочникова^{1,2}, А.Р. Каюмов¹, Л.З. Латыпова¹, А.Р. Курбангалиева¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

²Институт органической и физической химии имени А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский
научный центр РАН», г. Казань, 420088, Россия

Аннотация

Синтезирована серия оптически активных 5(*S*)-(1-борнилокси)- и 5(*S*)-(1-ментилокси)-2(5*H*)-фуранонов с арилтиогруппой у атома углерода С(4) γ-лактонного кольца и изучены реакции их окисления различными реагентами. При действии *m*-хлорнадбензойной кислоты (*m*-CPBA) или пероксида водорода в уксусной кислоте на арилтиоэфиры получены новые сульфоксиды 2(5*H*)-фуранона в виде смесей двух диастереомеров. Методами дробной перекристаллизации и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) выделены образцы индивидуальных стереоизомеров сульфоксидов, которые охарактеризованы методами ИК- и ЯМР-спектроскопии. Молекулярная структура восьми стереоизомерно чистых соединений подтверждена с помощью рентгеноструктурного анализа (РСА). Оценена антибактериальная активность новых сульфоксидов ряда 2(5*H*)-фуранона в отношении клеток *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Выявлен ряд соединений, которые обладают способностью подавлять рост и образование биопленки *S. aureus*.

Ключевые слова: 2(5*H*)-фураноны, лактоны, сульфоксиды, окисление, стереохимия, оптическая активность, антибактериальная активность, рентгеноструктурный анализ.

Введение

Сульфоксиды составляют важный класс сераорганических соединений. Данные вещества, благодаря проявляемой биологической и химической активности, высокой оптической стабильности, эффективности как носителей хиральной информации, доступности в обеих энантиомерных формах, играют значимую роль в медицинской и фармакологической химии, материаловедении, органическом синтезе и т. д. [1–7]. Препараты, содержащие сульфинильную группу, являются эффективными средствами в профилактике различных патологических состояний человека, таких как рак, сахарный диабет, хроническое воспаление, болезни Альцгеймера и Паркинсона [1]. Стереогенный сульфинильный атом серы присутствует также в составе ряда природных биологически значимых молекул [1–4, 7]. Например, сульфоксиды способствуют проявлению уникальных свойств (антиоксидантных, противомикробных) у растений рода *Allium*, в частности у чеснока

и лука, которые широко используются в народной медицине [2]. Сульфорафан, содержащийся в брокколи и брюссельской капусте, обладает антимикробными и противоопухолевыми свойствами [1, 2]. Другой природный сульфоксид, бициклический октапептид α -аманитин, грибной токсин, также может использоваться в лечении онкологических заболеваний [2]. Среди важных препаратов на основе сульфоксидов следует выделить модафинил, сулиндак, омепразол, фулвестрант, фипронил и т. д. [1–3]. Фулвестрант используется против метастатического рака молочной железы, а модафинил – для лечения гиперсомнии, обусловленной нарколепсией. Сулиндак является пролекарством и с помощью ферментов печени биотрансформируется до соответствующего активного сульфида, проявляющего противовоспалительное и обезболивающее действие. Омепразол или его (*S*)-изомер – эзомепразол являются ингибиторами протонной помпы, за счет чего блокируют секрецию соляной кислоты в желудке. Данные препараты широко применяются в лечении заболеваний, связанных с гиперсекрецией желудочного сока. Фипронил обладает инсектицидными свойствами, поэтому часто используется в сельском хозяйстве, ветеринарии и бытовой дезинсекции [1–3].

Привлекательными объектами исследований в данной области также являются сульфоксиды на основе гетероциклов ряда 2(5*H*)-фуранона, в том числе оптически активные. 2(5*H*)-Фураноны представляют собой органические соединения, относящиеся к группе α,β -ненасыщенных лактонов, которые играют важную роль в органической и медицинской химии. Известно, что вещества, несущие в своей структуре 2(5*H*)-фураноновый скелет, проявляют широкий спектр биологической активности, включая противоопухолевую, антимикробную, противогрибковую, противовирусную, противовоспалительную и антиоксидантную [8–12]. Сочетание двух биологически активных фрагментов – сульфинильной группы и γ -лактонного цикла – позволит расширить круг соединений, представляющих интерес в плане поиска и создания новых лекарственных средств и веществ с практически полезными свойствами.

Ранее нами были предложены методы получения различных сернистых производных 3,4-дигалоген-2(5*H*)-фуранонов [13–17] и продуктов их окисления [15–18], а также изучена их биологическая активность [16, 19–21]. Среди синтезированных соединений обнаружены производные фуранона с выраженными антимикробными, противогрибковыми и противовоспалительными свойствами, а также гетероциклы, которые в комбинации с антибиотиками аминокликозидного ряда и противогрибковыми средствами проявили эффект синергизма в отношении микроорганизмов в составе моно- и смешанных культур. Целью настоящего исследования является синтез новых оптически активных сульфоксидов на основе 2(5*H*)-фуранонов, тиофенолов и монотерпеновых спиртов, а также скрининг способности полученных сульфинилсодержащих продуктов подавлять рост бактерий и образование биопленок *E. coli* и *S. aureus*.

1. Результаты и их обсуждение

1.1. Синтез сульфоксидов 2(5*H*)-фуранона. Исходные оптически активные тиоэфиры 2(5*H*)-фуранонового ряда 1–12 были получены из 5(*S*)-(*l*-борнилокси)- и 5(*S*)-(*l*-ментилокси)-3,4-дигалоген-2(5*H*)-фуранонов и ароматических тиолов в условиях основного катализа по разработанной ранее методике [16].

С целью превращения тиоэфиров **1–12** в соответствующие хиральные сульфоксиды было опробовано действие нескольких окислительных систем. Проведенная ранее оценка эффективности использования различных окислителей (H_2O_2 , *m*-хлорнадбензойная кислота (*m*-CPBA), Оксон, NaIO_4 , Bu^tOOH) в отношении арилтиоэфиров **2(5*H*)**-фуранона показала, что в случае 4-арилсульфанильных производных наилучшие результаты были достигнуты с помощью *m*-CPBA [17]. Поскольку для получения сульфоксидов в каждом конкретном случае необходимо тщательно подбирать условия проведения реакций окисления, в данной работе оценено влияние действия пероксида водорода, *m*-CPBA и Оксона на выход целевых сульфоксидов **13–24** на примере хирального тиоэфира **1**.

Реакцию окисления тиоэфира **1** 33%-ным раствором H_2O_2 (1.7 экв.) проводили в уксусной кислоте при перемешивании реакционной смеси при комнатной температуре в течение 6 сут (схема 1). По данным метода спектроскопии ЯМР ^1H , реакционная смесь содержала тиоэфир **1**, сульфоксид **13** (в виде смеси двух диастереомеров) и сульфон **25** в соотношении 1 : 14 : 3. Увеличение времени синтеза приводило к повышению доли сульфона **25** в реакционной смеси и уменьшению выхода целевого сульфоксида **13**.

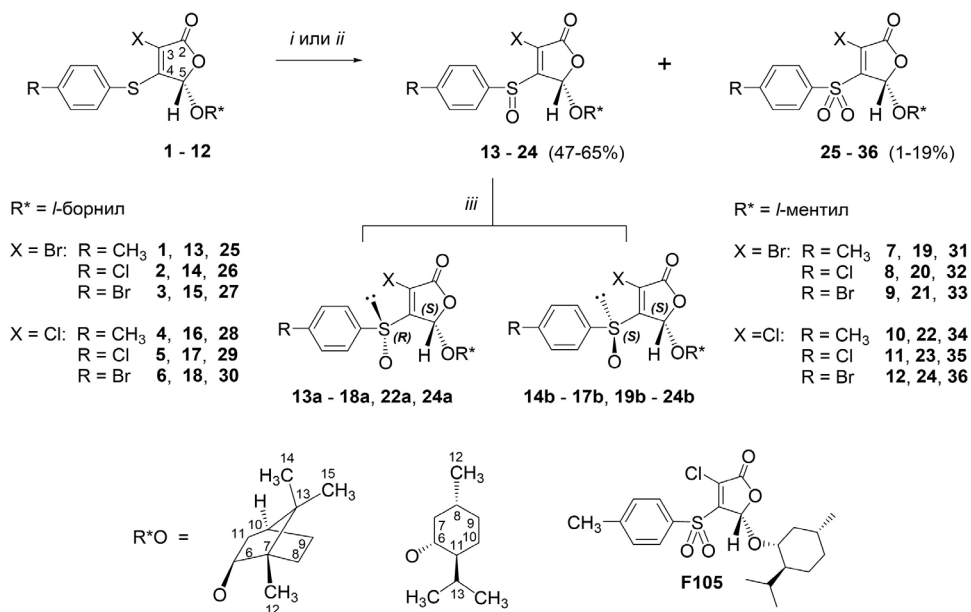


Схема 1. Синтез оптически активных сульфоксидов. Реагенты и условия: *i*. H_2O_2 (1.7 экв.), AcOH , $t_{\text{комн}}$, 6 сут; *ii*. *m*-CPBA (1.2 экв.), CH_2Cl_2 , -15°C , 3 ч; *iii*. разделение диастереомеров

При действии *m*-CPBA (1.2 экв.) на тиоэфир **1** в CH_2Cl_2 при температуре -15°C в течение 3 ч была получена смесь исходного фуранона **1**, сульфоксида **13** и сульфона **25** в соотношении 2 : 5 : 1. В эксперименте с использованием Оксона наблюдалась низкая растворимость тиоэфира **1** в смеси ацетон–вода. Отметим, что реакции окисления тиоэфиров Оксоном проводят в водно-органических средах [22]. Анализ протонного спектра, зарегистрированного после 2 сут перемешивания, показал, что реакционная смесь содержала главным образом исходный фуранон **1** и лишь следовые количества продуктов окисления **13** и **25**.

(соотношение тиоэфир **1** / сульфоксид **13** / сульфон **25** равно 33 : 5 : 1). Проблема низкой растворимости органических сульфидов в водно-органических средах отмечалась и ранее [22].

Аналогичные условия реакции окисления были применены в отношении тиоэфиров **2**, **3**, **5**, **6**, **10–12** (система $\text{H}_2\text{O}_2/\text{AcOH}$) и **4**, **7–9** (*m*-CPBA), что позволило получить новые сульфоксиды **14–24** в качестве преобладающих продуктов (схема 1). Во всех реакциях наблюдались неполная конверсия исходных тиоэфиров **2–12** и образование продуктов переокисления – соответствующих сульфонов **26–36**. В литературе описаны примеры органических сульфидов, при окислении которых независимо от используемого метода всегда образуются смеси сульфоксида и сульфона [17, 23, 24].

Ввиду появления нового хирального центра – сульфинильного атома серы – сульфоксиды **13–24** образовались в виде смесей двух диастереомеров **a** + **b** (схема 1). В данной работе обозначение «**a**» дано диастереомеру сульфоксида с (*R*)-конфигурацией атома серы, а обозначение «**b**» – с (*S*)-конфигурацией, установленной по данным рентгеноструктурного анализа (РСА), которые обсуждаются ниже. Об образовании диастереомеров судили по удвоению большинства сигналов в спектрах ЯМР ^1H и $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ как сырых реакционных смесей, так и выделенных сульфоксидов **13–24**. Соотношение диастереомеров оценено по значениям интегральных интенсивностей двух синглетов метиновых протонов у атома углерода C(5) в области δ 6.0–6.2 м.д. Анализ спектров ЯМР ^1H реакционных смесей показал, что соотношения диастереомерных сульфоксидов **a** : **b** заметно различаются (в экспериментальной части приведены соответствующие значения для каждого из сульфоксидов).

Продукты реакций окисления разделены методом колоночной хроматографии на силикагеле. Целевые сульфоксиды **13–24** выделены в виде смесей двух диастереомеров с выходами 47–65 %. Последующая дробная перекристаллизация из гексана позволила получить образцы индивидуальных стереоизомеров **13a–18a**, **22a**, **24a**, **14b–17b** и **19b–24b** в виде бесцветных твердых веществ (схема 1), которые были охарактеризованы спектральными методами и вовлечены в исследование их антибактериальной активности.

В случае соединений **16** и **17** для разделения обоих диастереомерных сульфоксидов дополнительно использован метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с хиральной колонкой “YMC CHIRAL Amylose-SA”. Таким способом выделены индивидуальные образцы целевых сульфоксидов **16a** и **16b**, **17a** и **17b** с временами удерживания 11.0 и 12.0, 12.0 и 12.6 мин соответственно.

Строение новых сульфоксидов фуранонового ряда **13–24** доказано методами ИК- и ЯМР-спектроскопии, состав подтвержден данными масс-спектрометрии высокого разрешения. В ИК спектрах сульфоксидов присутствуют полосы поглощения валентных колебаний C–H связей (2800–3030 cm^{-1}), карбонильной группы (1772–1803 cm^{-1}), связей C=C лактонного цикла (1603–1646 cm^{-1}) и ароматического кольца (1462–1600 cm^{-1}), а также появляется узкий интенсивный сигнал в области 1009–1024 cm^{-1} , присущий валентным колебаниям сульфинильной группы.

Анализ одномерных и двумерных ($^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY, $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HSQC) спектров позволил провести полное соотнесение наблюдаемых сигналов атомов углерода

с сигналами соответствующих атомов водорода в спектрах ЯМР сульфоксидов **13–24**. На рис. 1 в качестве примера приведены спектры ЯМР ^1H индивидуальных диастереомеров сульфоксида **24a** и **24b**.

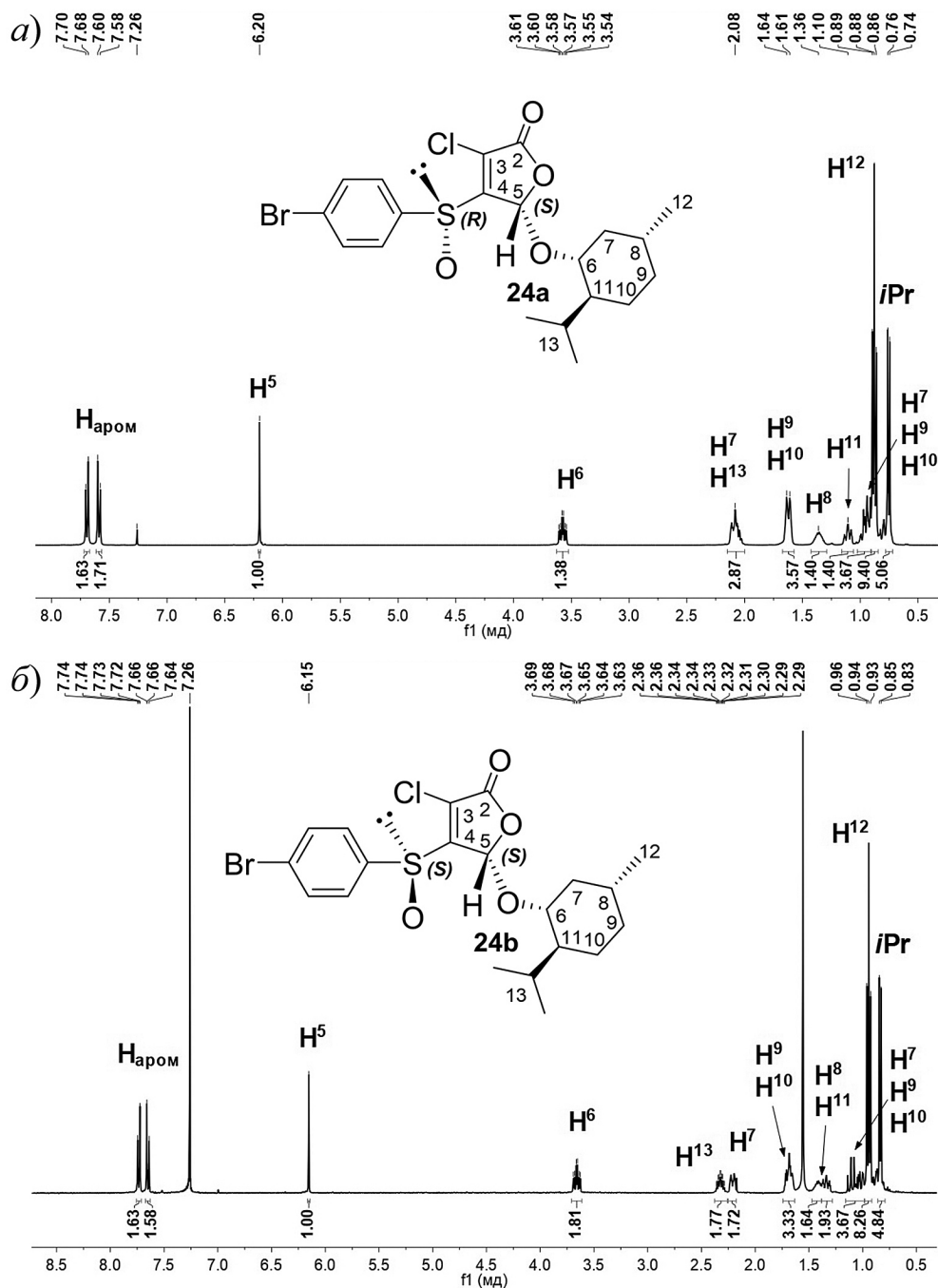


Рис. 1. Спектры ЯМР ^1H (CDCl_3 , 400 МГц) изомерных сульфоксидов **24a** (a) и **24b** (б)

В спектрах ЯМР ^1H сульфоксидов **13–24** присутствуют синглет метинового протона у атома углерода C(5) при δ_{H} 6.01–6.20 м.д. и АА'ВВ'-мультиплет в обла-

сти δ_{H} 7.3–7.8 м.д., соответствующий протонам ароматического кольца. Фрагменты терпеновых спиртов представлены в спектрах сигналами протонов трех метильных групп в области сильных полей (δ_{H} 0.7–1.0 м.д.), сигналом метинового протона у атома углерода C(6) в области δ_{H} 3.5–4.1 м.д., а также сложными мультиплетами от остальных протонов в области δ_{H} 0.6–2.4 м.д. Кроме того, в спектрах ЯМР ^1H соединений **13a**, **16a**, **16b**, **19b** и **22a** наряду с указанными сигналами присутствует синглет в области δ_{H} 2.43–2.46 м.д., относящийся к протонам метильной группы *n*-толилтиозаместителя. Следует отметить, что в спектрах ЯМР ^1H сульфоксидов на основе 5-ментилоксифуранона **19–24** химические сдвиги метинового протона у атома углерода C(5) двух разных диастереомеров близки ($\Delta\delta_{\text{H}}$ 0.04–0.09 м.д.), тогда как в случае борнильных аналогов **13–18** разница в химических сдвигах чуть больше ($\Delta\delta_{\text{H}}$ 0.05–0.15 м.д.).

Методом РСА охарактеризована молекулярная структура сульфоксидов **13a–16a**, **20b**, **21b**, **23b** и **24b** (рис. 2). Структура соединений расшифрована в моноклинной $P2_1$ (**13a**, **14a** и **16a**) и орторомбической $P2_12_12_1$ (**15a**, **20b**, **21b**, **23b** и **24b**) хиральных пространственных группах. Пятичленный цикл во всех молекулах плоский. Асимметрическая часть ячейки кристаллов исследованных соединений представлена единственной молекулой ($Z' = 1$). Во всех кристаллах данные РСА подтверждают природную конфигурацию борнильного и ментильного остова, заданную (*S*)-конфигурацию атома C(5) лактонного цикла, а также конфигурацию сулфинильного атома серы: в молекулах **13a–16a** – (*R*) (диастереомер **a**), в молекулах **20b**, **21b**, **23b** и **24b** – (*S*) (диастереомер **b**).

Сопоставление данных спектроскопии ЯМР ^1H , полученных как для сырых реакционных смесей, так и для выделенных чистых диастереомеров, а также данных РСА для индивидуальных стереоизомеров **13a–16a**, **20b**, **21b**, **23b** и **24b** позволяет заключить, что в случае 5-борнилоксипроизводных фуранона **13–16** в реакциях наблюдается небольшое преобладание (*5S,SR*)-диастереомера сульфоксида – диастереомера **a**, для которого характерен более слабополюсный сигнал метинового протона у атома углерода C(5). Для ментилоксипроизводных фуранона **20**, **21**, **23** и **24** в преобладающем количестве образуется (*5S,SS*)-диастереомер сульфоксида – диастереомер **b** с более сильнополюсным сигналом метинового протона у атома углерода C(5). Несмотря на то, что для сульфоксидов **17–19** и **22** отсутствуют данные РСА, можно предположить, что и для этих соединений будет сохраняться указанная тенденция.

1.2. Скрининг сульфоксидов на антибактериальную активность. Для большинства синтезированных сулфинильных производных 2(5*H*)-фуранона был проведен скрининг способности подавлять рост бактерий и образование бактериальных биопленок *E. coli* и *S. aureus*. В качестве препаратов сравнения были выбраны известный биоцид – бензалкония хлорид и сульфон на основе 5-ментилокси-2(5*H*)-фуранона с условным обозначением **F105** (схема 1), для которого ранее была показана способность подавлять образование биопленок золотистым стафилококком (*S. aureus*) [19].

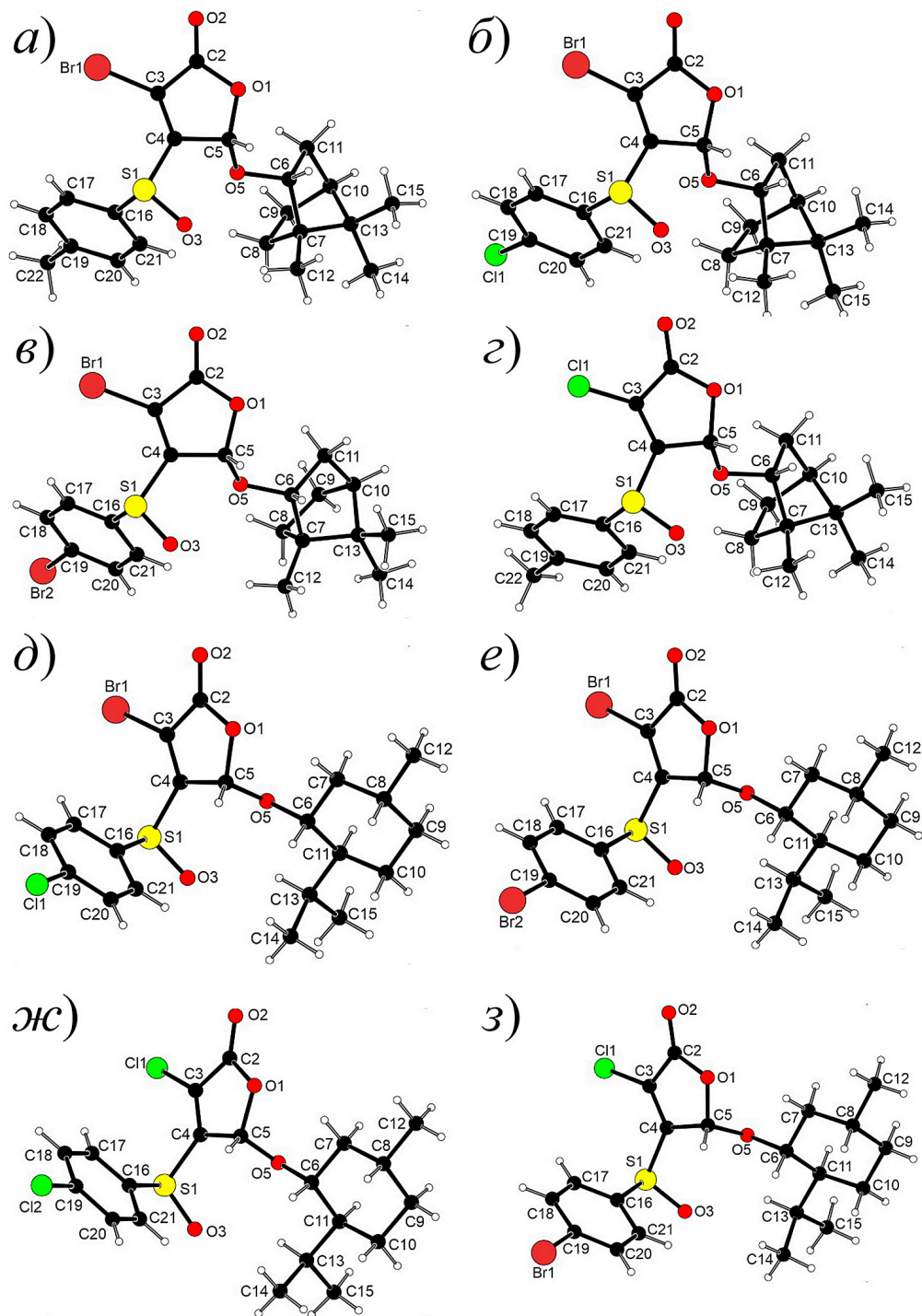


Рис. 2. Геометрия молекул сульфоксидов **13a** (а), **14a** (б), **15a** (в), **16a** (г), **20b** (д), **21b** (е), **23b** (ж) и **24b** (з) в кристалле

В табл. 1 для исследуемых соединений приведены значения минимальных концентраций, подавляющих рост бактерий (МПК) и образование биопленок (МБПК). Ни одно из этих соединений не проявило способности подавлять рост

грамотрицательной бактерии *E. coli*. Однако сульфоксиды продемонстрировали высокую антибактериальную активность против клеток грамположительной бактерии *S. aureus*, что, вероятно, обусловлено низкой способностью 2(5H)-фуранонов проникать сквозь клеточные стенки грамотрицательных бактерий, имеющих сложную структуру из двух мембран. Согласно полученным результатам (табл. 1) пять сульфоксидов (**13a**, **14b**, **17a**, **19b** и **24b**) среди протестированных соединений имели более низкую (в 4–8 раз) МБПК в отношении клеток *S. aureus*, чем МПК. Следовательно, эти соединения обладают способностью подавлять образование биопленок. Отметим, что соединения **14a**, **15a**, **16a**, **20b** и **23b** обладали способностью к подавлению роста бактерий при тех же концентрациях, что и вещества сравнения (бензалкония хлорид и фуранон **F105**), а также подавляли образование биопленки, по-видимому, за счет отсутствия роста бактерий.

Табл. 1

МПК и МБПК сульфоксидов ряда 2(5H)-фуранона в отношении *E. coli* и *S. aureus*

Соединение	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	Концентрация, мкг/мл			
	МПК	МБПК	МПК	МБПК
13a	> 64	> 64	8	2
14a	> 64	> 64	1	1
14b	> 64	> 64	4	1
15a	> 64	> 64	1	1
16a	> 64	> 64	1	2
17a	> 64	> 64	16	4
18a	> 64	> 64	4	2
19b	> 64	> 64	8	2
20b	> 64	> 64	1	1
22b	> 64	> 64	2	4
23b	> 64	> 64	2	1
24a	> 64	> 64	4	2
24b	> 64	> 64	8	1
Бензалкония хлорид	> 64	> 64	2	1
F105	> 64	> 64	2	1

Таким образом, соединения **13a**, **14b**, **17a**, **19b** и **24b** представляют интерес в качестве потенциальных ингибиторов образования биопленок стафилококка, а сульфоксиды **14a**, **15a**, **16a**, **20b** и **23b** могут быть использованы в качестве антибактериальных соединений, однако необходимы дальнейшие исследования стабильности, безопасности и механизма действия этих соединений.

2. Экспериментальная часть

2.1. Оборудование и реагенты. ИК спектры соединений получены на Фурье-спектрометре Tensor 27 (Bruker, Германия), оснащенном дополнительной приставкой нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) PIKE MIRacle (PIKE Technologies, США), в диапазоне волновых чисел от 4000 до 400 см⁻¹. Спектры ЯМР ¹H, ¹³C{¹H}, ¹H–¹H COSY и ¹H–¹³C HSQC зарегистрированы на приборе Bruker AVANCE III 400 NanoBay (Bruker, США) с рабочей частотой 400.17 МГц (¹H) и 100.62 МГц (¹³C) при температуре 20 °С для растворов

в CDCl_3 . Химические сдвиги приведены относительно сигналов остаточных протонов дейтерорастворителя ($\delta_{\text{H}} = 7.26$ м.д., $\delta_{\text{C}} = 77.16$ м.д.). Масс-спектры высокого разрешения получены на квадруполь-времяпролетном масс-спектрометре с электроспрейной ионизацией Bruker micrOTOF-QIII (Bruker, Германия) и tandemном квадруполь-времяпролетном масс-спектрометре с электроспрейной ионизацией Agilent 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS (Agilent Technologies, США). Анализ методом тонкослойной хроматографии проведен на пластинах Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ (ИМИД, Россия) с использованием CH_2Cl_2 в качестве элюента, пятна проявлены в УФ свете при 254 нм. Для колоночной хроматографии использован силикагель 60 А (0.060–0.200 мм, Acros Organics, Бельгия). Температуры плавления измерены на автоматическом приборе OptiMelt MPA100 (Stanford Research Systems, США) и нагревательном столике Boetius (VEB Wägetechnik Rapido, Германия) и не корректированы. Измерение оптического вращения проведено на поляриметрах PerkinElmer Model 341 (PerkinElmer, США) и Р-2200 (JASCO, Япония) в CHCl_3 при температуре 20 °С на D-линии натрия (λ 589 нм) (с дана в г/100 мл).

Хроматографическое разделение выполнено на модульном препаративном хроматографе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) со спектрофотометрическим детектором в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ на колонке CHIRAL Amylose-SA (250×4.6 мм, 5 мкм) (YMC, Япония) с градиентным элюированием смесью 0.1%-ной трифторуксусной кислоты в воде (А) и ацетонитрила, содержащего 0.1 % трифторуксусной кислоты (Б). Скорость потока элюента составляла 1 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 254 нм.

Кристаллы сульфоксидов **13a–16a**, **20b**, **21b**, **23b** и **24b** получены из гексана.

м-Хлорнадбензойная кислота (Acros Organics, Бельгия) использована без дополнительной очистки. Все остальные реагенты и органические растворители перед использованием были очищены и высушены по стандартным методикам [25].

2.2. Рентгеноструктурные исследования. Монокристалльное рентгеноструктурное исследование соединений выполнено на автоматическом четырехкружном дифрактометре Bruker KAPPA APEX II CCD (Bruker, Германия) ($\lambda[\text{MoK}_\alpha] = 0.71073$ Å) при T 296(2) К (для **13a**, **14a** и **16a**), трехкружных дифрактометрах XtaLab Synergy-S (Rigaku, Япония) ($\lambda[\text{CuK}_\alpha] = 1.54184$ Å) при T 100(2) К (для **15a** и **24b**) и Bruker D8 QUEST (Bruker, Германия) с двумерным детектором PHOTON III и микрофокусной рентгеновской трубкой I μ S DIAMOND (Incoatec, Германия) ($\lambda[\text{MoK}_\alpha] = 0.71073$ Å) при T 100(2) К (для **20b**, **21b** и **23b**). Сбор, редактирование данных и уточнение параметров элементарных ячеек проведены с использованием пакета программ *CrysAlisPro* и *APEX3*. Структуры расшифрованы прямым методом с использованием *SHELXT* [26] и уточнены полноматричным методом наименьших квадратов по F^2 сначала в изотропном, затем в анизотропном приближении (для всех неводородных атомов) с использованием программ *SHELXL* [27] в пакете программ *Olex2* [28]. Координаты атомов водорода рассчитаны на основании стереохимических критериев и уточнены по соответствующим моделям «наездника». Атомы водорода метильных групп были помещены в вычисленное положение и уточнены поворотом группы с идеализированными валентными углами. Анализ межмолекулярных взаимодействий и рисунки выполнены с использованием программы *PLATON* [29].

Кристаллографические данные структур **13a–16a**, **20b**, **21b**, **23b** и **24b** депонированы в Кембриджском банке структурных данных (<http://www.ccdc.cam.ac.uk>), регистрационные номера и основные характеристики приведены в табл. 2 и 3.

Рентгеноструктурные исследования проведены в ЦКП-САЦ ФИЦ КазНЦ РАН при поддержке государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН.

Табл. 2

Основные кристаллографические параметры структур **13a–16a** по рентгенодифракционным данным для монокристаллов

Соединение	13a	14a	15a	16a
Брутто-формула	$C_{21}H_{25}BrO_4S$	$C_{20}H_{22}BrClO_4S$	$C_{20}H_{22}Br_2O_4S$	$C_{21}H_{25}ClO_4S$
Молекулярная масса	453.38	473.79	518.25	408.92
Кристаллографический класс	моноклинный	моноклинный	орторомбический	моноклинный
Пространственная группа	$P2_1$ (No. 4)	$P2_1$ (No. 4)	$P2_12_12_1$ (No. 19)	$P2_1$ (No. 4)
Параметры элементарной ячейки: $a, b, c, \text{\AA}$; $\alpha, \beta, \gamma, ^\circ$	11.559(3), 7.630(2), 13.208(4); 113.375(5)	11.4986(8), 7.4735(6), 13.1288(10); 113.199(3)	6.84290(10), 14.1816(3), 21.3893(5)	11.289(12), 7.640(8), 13.345(13); 113.108(16)
Объем элементарной ячейки, $\text{\AA}^3$	1069.3(5)	1036.99(14)	2075.69(7)	1058.7(19)
Z/Z'	2 / 1	2 / 1	4 / 1	2 / 1
Вычисленная плотность, г см^{-3}	1.408	1.517	1.658	1.283
Коэффициент поглощения, мм^{-1}	2.042	2.234	6.089	0.302
$F(000)$	468	484	1040	432
Диапазон сбора отражений, $^\circ$	3.155–27.000	3.339–26.990	3.7400–75.4100	3.026–27.000
Диапазон индексов	$-14 \leq h \leq 14$, $-9 \leq k \leq 5$, $-16 \leq l \leq 16$	$-14 \leq h \leq 14$, $-9 \leq k \leq 9$, $-16 \leq l \leq 16$	$-5 \leq h \leq 8$, $-13 \leq k \leq 17$, $-27 \leq l \leq 26$	$-14 \leq h \leq 13$, $-6 \leq k \leq 9$, $-16 \leq l \leq 17$
Общее число / число независимых отражений (R_{int})	9113 / 2981 (0.0720)	13856 / 4453 (0.0262)	11146 / 4196 (0.0440)	8962 / 3357 (0.1349)
R_σ	0.0810	0.0306	0.0461	0.1754
Число наблюдаемых отражений [$I > 2\sigma(I)$]	1933	4282	4025	1496
Количество отражений / число констрейнов / число параметров	2981 / 1 / 248	4453 / 1 / 247	4196 / 0 / 247	3357 / 1 / 249
Качество фиттинга	1.008	1.040	1.093	0.959
$R [I > 2\sigma(I)]$	$R_1 = 0.0486$, $wR_2 = 0.0898$	$R_1 = 0.0254$, $wR_2 = 0.0620$	$R_1 = 0.0327$, $wR_2 = 0.0851$	$R_1 = 0.0729$, $wR_2 = 0.1467$
R (по всем отражениям)	$R_1 = 0.0923$, $wR_2 = 0.1038$	$R_1 = 0.0272$, $wR_2 = 0.0627$	$R_1 = 0.0341$, $wR_2 = 0.0860$	$R_1 = 0.1829$, $wR_2 = 0.1986$
Параметр Флака	–0.007(15)	–0.003(5)	–0.051(18)	0.3(2)
Остаточные экстремумы электронной плотности, $\text{е \AA}^{-3}$	0.409 и –0.333	0.430 и –0.518	0.503 и –0.556	0.274 и –0.323
Номер депонента в КБСД	2277816	2277817	2277818	2277815

Табл. 3

Основные кристаллографические параметры структур **20b**, **21b**, **23b** и **24b** по рентгено-дифракционным данным для монокристаллов

Соединение	20b	21b	23b	24b
Брутто-формула	$C_{20}H_{24}BrClO_4S$	$C_{20}H_{24}Br_2O_4S$	$C_{20}H_{24}Cl_2O_4S$	$C_{20}H_{24}BrClO_4S$
Молекулярная масса	475.81	520.27	431.35	475.81
Кристаллографический класс	орторомбический	орторомбический	орторомбический	орторомбический
Пространственная группа	$P2_12_12_1$ (No. 19)	$P2_12_12_1$ (No. 19)	$P2_12_12_1$ (No. 19)	$P2_12_12_1$ (No. 19)
Параметры элементарной ячейки: $a, b, c, \text{\AA}; \alpha, \beta, \gamma, ^\circ$	9.5017(6), 9.8903(6), 22.6723(13)	9.4608(6), 9.9462(5), 22.7354(11)	9.5444(3), 9.9193(3), 22.4245(8)	9.5088(2), 9.9758(2), 22.5260(5)
Объем элементарной ячейки, $\text{\AA}^3$	2130.6(2)	2139.4(2)	2123.01(12)	2136.77(8)
Z / Z'	4 / 1	4 / 1	4 / 1	4 / 1
Вычисленная плотность, г см^{-3}	1.483	1.615	1.350	1.479
Коэффициент поглощения, мм^{-1}	2.175	3.909	0.426	4.875
$F(000)$	976	1048	904	976
Диапазон сбора отражений, $^\circ$	2.247–26.000	2.235–25.997	2.245–25.987	3.925–76.425
Диапазон индексов	$-11 \leq h \leq 11,$ $-12 \leq k \leq 12,$ $-27 \leq l \leq 27$	$-11 \leq h \leq 11,$ $-12 \leq k \leq 12,$ $-28 \leq l \leq 28$	$-11 \leq h \leq 11,$ $-12 \leq k \leq 12,$ $-27 \leq l \leq 27$	$-11 \leq h \leq 9,$ $-12 \leq k \leq 12,$ $-28 \leq l \leq 21$
Общее число / число независимых отражений (R_{int})	43580 / 4182 (0.0413)	25828 / 4207 (0.0518)	34043 / 4167 (0.0286)	11990 / 4310 (0.0409)
R_σ	0.0199	0.0351	0.0163	0.0413
Число наблюдаемых отражений [$I > 2\sigma(I)$]	4082	3926	4097	4190
Количество отражений / число констрейнов / число параметров	4182 / 0 / 247	4207 / 0 / 248	4167 / 0 / 247	4310 / 0 / 247
Качество фиттинга	1.046	1.050	1.063	1.092
$R [I > 2\sigma(I)]$	$R_1 = 0.0183,$ $wR_2 = 0.0456$	$R_1 = 0.0223,$ $wR_2 = 0.0457$	$R_1 = 0.0194,$ $wR_2 = 0.0519$	$R_1 = 0.0291,$ $wR_2 = 0.0772$
R (по всем отражениям)	$R_1 = 0.0191,$ $wR_2 = 0.0460$	$R_1 = 0.0259,$ $wR_2 = 0.0467$	$R_1 = 0.0199,$ $wR_2 = 0.0522$	$R_1 = 0.0298,$ $wR_2 = 0.0778$
Параметр Флака	–0.005(3)	–0.014(4)	–0.004(12)	–0.016(11)
Остаточные экстремумы электронной плотности, $\text{е \AA}^{-3}$	0.224 и –0.234	0.282 и –0.244	0.200 и –0.186	0.276 и –0.301
Номер депонента в КБСД	2277813	2277814	2277811	2277812

2.3. Методики синтеза исследуемых соединений. 5(*S*)-3-Бром-4-[(4-метилфенил)сульфанил]-5-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-2(5*H*)-фуранон (**1**), 5(*S*)-3-бром-5-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-4-[(4-хлорфенил)сульфанил]-2(5*H*)-фуранон (**2**),

5(*S*)-3-бром-4-[(4-бромфенил)сульфанил]-5-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-2(5*H*)-фуранон (**3**), 5(*S*)-4-[(4-метилфенил)сульфанил]-5-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-2(5*H*)-фуранон (**4**), 5(*S*)-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-4-[(4-хлорфенил)сульфанил]-2(5*H*)-фуранон (**5**), 5(*S*)-4-[(4-бромфенил)сульфанил]-5-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-2(5*H*)-фуранон (**6**), 5(*S*)-3-бром-5-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-4-[(4-метилфенил)сульфанил]-2(5*H*)-фуранон (**7**), 5(*S*)-3-бром-5-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-4-[(4-хлорфенил)сульфанил]-2(5*H*)-фуранон (**8**), 5(*S*)-3-бром-4-[(4-бромфенил)сульфанил]-5-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-2(5*H*)-фуранон (**9**), 5(*S*)-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-4-[(4-метилфенил)сульфанил]-3-хлор-2(5*H*)-фуранон (**10**), 5(*S*)-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-3-хлор-4-[(4-хлорфенил)сульфанил]-2(5*H*)-фуранон (**11**) и 5(*S*)-4-[(4-бромфенил)сульфанил]-5-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-3-хлор-2(5*H*)-фуранон (**12**) синтезированы по известной методике [16].

Окисление тиоэфиров пероксидом водорода (общая методика). В круглодонную колбу на 50 мл поместили магнитную мешалку и раствор тиоэфира **1** (0.72 г (1.6 ммоль) в 25 мл ледяной AcOH) и при перемешивании прилили 0.28 мл (2.8 ммоль) 33%-ного раствора H_2O_2 . Реакционную смесь перемешивали в течение 6 сут при комнатной температуре, затем досуха вакуумировали. По данным метода спектроскопии ЯМР ^1H , бесцветный твердый остаток содержал смесь тиоэфира **1**, сульфоксида **13** (в виде смеси двух диастереомеров) и сульфона **25** в соотношении 1 : 14 : 3. Полученную смесь очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – CH_2Cl_2). Три основные фракции упарили досуха. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.61 содержал тиоэфир **1** (7 мг, 1 %), с R_f 0.41 – сульффон **25** (38 мг, 5 %) и с R_f 0.18 – смесь диастереомерных сульфоксидов **13a** + **13b** (0.40 г, 55 %) в соотношении 1 : 0.3. Методом дробной перекристаллизации из гексана выделен образец индивидуального (5*S*,*S**R*)-3-бром-4-[(4-метилфенил)сульфанил]-5-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-2(5*H*)-фуранона (**13a**). Выход составил 0.10 г (14 %), бесцветные кристаллы, т. пл. 138 °C, R_f 0.18, $[\alpha]_D^{20} +106.0$ (с 1.0, CHCl_3). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2985, 2944, 2928, 2875 (C–H); 1775 (C=O); 1612 (C=C_{лакт}); 1598, 1496 (C=C_{аром}); 1021 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.84 (с, 6 H, C(14)H₃, C(15)H₃), 0.94 (с, 3 H, C(12)H₃), 1.03–1.20 (м, 3 H, H(8), H(9), H(11)), 1.50–1.73 (м, 3 H, H(8), H(9), H(10)), 2.13–2.29 (м, 1 H, H(11)), 2.43 (с, 3 H, Me (*p*-Tol)), 3.98–4.06 (м, 1 H, H(6)), 6.12 (с, 1 H, H(5)), 7.36, 7.75 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $N = J_{AB} + J_{AB'} = 8.1$). Спектр ЯМР ^{13}C { ^1H } (δ , м.д.): 13.90 (C(12)), 18.90, 19.72 (C(14), C(15)), 21.73 (Me (*p*-Tol)), 26.48, 28.12 (C(8), C(9)), 36.87 (C(11)), 44.87 (C(10)), 47.85 (C(7)), 49.70 (C(13)), 90.19 (C(6)), 103.40 (C(5)), 118.49, 125.97, 130.47, 137.42, 143.44 (C(3), C(Ar)), 161.85 (C(4)), 164.01 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 475.0551 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{BrNaO}_4\text{S}^+$ 475.0549.

3-Бром-5-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-4-[(4-хлорфенил)сульфанил]-2(5*H*)-фуранон (14**)** синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **2** (0.83 г, 1.8 ммоль) действием 33%-ного раствора H_2O_2 (0.31 мл, 3.1 ммоль) в 33 мл ледяной AcOH . Соотношение тиоэфир **2** : сульфоксид

14 : сульфен **26** равно 1 : 11 : 3. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.60 содержал тиоэфир **2** (17 мг, 2 %), с R_f 0.49 – сульфен **26** (9 мг, 1 %) и с R_f 0.21 – смесь диастереомерных сульфоксидов **14a** + **14b** (0.44 г, 52 %) в соотношении 1 : 0.7. Индивидуальные стереоизомеры **14a** и **14b** выделены методом дробной перекристаллизации из гексана. **(5S,SR)-3-Бром-5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-4-[(4-хлорфенил)сульфинил]-2(5H)-фуранон (14a)**. Выход 38 мг (4 %), бесцветные кристаллы, т. пл. 110 °C, R_f 0.22, $[\alpha]_D^{20} +105.0$ (с 0.18, CHCl₃). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2984, 2961, 2882 (C–H); 1789 (C=O); 1617 (C=C_{лакт}); 1577, 1479 (C=C_{аром}); 1015 (SO). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., J/Гц): 0.83, 0.84 (оба с, по 3 H, C(14)H₃, C(15)H₃), 0.92 (с, 3 H, C(12)H₃), 1.02–1.18 (м, 3 H, H(8), H(9), H(11)), 1.34–1.47 (м, 1 H, H(8) или H(9)), 1.53–1.74 (м, 2 H, H(8) или H(9), H(10)), 2.13–2.32 (м, 1 H, H(11)), 3.96–4.08 (м, 1 H, H(6)), 6.17 (с, 1 H, H(5)), 7.54, 7.78 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $N = J_{AB} + J_{AB'} = 8.5$). Спектр ЯМР ¹³C {¹H} (δ, м.д.): 13.90 (C(12)), 18.87, 19.69 (C(14), C(15)), 26.41, 28.11 (C(8), C(9)), 36.90 (C(11)), 44.82 (C(10)), 47.85 (C(7)), 49.64 (C(13)), 90.38 (C(6)), 103.23 (C(5)), 119.54, 126.95, 130.07, 138.90, 138.94 (C(3), C(Ar)), 161.06 (C(4)), 163.66 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 495.0008 [M+Na]⁺; вычислено для C₂₀H₂₂BrClNaO₄S⁺ 495.0003. **(5S,SS)-3-Бром-5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-4-[(4-хлорфенил)сульфинил]-2(5H)-фуранон (14b)**. Выход 19 мг (2 %), бесцветное твердое вещество, т. пл. 136 °C, R_f 0.21, $[\alpha]_D^{20} +16.8$ (с 0.1, CHCl₃). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2962, 2883 (C–H); 1783 (C=O); 1603 (C=C_{лакт}); 1578, 1476 (C=C_{аром}); 1024 (SO). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., J/Гц): 0.87, 0.88 (оба с, по 3 H, C(14)H₃, C(15)H₃), 0.96 (с, 3 H, C(12)H₃), 1.17–1.37 (м, 3 H, H(8), H(9), H(11)), 1.64–1.79 (м, 2 H, H(8) или H(9), H(10)), 1.80–1.91 (м, 1 H, H(8) или H(9)), 2.20–2.31 (м, 1 H, H(11)), 3.99–4.09 (м, 1 H, H(6)), 6.02 (с, 1 H, H(5)), 7.57, 7.77 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $J_{AB} = J_{AB'} = 8.3$, $J_{AA'} = J_{BB'} = 1.7$, $J_{AB'} = J_{AB} = 0.2$). Спектр ЯМР ¹³C {¹H} (δ, м.д.): 13.80 (C(12)), 18.91, 19.73 (C(14), C(15)), 26.67, 28.07 (C(8), C(9)), 36.71 (C(11)), 44.96 (C(10)), 47.84 (C(7)), 49.80 (C(13)), 90.14 (C(6)), 103.65 (C(5)), 119.42, 127.13, 130.29, 139.05, 139.33 (C(3), C(Ar)), 160.28 (C(4)), 163.92 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 495.0009 [M+Na]⁺; вычислено для C₂₀H₂₂BrClNaO₄S⁺ 495.0003.

3-Бром-4-[(4-бромфенил)сульфинил]-5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-2(5H)-фуранон (15) синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **3** (0.67 г, 1.3 ммоль) действием 33%-ного раствора H₂O₂ (0.22 мл, 2.2 ммоль) в 25 мл ледяной AcOH. Соотношение тиоэфир **3** : сульфоксид **15** : сульфен **27** равно 2 : 12 : 3. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.63 содержал тиоэфир **3** (7 мг, 1 %), с R_f 0.51 – сульфен **27** (57 мг, 8 %) и с R_f 0.22 – смесь диастереомерных сульфоксидов **15a** + **15b** (0.36 г, 52 %) в соотношении 1 : 0.8. Индивидуальные стереоизомеры **15a** и **15b** выделены методом дробной перекристаллизации из гексана. **(5S,SR)-3-Бром-4-[(4-бромфенил)сульфинил]-5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-2(5H)-фуранон (15a)**. Выход 21 мг (3 %), бесцветные кристаллы, т. пл. 146 °C, R_f 0.21, $[\alpha]_D^{20} +204.5$ (с 0.91, CHCl₃). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 3004, 2991, 2960, 2946, 2926, 2890 (C–H); 1774 (C=O); 1613 (C=C_{лакт}); 1574, 1471 (C=C_{аром}); 1021 (SO). Спектр ЯМР ¹H (δ, м.д., J/Гц): 0.84 (с, 6 H, C(14)H₃, C(15)H₃), 0.92 (с, 3 H, C(12)H₃), 1.01–1.21 (м, 3 H, H(8), H(9), H(11)), 1.32–1.45 (м, 1 H, H(8) или H(9)), 1.54–1.74 (м, 2 H, H(8) или H(9), H(10)), 2.15–2.29 (м, 1 H, H(11)),

3.95–4.08 (м, 1 H, H(6)), 6.17 (с, 1 H, H(5)), 7.66–7.76 (м, 4 H, Ar). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , м.д.): 13.91 (C(12)), 18.87, 19.69 (C(14), C(15)), 26.40, 28.11 (C(8), C(9)), 36.90 (C(11)), 44.80 (C(10)), 47.85 (C(7)), 49.63 (C(13)), 90.38 (C(6)), 103.22 (C(5)), 119.54, 127.01, 127.21, 132.98, 139.59 (C(3), C(Ar)), 161.04 (C(4)), 163.67 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 518.9656 $[\text{M}+\text{H}]^+$; вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{Br}_2\text{O}_4\text{S}^+$ 518.9659. **(5S,SS)-3-Бром-4-[(4-бромфенил)сульфинил]-5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-2(5H)-фуранон (15b)**. Выход 7 мг (1 %), бесцветное твердое вещество, т. пл. 100–102 °C, R_f 0.22. ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2962, 2953, 2926, 2891, 2873, 2854 (C–H); 1772 (C=O); 1646 ($\text{C}=\text{C}_{\text{лакт}}$); 1573, 1470 ($\text{C}=\text{C}_{\text{аром}}$); 1024 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.87 (с, 6 H, C(14) H_3 , C(15) H_3), 0.96 (с, 3 H, C(12) H_3), 1.16–1.35 (м, 3 H, H(8), H(9), H(11)), 1.63–1.78 (м, 2 H, H(8) или H(9), H(10)), 1.79–1.91 (м, 1 H, H(8) или H(9)), 2.18–2.32 (м, 1 H, H(11)), 3.98–4.08 (м, 1 H, H(6)), 6.01 (с, 1 H, H(5)), 7.69, 7.73 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $N = J_{\text{AB}} + J_{\text{AB}'} = 7.9$). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , м.д.): 13.83 (C(12)), 18.94, 19.75 (C(14), C(15)), 26.70, 28.10 (C(8), C(9)), 36.74 (C(11)), 45.00 (C(10)), 47.87 (C(7)), 49.82 (C(13)), 90.17 (C(6)), 103.64 (C(5)), 119.53, 127.20, 127.68, 133.23, 139.69 (C(3), C(Ar)), 160.17 (C(4)), 163.90 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 518.9658 $[\text{M}+\text{H}]^+$; вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{Br}_2\text{O}_4\text{S}^+$ 518.9659.

5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-4-[(4-хлорфенил)сульфинил]-2(5H)-фуранон (17) синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **5** (0.92 г, 2.2 ммоль) действием 33%-ного раствора H_2O_2 (0.37 мл, 3.7 ммоль) в 35 мл ледяной AcOH . Соотношение тиоэфир **5** : сульфоксид **17** : сульфон **29** равно 1 : 23 : 9. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.61 содержал тиоэфир **5** (9 мг, 1 %), с R_f 0.49 – сульфон **29** (0.19 г, 19 %) и с R_f 0.21 – смесь диастереомерных сульфоксидов **17a** + **17b** (0.54 г, 57 %) в соотношении 1 : 0.9. Индивидуальные стереоизомеры **17a** и **17b** выделены методами дробной перекристаллизации из гексана и обращенно-фазовой ВЭЖХ (градиент Б 65–90 % в течение 30 мин). **(5S,SR)-5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-4-[(4-хлорфенил)сульфинил]-2(5H)-фуранон (17a)**. Выход 19 мг (2 %), бесцветное твердое вещество, т. пл. 108–110 °C, R_f 0.21. ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2993, 2964, 2948, 2927, 2890 (C–H); 1789, 1775 (C=O); 1624 ($\text{C}=\text{C}_{\text{лакт}}$); 1576, 1478 ($\text{C}=\text{C}_{\text{аром}}$); 1023 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.835, 0.838 (оба с, по 3 H, C(14) H_3 , C(15) H_3), 0.92 (с, 3 H, C(12) H_3), 1.01–1.21 (м, 3 H, H(8), H(9), H(11)), 1.33–1.47 (м, 1 H, H(8) или H(9)), 1.56–1.75 (м, 2 H, H(8) или H(9), H(10)), 2.14–2.32 (м, 1 H, H(11)), 3.95–4.10 (м, 1 H, H(6)), 6.18 (с, 1 H, H(5)), 7.55, 7.75 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $J_{\text{AB}} = J_{\text{AB}'} = 8.2$, $J_{\text{AA}'} = J_{\text{BB}'} = 2.2$, $J_{\text{AB}'} = J_{\text{AB}} = 0.3$). Масс-спектр: найдено m/z 451.0506 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{NaO}_4\text{S}^+$ 451.0508. **(5S,SS)-5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-Триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-4-[(4-хлорфенил)сульфинил]-2(5H)-фуранон (17b)**. Выход 28 мг (3 %), бесцветное твердое вещество, R_f 0.21. Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.87 (с, 6 H, C(14) H_3 , C(15) H_3), 0.97 (с, 3 H, C(12) H_3), 1.15–1.38 (м, 3 H, H(8), H(9), H(11)), 1.44–1.58 (м, 2 H, H(8) или H(9), H(10)), 1.76–1.91 (м, 1 H, H(8) или H(9)), 2.18–2.33 (м, 1 H, H(11)), 3.99–4.10 (м, 1 H, H(6)), 6.08 (с, 1 H, H(5)), 7.58, 7.76 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $N = J_{\text{AB}} + J_{\text{AB}'} = 7.9$). Масс-спектр: найдено m/z 451.0505 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{NaO}_4\text{S}^+$ 451.0508.

4-[(4-Бромфенилсульфинил)-5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-2(5H)-фуранон (18) синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **6** (0.87 г, 1.9 ммоль) действием 33%-ного раствора H_2O_2 (0.32 мл,

3.2 ммоль) в 35 мл ледяной AsOH . Соотношение тиоэфир **6** : сульфоксид **18** : сульффон **30** равно 1 : 17 : 7. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.62 содержал тиоэфир **6** (9 мг, 1 %), с R_f 0.45 – сульффон **30** (86 мг, 9 %) и с R_f 0.20 – смесь диастереомерных сульфоксидов **18a** + **18b** (0.52 г, 56 %) в соотношении 1 : 0.9. Методом дробной перекристаллизации из гексана выделен образец индивидуального **(5S,SR)-4-[(4-бромфенилсульфинил)-5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-2(5H)-фуранона (18a)**. Выход 28 мг (3 %), бесцветное твердое вещество, т. пл. 144 °C, R_f 0.22, $[\alpha]_D^{20} +122.5$ (с 1.0, CHCl_3). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 3002, 2991, 2955, 2889 (C–H); 1780, 1772 (C=O); 1623 (C=C_{лакт}); 1573, 1478 (C=C_{аром}); 1023 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.84 (с, 6 H, C(14)H₃, C(15)H₃), 0.92 (с, 3 H, C(12)H₃), 1.02–1.20 (м, 3 H, H(8), H(9), H(11)), 1.33–1.46 (м, 1 H, H(8) или H(9)), 1.55–1.79 (м, 2 H, H(8) или H(9), H(10)), 2.15–2.32 (м, 1 H, H(11)), 3.95–4.10 (м, 1 H, H(6)), 6.18 (с, 1 H, H(5)), 7.67, 7.71 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $N = J_{AB} + J_{AB'} = 8.7$). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , м.д.): 13.90 (C(12)), 18.88, 19.70 (C(14), C(15)), 26.40, 28.11 (C(8), C(9)), 36.91 (C(11)), 44.80 (C(10)), 47.84 (C(7)), 49.64 (C(13)), 90.44 (C(6)), 101.93 (C(5)), 126.81, 127.21, 133.03, 138.74, 139.58 (C(3), C(Ar)), 156.65 (C(4)), 163.06 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 473.0167 $[\text{M}+\text{H}]^+$; вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{BrClO}_4\text{S}^+$ 473.0183.

5-[(1R,2S,5R)-2-Изопропил-5-метилциклогексилокси]-4-[(4-метилфенил)сульфинил]-3-хлор-2(5H)-фуранон (22) синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **10** (0.75 г, 1.9 ммоль) действием 33%-ного раствора H_2O_2 (0.32 мл, 3.2 ммоль) в 50 мл ледяной AsOH . Соотношение тиоэфир **10** : сульфоксид **22** : сульффон **34** равно 1 : 12 : 2. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.66 содержал тиоэфир **10** (15 мг, 2 %), с R_f 0.58 – сульффон **34** (8 мг, 1 %) и с R_f 0.13 – смесь диастереомерных сульфоксидов **22a** + **22b** (0.46 г, 59 %) в соотношении 2 : 1. Индивидуальные стереоизомеры **22a** и **22b** выделены методом дробной перекристаллизации из гексана. **(5S,SR)-5-[(1R,2S,5R)-2-Изопропил-5-метилциклогексилокси]-4-[(4-метилфенил)сульфинил]-3-хлор-2(5H)-фуранон (22a)**. Выход 8 мг (1 %), бесцветные кристаллы, R_f 0.15, $[\alpha]_D^{20} -49.0$ (с 0.18, CHCl_3). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2963, 2933, 2876 (C–H); 1794 (C=O); 1627 (C=C_{лакт}); 1599, 1496 (C=C_{аром}); 1018 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.84 (д, 3 H, Me (Pr'), $J = 6.9$), 0.93 (д, 3 H, C(12)H₃, $J = 6.6$), 0.95 (д, 3 H, Me (Pr'), $J = 7.1$), 0.72–1.17 (м, 3 H, H(7), H(9), H(10)), 1.26–1.49 (м, 2 H, H(8), H(11)), 1.60–1.75 (м, 2 H, H(9), H(10)), 2.15–2.28 (м, 1 H, H(7)), 2.38 (септ.д, 1 H, H(13), $J_1 = 6.9$, $J_2 = 2.3$), 2.46 (с, 3 H, Me (*p*-Tol)), 3.66 (д.д.д, 1 H, H(6), $J_1 = 10.7$, $J_2 = 4.5$), 6.16 (с, 1 H, H(5)), 7.38, 7.66 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $N = J_{AB} + J_{AB'} = 8.2$). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , м.д.): 16.02 (Me (Pr')), 21.30 (C(12)), 21.80 (Me (*p*-Tol)), 22.29 (Me (Pr')), 22.82 (C(10)), 25.10 (C(13)), 31.76 (C(8)), 34.06 (C(9)), 42.25 (C(7)), 48.17 (C(11)), 84.17 (C(6)), 101.85 (C(5)), 125.94, 127.90, 130.65, 137.26, 143.89 (C(3), C(Ar)), 157.24 (C(4)), 163.73 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 433.1212 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{ClNaO}_4\text{S}^+$ 433.1211. **(5S,SS)-5-[(1R,2S,5R)-2-Изопропил-5-метилциклогексилокси]-4-[(4-метилфенил)сульфинил]-3-хлор-2(5H)-фуранон (22b)**. Выход 55 мг (7 %), бесцветное твердое вещество, т. пл. 165–166 °C, R_f 0.13, $[\alpha]_D^{20} +85.0$ (с 0.1, CHCl_3). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2970, 2955, 2939, 2925, 2871, 2854 (C–H); 1802 (C=O); 1617 (C=C_{лакт}); 1596, 1493 (C=C_{аром}); 1013 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.76 (д, 3 H, Me (Pr'), $J = 6.9$), 0.88 (д, 3 H, C(12)H₃, $J = 7.3$), 0.89 (д, 3 H, Me (Pr'), $J = 6.8$), 0.69–1.05 (м, 3 H, H(7), H(9), H(10)), 1.11–1.25 (м, 1 H, H(11)), 1.29–1.45 (м, 1 H, H(8)), 1.56–1.71 (м, 2 H, H(9), H(10)), 2.06–2.24 (м, 2 H, H(7), H(13)), 2.44

(с, 3 H, Me (*p*-Tol)), 3.57 (д.д.д, 1 H, H(6), $J_1 = 10.6$, $J_2 = 4.5$), 6.11 (с, 1 H, H(5)), 7.36, 7.64 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $N = J_{AB} + J_{AB'} = 8.1$). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , м.д.): 15.92 (Me (Prⁱ)), 21.24 (C(12)), 21.71 (Me (*p*-Tol)), 22.23 (Me (Prⁱ)), 22.71 (C(10)), 24.60 (C(13)), 31.73 (C(8)), 33.94 (C(9)), 42.27 (C(7)), 48.12 (C(11)), 83.56 (C(6)), 101.22 (C(5)), 125.70, 128.65, 130.48, 137.57, 143.39 (C(3), C(Ar)), 157.54 (C(4)), 163.46 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 433.1214 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{ClNaO}_4\text{S}^+$ 433.1211.

5-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-Изопропил-5-метилциклогексилокси]-3-хлор-4-[(4-хлорфенил)сульфинил]-2(5*H*)-фуранон (23) синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **11** (1.08 г, 2.6 ммоль) действием 33%-ного раствора H_2O_2 (0.44 мл, 4.4 ммоль) в 70 мл ледяной AcOH . Соотношение тиоэфир **11** : сульфоксид **23** : сульфен **35** равно 1 : 8 : 1. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.57 содержал тиоэфир **11** (54 мг, 5 %), с R_f 0.48 – сульфен **23** (81 мг, 7 %) и с R_f 0.18 – смесь диастереомерных сульфоксидов **23a** + **23b** (0.57 г, 51 %) в соотношении 0.8 : 1. Методом дробной перекристаллизации из гексана выделен образец индивидуального (**5*S*,5*S***)-**5-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-3-хлор-4-[(4-хлорфенил)сульфинил]-2(5*H*)-фуранона (23b)**. Выход 11 мг (1 %), бесцветные кристаллы, т. пл. 100 °C, R_f 0.18, $[\alpha]_D^{20} +32.1$ (с 0.1, CHCl_3). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2971, 2951, 2936, 2923, 2873, 2854 (C–H); 1802 (C=O); 1627 (C=C_{лакт}); 1581, 1480 (C=C_{аром}); 1015 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.84 (д, 3 H, Me (Prⁱ), $J = 6.9$), 0.93 (д, 3 H, Me (Prⁱ), $J = 7.0$), 0.95 (д, 3 H, C(12)H₃, $J = 7.6$), 0.72–1.21 (м, 3 H, H(7), H(9), H(10)), 1.26–1.50 (м, 2 H, H(8), H(11)), 1.59–1.80 (м, 2 H, H(9), H(10)), 2.12–2.27 (м, 1 H, H(7)), 2.33 (септ.д, 1 H, H(13), $J_1 = 7.0$, $J_2 = 2.2$), 3.66 (д.д.д, 1 H, H(6), $J_1 = 10.7$, $J_2 = 4.4$), 6.16 (с, 1 H, H(5)), 7.58, 7.73 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $J_{AB} = J_{AB'} = 8.4$, $J_{AA'} = J_{BB'} = 2.1$, $J_{AB'} = J_{AB} = 0.2$). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , м.д.): 16.02 (Me (Prⁱ)), 21.29 (C(12)), 22.26 (Me (Prⁱ)), 22.84 (C(10)), 25.23 (C(13)), 31.77 (C(8)), 34.03 (C(9)), 42.27 (C(7)), 48.21 (C(11)), 84.35 (C(6)), 101.76 (C(5)), 127.14, 128.80, 130.29, 138.81, 139.39 (C(3), C(Ar)), 156.33 (C(4)), 163.37 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 453.0666 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{NaO}_4\text{S}^+$ 453.0665.

4-[(4-Бромфенил)сульфинил]-5-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-3-хлор-2(5*H*)-фуранон (24) синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **12** (1.20 г, 2.6 ммоль) действием 33%-ного раствора H_2O_2 (0.44 мл, 4.4 ммоль) в 65 мл ледяной AcOH . Соотношение тиоэфир **12** : сульфоксид **24** : сульфен **36** равно 1 : 6 : 1. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.53 содержал тиоэфир **12** (72 мг, 6 %), с R_f 0.43 – сульфен **36** (64 мг, 5 %) и с R_f 0.27 – смесь диастереомерных сульфоксидов **24a** + **24b** (0.58 г, 47 %) в соотношении 0.8 : 1. Индивидуальные стереоизомеры **24a** и **24b** выделены методом дробной перекристаллизации из гексана. (**5*S*,5*R***)-**4-[(4-Бромфенил)сульфинил]-5-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-3-хлор-2(5*H*)-фуранон (24a)**. Выход 52 мг (4 %), бесцветное твердое вещество, т. пл. 143 °C, R_f 0.22, $[\alpha]_D^{20} +137.0$ (с 0.1, CHCl_3). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2959, 2940, 2925, 2870, 2853 (C–H); 1803 (C=O); 1619 (C=C_{лакт}); 1570, 1467 (C=C_{аром}); 1009 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.75 (д, 3 H, Me (Prⁱ), $J = 6.9$), 0.87 (д, 3 H, Me (Prⁱ), $J = 7.1$), 0.89 (д, 3 H, C(12)H₃, $J = 6.6$), 0.69–1.03 (м, 3 H, H(7), H(9), H(10)), 1.04–1.19 (м, 1 H, H(11)), 1.26–1.49 (м, 1 H, H(8)), 1.54–1.74 (м, 2 H, H(9), H(10)), 1.96–2.22 (м, 2 H, H(7), H(13)), 3.57 (д.д.д, 1 H, H(6), $J_1 = 10.6$, $J_2 = 4.5$), 6.20 (с, 1 H, H(5)), 7.58, 7.68 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $J_{AB} = J_{AB'} = 8.3$, $J_{AA'} = J_{BB'} = 2.1$,

$J_{AB'} = J_{A'B} = 0.3$). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , м.д.): 15.89 (Me (Prⁱ)), 21.25 (C(12)), 22.21 (Me (Prⁱ)), 22.67 (C(10)), 24.58 (C(13)), 31.74 (C(8)), 33.87 (C(9)), 42.25 (C(7)), 48.14 (C(11)), 83.57 (C(6)), 101.03 (C(5)), 126.73, 127.12, 129.51, 132.91, 139.68 (C(3), C(Ar)), 156.72 (C(4)), 163.07 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 497.0158 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{BrClNaO}_4\text{S}^+$ 497.0159. **(5*S*,*SS*)-4-[(4-Бромфенил)сульфинил]-5-[(1*R*,2*S*,5*R*)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-3-хлор-2(5*H*)-фуранон (24b)**. Выход 25 мг (2 %), бесцветные кристаллы, т. пл. 96 °C, R_f 0.15, $[\alpha]_D^{20} +27.1$ (c 0.1, CHCl_3). ИК спектр, v/cm^{-1} : 2968, 2950, 2936, 2923, 2872, 2854 (C–H); 1801 (C=O); 1626 (C=C_{лакт}); 1576, 1473, 1465 (C=C_{аром}); 1012 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.84, 0.93 (оба д, по 3 H, Me (Prⁱ), $J = 6.9$), 0.95 (д, 3 H, C(12)H₃, $J = 7.3$), 0.70–1.17 (м, 3 H, H(7), H(9), H(10)), 1.26–1.50 (м, 2 H, H(8), H(11)), 1.60–1.77 (м, 2 H, H(9), H(10)), 2.13–2.25 (м, 1 H, H(7)), 2.32 (септ.д, 1 H, H(13), $J_1 = 7.0$, $J_2 = 2.3$), 3.66 (д.д.д, 1 H, H(6), $J_1 = 10.7$, $J_2 = 4.5$), 6.15 (с, 1 H, H(5)), 7.65, 7.74 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $J_{AB} = J_{A'B'} = 8.3$, $J_{AA'} = J_{BB'} = 1.9$, $J_{AB'} = J_{A'B} = 0.3$). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , м.д.): 16.02 (Me (Prⁱ)), 21.29 (C(12)), 22.26 (Me (Prⁱ)), 22.82 (C(10)), 25.22 (C(13)), 31.76 (C(8)), 34.01 (C(9)), 42.26 (C(7)), 48.19 (C(11)), 84.36 (C(6)), 101.76 (C(5)), 127.19, 127.72, 128.90, 133.22, 139.40 (C(3), C(Ar)), 156.18 (C(4)), 163.35 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 497.0156 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{BrClNaO}_4\text{S}^+$ 497.0159.

Окисление тиоэфиров *m*-CPBA (общая методика). В плоскодонную колбу на 50 мл помещали магнитную мешалку, раствор тиоэфира **1** (0.30 г, 0.7 ммоль) в 15 мл CH_2Cl_2 при температуре –15 °C и медленно прикапывали охлажденный раствор *m*-CPBA (0.14 г, 0.8 ммоль) в 5 мл CH_2Cl_2 . Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при температуре –15 °C. Далее реакционную смесь экстрагировали водой (3 × 50 мл), органический слой отделяли и вакуумировали досуха. По данным метода спектроскопии ЯМР ^1H , бесцветный твердый остаток содержал смесь тиоэфира **1**, сульфоксида **13** (в виде двух диастереомеров) и сульфона **25** в соотношении 2 : 5 : 1, а также *m*-хлорбензойную кислоту. Полученную смесь очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (элюент – CH_2Cl_2). Три основные фракции упарили досуха. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.61 содержал тиоэфир **1** (62 мг, 21 %), с R_f 0.41 – сульфон **25** (37 мг, 11 %) и с R_f 0.18 – смесь диастереомерных сульфоксидов **13a** + **13b** (0.20 г, 64 %) в соотношении 1 : 0.7. Методом дробной перекристаллизации из гексана выделен образец индивидуального **(5*S*,*SR*)-3-бром-4-[(4-метилфенил)сульфинил]-5-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-2(5*H*)-фуранона (13a)**. Выход 28 мг (9 %), бесцветные кристаллы.

4-[(4-Метилфенил)сульфинил]-5-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-2(5*H*)-фуранон (16) синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **4** (0.24 г, 0.6 ммоль) действием *m*-CPBA (0.14 г, 0.8 ммоль). Соотношение тиоэфир **4** : сульфоксид **16** : сульфон **28** равно 1 : 13 : 6. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.60 содержал тиоэфир **4** (7 мг, 3 %), с R_f 0.49 – сульфон **28** (41 мг, 15 %) и с R_f 0.23 – смесь диастереомерных сульфоксидов **16a** + **16b** (0.15 г, 57 %) в соотношении 1 : 0.9. Индивидуальные стереоизомеры **16a** и **16b** выделены методами дробной перекристаллизации из гексана и обращенно-фазовой ВЭЖХ (градиент Б 70–100 % в течение 25 мин). **(5*S*,*SR*)-4-[(4-Метилфенил)сульфинил]-5-[(1*S*,2*R*,4*S*)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-2(5*H*)-фуранон (16a)**. Выход 10 мг (4 %), бесцветные кристаллы,

т. пл. 119 °C, R_f 0.24, $[\alpha]_D^{20} +73.6$ (с 0.1, CHCl_3). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2985, 2954, 2944, 2926, 2875 (C–H); 1784 (C=O); 1624 (C=C_{лакт}); 1600, 1497 (C=C_{аром}); 1016 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.84 (с, 6 H, C(14) H_3 , C(15) H_3), 0.94 (с, 3 H, C(12) H_3), 1.04–1.24 (м, 3 H, H(8), H(9), H(11)), 1.47–1.72 (м, 3 H, H(8), H(9), H(10)), 2.13–2.30 (м, 1 H, H(11)), 2.44 (с, 3 H, Me (*p*-Tol)), 3.95–4.05 (м, 1 H, H(6)), 6.12 (с, 1 H, H(5)), 7.36, 7.71 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $N = J_{AB} + J_{AB'} = 8.0$). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , м.д.): 13.89 (C(12)), 18.89, 19.72 (C(14), C(15)), 21.72 (Me (*p*-Tol)), 26.48, 28.11 (C(8), C(9)), 36.87 (C(11)), 44.87 (C(10)), 47.83 (C(7)), 49.70 (C(13)), 90.22 (C(6)), 102.12 (C(5)), 125.74, 128.44, 130.52, 137.45, 143.44 (C(3), C(Ar)), 157.54 (C(4)), 163.42 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 409.1231 $[\text{M}+\text{H}]^+$; вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{ClO}_4\text{S}^+$ 409.1235. **(5S,SS)-4-[(4-Метилфенил)сульфинил]-5-[(1S,2R,4S)-1,7,7-триметилбицикло[2.2.1]гептан-2-илокси]-3-хлор-2(5H)-фуранон (16b)**. Выход 13 мг (5 %), бесцветное твердое вещество, R_f 0.24, $[\alpha]_D^{20} +27.4$ (с 0.1, CHCl_3). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.86 (с, 6 H, C(14) H_3 , C(15) H_3), 0.97 (с, 3 H, C(12) H_3), 1.14–1.36 (м, 3 H, H(8), H(9), H(11)), 1.59–1.83 (м, 3 H, H(8), H(9), H(10)), 2.16–2.32 (м, 1 H, H(11)), 2.45 (с, 3 H, Me (*p*-Tol)), 3.99–4.10 (м, 1 H, H(6)), 6.08 (с, 1 H, H(5)), 7.39, 7.69 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $N = J_{AB} + J_{AB'} = 8.0$). Масс-спектр: найдено m/z 409.1237 $[\text{M}+\text{H}]^+$; вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{ClO}_4\text{S}^+$ 409.1235.

3-Бром-5-[(1R,2S,5R)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-4-[(4-метилфенил)сульфинил]-2(5H)-фуранон (19) синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **7** (1.00 г, 2.3 ммоль) действием *m*-CPBA (0.47 г, 2.7 ммоль). Соотношение тиоэфир **7** : сульфоксид **19** : сульфон **31** равно 2 : 9 : 1. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.57 содержал тиоэфир **7** (0.13 г, 13 %), с R_f 0.45 – сульфон **31** (75 мг, 7 %) и с R_f 0.10 – смесь диастереомерных сульфоксидов **19a** + **19b** (0.67 г, 65 %) в соотношении 0.1 : 1. Методом дробной перекристаллизации из гексана выделен образец индивидуального **(5S,SS)-3-бром-5-[(1R,2S,5R)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-4-[(4-метилфенил)сульфинил]-2(5H)-фуранона (19b)**. Выход 52 мг (5 %), бесцветное твердое вещество, т. пл. 172 °C, R_f 0.10, $[\alpha]_D^{20} +113.9$ (с 0.1, CHCl_3). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2955, 2940, 2924, 2870, 2855 (C–H); 1794 (C=O); 1606 (C=C_{лакт}); 1595, 1492 (C=C_{аром}); 1013 (SO). Спектр ЯМР ^1H (δ , м.д., $J/\text{Гц}$): 0.76 (д, 3 H, Me (Prⁱ), $J = 7.0$), 0.87 (д, 3 H, Me (Prⁱ), $J = 7.1$), 0.89 (д, 3 H, C(12) H_3 , $J = 6.6$), 0.69–1.06 (м, 3 H, H(7), H(9), H(10)), 1.13–1.22 (м, 1 H, H(11)), 1.29–1.43 (м, 1 H, H(8)), 1.48–1.79 (м, 2 H, H(9), H(10)), 2.07–2.27 (м, 2 H, H(7), H(13)), 2.44 (с, 3 H, Me (*p*-Tol)), 3.58 (д.д.д, 1 H, H(6), $J_1 = 10.7$, $J_2 = 4.5$), 6.11 (с, 1 H, H(5)), 7.36, 7.67 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $N = J_{AB} + J_{AB'} = 8.2$). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (δ , м.д.): 15.93 (Me (Prⁱ)), 21.26 (C(12)), 21.72 (Me (*p*-Tol)), 22.25 (Me (Prⁱ)), 22.74 (C(10)), 24.59 (C(13)), 31.76 (C(8)), 33.97 (C(9)), 42.30 (C(7)), 48.16 (C(11)), 83.52 (C(6)), 102.49 (C(5)), 118.59, 125.91, 130.44, 137.53, 143.39 (C(3), C(Ar)), 161.83 (C(4)), 164.08 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 477.0708 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; вычислено для $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{BrNaO}_4\text{S}^+$ 477.0706.

3-Бром-5-[(1R,2S,5R)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-4-[(4-хлорфенил)сульфинил]-2(5H)-фуранон (20) синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **8** (0.83 г, 1.8 ммоль) действием *m*-CPBA (0.37 г, 2.2 ммоль). Соотношение тиоэфир **8** : сульфоксид **20** : сульфон **32** равно 3 : 13 : 2. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.58 содержал тиоэфир **8** (0.14 г, 17 %), с R_f 0.52 – сульфон **32** (51 мг, 6 %) и с R_f 0.22 – смесь диастереомерных сульфок-

сидов **20a** + **20b** (0.56 г, 65 %) в соотношении 0.7 : 1. Методом дробной перекристаллизации из гексана выделен образец индивидуального **(5S,5S)-3-бром-5-[(1R,2S,5R)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-4-[(4-хлорфенил)сульфинил]-2(5H)-фуранона (20b)**. Выход 77 мг (9 %), бесцветные кристаллы, т. пл. 121–122 °C, R_f 0.15, $[\alpha]_D^{20} +1.1$ (с 0.1, CHCl₃). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2971, 2951, 2935, 2923, 2873, 2848 (C–H); 1796 (C=O); 1618 (C=C_{лакт}); 1480, 1465 (C=C_{аром}); 1016 (SO). Спектр ЯМР ¹H (δ , м.д., J/Гц): 0.83 (д, 3 H, Me (Prⁱ), $J = 6.9$), 0.93 (д, 3 H, Me (Prⁱ), $J = 6.8$), 0.95 (д, 3 H, C(12)H₃, $J = 7.5$), 0.73–1.16 (м, 3 H, H(7), H(9), H(10)), 1.26–1.48 (м, 2 H, H(8), H(11)), 1.60–1.75 (м, 2 H, H(9), H(10)), 2.12–2.25 (м, 1 H, H(7)), 2.34 (септ.д, 1 H, H(13), $J_1 = 7.1$, $J_2 = 2.4$), 3.65 (д.д.д, 1 H, H(6), $J_1 = 10.7$, $J_2 = 4.4$), 6.10 (с, 1 H, H(5)), 7.57, 7.74 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $J_{AB} = J_{AB'} = 8.2$, $J_{AA'} = J_{BB'} = 2.0$, $J_{AB'} = J_{AB} = 0.3$). Спектр ЯМР ¹³C {¹H} (δ , м.д.): 16.03 (Me (Prⁱ)), 21.30 (C(12)), 22.27 (Me (Prⁱ)), 22.80 (C(10)), 25.14 (C(13)), 31.77 (C(8)), 34.01 (C(9)), 42.28 (C(7)), 48.18 (C(11)), 84.29 (C(6)), 102.98 (C(5)), 119.20, 127.19, 130.27, 138.96, 139.33 (C(3), C(Ar)), 160.51 (C(4)), 163.97 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 497.0158 [M+Na]⁺; вычислено для C₂₀H₂₄BrClNaO₄S⁺ 497.0159.

3-Бром-4-[(4-бромфенил)сульфинил]-5-[(1R,2S,5R)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-2(5H)-фуранон (21) синтезировали аналогично соединению **13** из тиоэфира **9** (0.89 г, 1.8 ммоль) действием *m*-CPBA (0.36 г, 2.1 ммоль). Соотношение тиоэфир **9** : сульфоксид **21** : сульфон **33** равно 2 : 10 : 1. Бесцветный твердый остаток фракции с R_f 0.54 содержал тиоэфир **9** (0.13 г, 15 %), с R_f 0.48 – сульфон **33** (31 мг, 3 %) и с R_f 0.18 – смесь диастереомерных сульфоксидов **21a** + **21b** (0.54 г, 59 %) в соотношении 1 : 2. Методом дробной перекристаллизации из гексана выделен образец индивидуального **(5S,5S)-3-бром-4-[(4-бромфенил)сульфинил]-5-[(1R,2S,5R)-2-изопропил-5-метилциклогексилокси]-2(5H)-фуранона (21b)**. Выход 70 мг (8 %), бесцветные кристаллы, т. пл. 117–118 °C, R_f 0.18, $[\alpha]_D^{20} +2.6$ (с 0.1, CHCl₃). ИК спектр, $\nu/\text{см}^{-1}$: 2966, 2950, 2935, 2922, 2872, 2848 (C–H); 1794 (C=O); 1618 (C=C_{лакт}); 1574, 1462 (C=C_{аром}); 1012 (SO). Спектр ЯМР ¹H (δ , м.д., J/Гц): 0.83, 0.93 (оба д, по 3 H, Me (Prⁱ), $J = 6.9$), 0.95 (д, 3 H, C(12)H₃, $J = 7.2$), 0.71–1.22 (м, 3 H, H(7), H(9), H(10)), 1.26–1.48 (м, 2 H, H(8), H(11)), 1.60–1.76 (м, 2 H, H(9), H(10)), 2.14–2.27 (м, 1 H, H(7)), 2.34 (септ.д, 1 H, H(13), $J_1 = 7.0$, $J_2 = 2.3$), 3.65 (д.д.д, 1 H, H(6), $J_1 = 10.7$, $J_2 = 4.5$), 6.10 (с, 1 H, H(5)), 7.66, 7.73 (м, 4 H, AA'BB', Ar, $J_{AB} = J_{AB'} = 8.3$, $J_{AA'} = J_{BB'} = 2.0$, $J_{AB'} = J_{AB} = 0.3$). Спектр ЯМР ¹³C {¹H} (δ , м.д.): 16.04 (Me (Prⁱ)), 21.30 (C(12)), 22.26 (Me (Prⁱ)), 22.80 (C(10)), 25.14 (C(13)), 31.77 (C(8)), 34.01 (C(9)), 42.28 (C(7)), 48.18 (C(11)), 84.30 (C(6)), 102.97 (C(5)), 119.30, 127.24, 127.66, 133.20, 139.58 (C(3), C(Ar)), 160.37 (C(4)), 163.94 (C(2)). Масс-спектр: найдено m/z 540.9654 [M+Na]⁺; вычислено для C₂₀H₂₄Br₂NaO₄S⁺ 540.9654.

Окисление тиоэфира 1 Оксоном. В круглодонную колбу на 50 мл помещали магнитную мешалку, раствор тиоэфира **1** (0.15 г, 0.3 ммоль) в 15 мл ацетона при температуре –15 °C и приливали охлажденный раствор Оксона (0.31 г, 0.5 ммоль) в 6 мл воды. Наблюдали образование бесцветного осадка. Реакционную смесь выдерживали при охлаждении в течение 3 ч, затем – 2 сут при комнатной температуре. Далее реакционную смесь промывали водой (20 мл), отделяли органический слой и вакуумировали растворитель досуха.

По данным метода спектроскопии ЯМР ^1H , полученный твердый остаток содержал исходный тиозфир **1** и следовые количества сульфоксида **13** и сульфона **25** (соотношение S / SO / SO₂ = 33 : 5 : 1).

2.4. Биологические исследования.

2.4.1. Штаммы и условия культивирования. В работе использованы штаммы из американской коллекции микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 и *Escherichia coli* ATCC 25922. Культивирование бактерий проводили в питательной среде LB (г/л): триптон – 10, дрожжевой экстракт – 5, NaCl – 5, pH 8.5. Для получения бактериальных биопленок использовали среду БМ-бульон (BM-medium) (г/л) [30]: пептон – 0.7, глюкоза – 0.5, MgSO₄ × 7H₂O – 0.2, CaCl₂ – 0.005.

2.4.2. Определение МПК проводили методом микроразведений в среде Мюллера-Хинтон (Sigma, Германия) согласно рекомендациям EUCAST [31]. Исследуемые вещества разводили средой в 96-луночном пластиковом планшете в концентрациях 1–64 мкг/мл. Лунки засеивали 200 мкл бактериальной культуры (КОЕ 2–9 × 10⁶) в среде Мюллера-Хинтон с последующей инкубацией при 37 °C в течение 24 ч. МПК выражали как наименьшую концентрацию вещества, при которой отсутствовал бактериальный рост.

2.4.3. Определение МБПК проводили в 96-луночных адгезивных пластиковых планшетах Cell Culture Plate (SPL Life Sciences Co., Ltd., Корея) как описано в [32] с модификациями [19]. Бактерии выращивали 48 ч без качания при 37 °C в БМ-бульоне в лунках по 200 мкл с начальной плотностью культуры бактерий 3 × 10⁷ КОЕ/мл. В опытные лунки дополнительно вносили исследуемые вещества до конечных концентраций 1–64 мкг/мл. По завершении культивирования удаляли культуральную жидкость из лунок, однократно промывали дистиллированной водой, просушивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Затем в лунки вносили 100 мкл 1%-ного раствора кристаллического фиолетового (Sigma-Aldrich, Германия) в 96%-ном EtOH и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин с закрытой крышкой. Далее лунки промывали дистиллированной водой, связавшийся краситель элюировали 96%-ным EtOH (100 мкл на лунку) и измеряли поглощение при длине волны 570 нм на микропланшетном ридере Tecan Infinite 200 Pro (Tecan Group Ltd., Швейцария). В качестве контроля использовали чистые лунки, в которых не проводилось инкубирования бактерий, но проводились все манипуляции процесса окрашивания. МБПК выражали как наименьшую концентрацию, при которой происходило подавление образования биопленок на 50 %.

Статистическая обработка результатов. Все эксперименты выполнены в трех биологических повторах с тремя техническими повторами в каждом опыте. Данные МПК и МБПК представлены в виде медианы.

Заключение

При действии на хиральные 4-арилсульфанильные производные 2(5*H*)-фуранона *m*-CPBA (1.2 экв.) или пероксида водорода (1.7 экв.) в уксусной кислоте синтезированы новые сульфоксиды 2(5*H*)-фуранона с борнильным или ментильным фрагментом у атома углерода C(5) лактонного цикла. Для выделения индивидуальных стереоизомеров сульфоксидов применены методы колоночной хроматографии, дробной перекристаллизации из гексана и обращенно-фазовой ВЭЖХ. В случае использования в качестве окислителя H₂O₂ наблюдалась боль-

шая конверсия исходных соединений, а продукты окисления образовывались примерно в том же соотношении, что и в реакции с *m*-СРВА. Изучение антибактериальной активности оптически активных сульфоксидов позволило выявить соединения, способные подавлять рост *S. aureus* и образование им биопленок. При этом эффект проявляется при концентрациях соединений равных или ниже, чем для известного антисептика хлорида бензалкония.

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-73-10182, <https://rscf.ru/project/23-73-10182>.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Gangemi C.M.A., D'Agostino E., Aversa M.C., Barattucci A., Bonaccorsi P.M. Sulfoxides and disulfides from sulfenic acids: Synthesis and applications // *Tetrahedron*. 2023. V. 143. Art. 133550. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2023.133550>.
2. Wojaczynska E., Wojaczynski J. Sulfoxides in medicine // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2023. V. 76. Art. 102340. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2023.102340>.
3. Spyropoulou C.K., Skolia E., Flesariu D.F., Zissimou G.A., Gkizis P.L., Triandafillidi I., Athanasiou M., Itskos G., Koutentis P.A., Kokotos C.G. 3*H*-Phenothiazin-3-one: A photocatalyst for the aerobic photochemical oxidation of sulfides to sulfoxides // *Adv. Synth. Catal.* 2023. V. 365, No 15. P. 2643–2650. <https://doi.org/10.1002/adsc.202300516>.
4. Salom-Roig X., Bauder C. Recent applications in the use of sulfoxides as chiral auxiliaries for the asymmetric synthesis of natural and biologically active products // *Synthesis*. 2020. V. 52, No 7. P. 964–978. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1690803>.
5. Jia T., Wang M., Liao J. Chiral sulfoxide ligands in asymmetric catalysis // *Top. Curr. Chem.* 2019. V. 377, No 2. Art. 8. <https://doi.org/10.1007/s41061-019-0232-9>.
6. Pellissier H. Asymmetric domino reactions. Part A: Reactions based on the use of chiral auxiliaries // *Tetrahedron*. 2006. V. 62, No 8. P. 1619–1665. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.10.040>.
7. Fernandez I., Khair N. Recent developments in the synthesis and utilization of chiral sulfoxides // *Chem. Rev.* 2003. V. 103, No 9. P. 3651–3705. <https://doi.org/10.1021/cr990372u>.
8. León-Rojas A.F., Urbina-González J.M. Las furan-2[5*H*]-onas ($\Delta^{\alpha\beta}$ -butenolidas), su preparación e importancia biológica // *Av. Quim.* 2015. V. 10, No 1. P. 67–78.
9. Rossi R., Lessi M., Manzini C., Marianetti G., Bellina F. Synthesis and biological properties of 2(5*H*)-furanones featuring bromine atoms on the heterocyclic ring and / or brominated substituents // *Curr. Org. Chem.* 2017. V. 21, No 11. P. 964–1018. <https://doi.org/10.2174/1385272821666170111151917>.
10. Husain A., Khan S.A., Iram F., Iqbal A., Asif M. Insights into the chemistry and therapeutic potential of furanones: A versatile pharmacophore // *Eur. J. Med. Chem.* 2019. V. 171. P. 66–92. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.021>.
11. Villamizar-Mogotocoro A.-F., León-Rojas A.-F., Urbina-González J.-M. $\Delta^{\alpha\beta}$ -Butenolides [furan-2(5*H*)-ones]: Ring construction approaches and biological aspects – a mini-review // *Mini-Rev. Org. Chem.* 2020. V. 17, No 8. P. 922–945. <https://doi.org/10.2174/1570193X17666200220130735>.
12. Kayumov A.R., Sharafutdinov I.S., Trizna E.Yu., Bogachev M.I. Chapter 6 – Antistaphylococcal activity of 2(5*H*)-furanone derivatives // Yadav M.K., Singh B.P. (Eds) *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms*. Elsevier, 2020. P. 77–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64279-0.00006-2>.

13. Kurbangalieva A.R., Devyatova N.F., Bogdanov A.V., Berdnikov E.A., Mannafov T.G., Krivolapov D.B., Litvinov I.A., Chmutova G.A. Synthesis of novel arylthio derivatives of mucochloric acid // *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* 2007. V. 182, No 3. P. 607–630. <https://doi.org/10.1080/10426500601015989>.
14. Kurbangalieva A.R., Lodochnikova O.A., Devyatova N.F., Berdnikov E.A., Gnezdilov O.I., Litvinov I.A., Chmutova G.A. Structural diversity of interaction products of mucochloric acid and its derivatives with 1,2-ethanedithiol // *Tetrahedron*. 2010. V. 66, No 52. P. 9945–9953. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2010.10.047>.
15. Хабибрахманова А.М., Раббаниева Э.С., Герасимова Д.П., Исламов Д.Р., Латыпова Л.З., Лодочникова О.А., Курбангалиева А.Р. Оптически активные бистиоэфиры и дисульфоны на основе 2(5H)-фуранона и дитиолов: синтез и строение // *Журн. орган. химии*. 2022. Т. 58, Вып. 8. С. 886–896. <https://doi.org/10.31857/S0514749222080122>.
16. Khabibrakhmanova A.M., Faizova R.G., Lodochnikova O.A., Zamalieva R.R., Latypova L.Z., Trizna E.Y., Porfiryev A.G., Tanaka K., Sachenkov O.A., Kayumov A.R., Kurbangalieva A.R. The novel chiral 2(5H)-furanone sulfones possessing terpene moiety: Synthesis and biological activity // *Molecules*. 2023. V. 28, No 6. Art. 2543. <https://doi.org/10.3390/molecules28062543>.
17. Латыпова Л.З., Сайгитбаталова Е.Ш., Чулакова Д.Р., Лодочникова О.А., Курбангалиева А.Р., Бердников Е.А., Чмутова Г.А. Тиоэфиры, сульфоны и сульфоксиды 2(5H)-фуранонового ряда: синтез и строение // *Журн. орган. химии*. 2014. Т. 50, Вып. 4. С. 532–545.
18. Хабибрахманова А.М., Раббаниева Э.С., Герасимова Д.П., Лодочникова О.А., Латыпова Л.З., Курбангалиева А.Р. Окисление хиральных бис-тиоэфиров ряда 2(5H)-фуранона до дисульфоксидов // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки*. 2023. Т. 165, Кн. 1. С. 133–148. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2023.1.133-148>.
19. Sharafutdinov I.S., Trizna E.Y., Baydamshina D.R., Ryzhikova M.N., Sibgatullina R.R., Khabibrakhmanova A.M., Latypova L.Z., Kurbangalieva A.R., Rozhina E.V., Klinger-Stobel M., Fakhrullin R.F., Pletz M.W., Bogachev M.I., Kayumov A.R., Makarewicz O. Antimicrobial effects of sulfonyl derivative of 2(5H)-furanone against planktonic and biofilm associated methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8. Art. 2246. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02246>.
20. Sharafutdinov I.S., Pavlova A.S., Akhatova F.S., Khabibrakhmanova A.M., Rozhina E.V., Romanova Y.J., Fakhrullin R.F., Lodochnikova O.A., Kurbangalieva A.R., Bogachev M.I., Kayumov A.R. Unraveling the molecular mechanism of selective antimicrobial activity of 2(5H)-furanone derivative against *Staphylococcus aureus* // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20, No 3. Art. 694. <https://doi.org/10.3390/ijms20030694>.
21. Sulaiman R., Trizna E., Kolesnikova A., Khabibrakhmanova A., Kurbangalieva A., Bogachev M., Kayumov A. Antimicrobial and biofilm-preventing activity of *l*-borneol possessing 2(5H)-furanone derivative F131 against *S. aureus*–*C. albicans* mixed cultures // *Pathogens*. 2023. V. 12, No 1. Art. 26. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010026>.
22. Hussain H., Green I.R., Ahmed I. Journey describing applications of oxone in synthetic chemistry // *Chem. Rev.* 2013. V. 113, No 5. P. 3329–3371. <https://doi.org/10.1021/cr3004373>.
23. Ruano J.L.G., Bercial F., Fraile A., Castro A.M.M., Martin M.R. Stereoselectivity control in Diels–Alder reactions of 4-thiosubstituted 5-alkoxyfuranones: Synthesis and reactivity of enantiopure 4-sulfinyl and sulfonyl 5-(*l*-menthyloxy)furan-2(5H)-ones // *Tetrahedron: Asymmetry*. 2000. V. 11, No 23. P. 4737–4752. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(00\)00471-7](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(00)00471-7).

24. *Mata E.G.* Recent advances in the synthesis of sulfoxides from sulfides // *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* 1996. V. 117, No 1. P. 231–286. <https://doi.org/10.1080/10426509608038790>.
25. *Гордон А., Форд Р.* Спутник химика: Физико-химические свойства, методики, библиография. М.: Мир, 1976. 541 с.
26. *Sheldrick G.M.* SHELXT – integrated space-group and crystal-structure determination // *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Adv.* 2015. V. 71, Pt. 1. P. 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053273314026370>.
27. *Sheldrick G.M.* Crystal structure refinement with SHELXL // *Acta Crystallogr., Sect. C: Struct. Chem.* 2015. V. 71, Pt. 1. P. 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
28. *Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J., Howard J.A.K., Puschmann H.* OLEX2: A complete structure solution, refinement and analysis program // *J. Appl. Crystallogr.* 2009. V. 42, No 2. P. 339–341. <https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>.
29. *Spek A.L.* Structure validation in chemical crystallography // *Acta Crystallogr., Sect. D: Biol. Crystallogr.* 2009. V. 65, Pt. 2. P. 148–155. <https://doi.org/10.1107/S0907744490804362X>.
30. *Kayumov A.R., Khakimullina E.N., Sharafutdinov I.S., Trizna E.Y., Latypova L.Z., Hoang T.L., Margulis A.B., Bogachev M.I., Kurbangalieva A.R.* Inhibition of biofilm formation in *Bacillus subtilis* by new halogenated furanones // *J. Antibiot.* 2015. V. 68, No 5. P. 297–301. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.143>.
31. *Leclercq R., Cantón R., Brown D.F.J., Giske C.G., Heisig P., MacGowan A.P., Mouton J.W., Nordmann P., Rodloff A.C., Rossolini G.M., Soussy C.-J., Steinbakk M., Winstanley T.G., Kahlmeter G.* EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing // *Clin. Microbiol. Infect.* 2013. V. 19, No 2. P. 141–160. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x>.
32. *O'Toole G.A., Kolter R.* Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: A genetic analysis // *Mol. Microbiol.* 1998. V. 28, No 3. P. 449–461. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>.

Поступила в редакцию 02.04.2024

Принята к публикации 30.04.2024

Хабибрахманова Алсу Мунавировна, кандидат химических наук, научный сотрудник НИЛ биофункциональной химии Химического института имени А.М. Бутлерова

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: AMHabibrahmanova@kpfu.ru

Фаизова Роза Гумеровна, младший научный сотрудник НИЛ биофункциональной химии Химического института имени А.М. Бутлерова

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: RoGFaizova@kpfu.ru

Герасимова Дарья Павловна, младший научный сотрудник лаборатории дифракционных методов исследования

Институт органической и физической химии имени А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН»

ул. Академика Арбузова, д. 8, г. Казань, 420088, Россия
E-mail: darya.p.gerasimova@mail.ru

Тризна Елена Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Природные антимикробные препараты» Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: trizna91@mail.ru

Лодочникова Ольга Александровна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник НИЛ биофункциональной химии Химического института имени А.М. Бутлерова; заведующий лабораторией дифракционных методов исследования

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия

Институт органической и физической химии имени А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН»

ул. Академика Арбузова, д. 8, г. Казань, 420088, Россия
E-mail: lod_olga@mail.ru

Каюмов Айрат Рашитович, доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой генетики Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: kairatr@yandex.ru

Латыпова Лилия Зиннуровна, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры органической и медицинской химии Химического института имени А.М. Бутлерова

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: llatypov@kpfu.ru

Курбангалиева Альмира Рафаэловна, кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры органической и медицинской химии Химического института имени А.М. Бутлерова

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: akurbang@kpfu.ru

ISSN 2542-064X (Print)

ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2024, vol. 166, no. 4, pp. 563–589

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.563-589

Optically Active Sulfoxides from 2(5*H*)-Furanone and Monoterpene Alcohols: Synthesis, Structure, and Antibacterial Activity

A.M. Khabibrakhmanova^{a}, R.G. Faizova^{a**}, D.P. Gerasimova^{b***}, E.Y. Trizna^{a****},
O.A. Lodochnikova^{a,b*****}, A.R. Kayumov^{a*****}, L.Z. Latypova^{a*****},
A.R. Kurbanalieva^{a*****}*

^aKazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

^bArbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center,
Russian Academy of Sciences, Kazan, 420088 Russia

E-mail: ^{*}AMHabibrahmanova@kpfu.ru, ^{**}RoGFaizova@kpfu.ru, ^{***}darya.p.gerasimova@mail.ru, ^{****}trizna91@mail.ru, ^{*****}lod_olga@mail.ru, ^{*****}kairatr@yandex.ru, ^{*****}llatypov@kpfu.ru,
^{*****}akurbang@kpfu.ru

Received April 2, 2024; Accepted April 30, 2024

Abstract

A series of optically active 5(*S*)-(1-bornyloxy)- and 5(*S*)-(1-menthyloxy)-2(5*H*)-furanones with an arylthio group at the C(4) position of the γ -lactone ring was synthesized and studied for its oxidation reactions with various reagents. Novel 2(5*H*)-furanone sulfoxides were obtained as mixtures of two diastereoisomers through the oxidation of arylthioethers with *m*-chloroperbenzoic acid (*m*-CPBA) or hydrogen peroxide

in acetic acid. Individual stereoisomers of these sulfoxides were isolated using recrystallization and high-performance liquid chromatography (HPLC) and characterized by IR and NMR spectroscopy. The molecular structures of eight stereoisomerically pure compounds were confirmed by X-ray diffraction (XRD) analysis. The antibacterial activity of the novel sulfoxides against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was assessed, with a number of compounds found to inhibit bacterial growth and biofilm formation in *S. aureus*.

Keywords: 2(5*H*)-furanones, lactones, sulfoxides, oxidation, stereochemistry, optical activity, antibacterial activity, X-ray diffraction analysis

Acknowledgments. This study was supported by the Russian Science Foundation (project no. 23-73-10182, <https://rscf.ru/en/project/23-73-10182/>).

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Scheme 1. Synthesis of optically active sulfoxides. Reagents and conditions: *i.* H₂O₂ (1.7 eq.), AcOH, *t*_{room}, 6 days; *ii.* *m*-CPBA (1.2 eq.), CH₂Cl₂, –15 °C, 3 hours; *iii.* separation of diastereomers.

Fig. 1. ¹H NMR spectra (CDCl₃, 400 MHz) of sulfoxides **24a** (*a*) and **24b** (*b*).

Fig. 2. Molecular geometry of sulfoxides **13a** (*a*), **14a** (*b*), **15a** (*c*), **16a** (*d*), **20b** (*e*), **21b** (*f*), **23b** (*g*), and **24b** (*h*) in the crystal.

References

1. Gangemi C.M.A., D'Agostino E., Aversa M.C., Barattucci A., Bonaccorsi P.M. Sulfoxides and disulfides from sulfenic acids: Synthesis and applications. *Tetrahedron*, 2023, vol. 143, art. 133550. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2023.133550>.
2. Wojaczyńska E., Wojaczyński J. Sulfoxides in medicine. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2023, vol. 76, art. 102340. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2023.102340>.
3. Spyropoulou C.K., Skolia E., Flesariu D.F., Zissimou G.A., Gkizis P.L., Triandafillidi I., Athanasiou M., Itskos G., Koutentis P.A., Kokotos C.G. 3*H*-Phenothiazin-3-one: A photocatalyst for the aerobic photochemical oxidation of sulfides to sulfoxides. *Adv. Synth. Catal.*, 2023, vol. 365, no. 15, pp. 2643–2650. <https://doi.org/10.1002/adsc.202300516>.
4. Salom-Roig X., Bauder C. Recent applications in the use of sulfoxides as chiral auxiliaries for the asymmetric synthesis of natural and biologically active products. *Synthesis*, 2020, vol. 52, no. 7, pp. 964–978. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1690803>.
5. Jia T., Wang M., Liao J. Chiral sulfoxide ligands in asymmetric catalysis. *Top. Curr. Chem.*, 2019, vol. 377, no. 2, art. 8. <https://doi.org/10.1007/s41061-019-0232-9>.
6. Pellissier H. Asymmetric domino reactions. Part A: Reactions based on the use of chiral auxiliaries. *Tetrahedron*, 2006, vol. 62, no. 8, pp. 1619–1665. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.10.040>.
7. Fernandez I., Khair N. Recent developments in the synthesis and utilization of chiral sulfoxides. *Chem. Rev.*, 2003, vol. 103, no. 9, pp. 3651–3705. <https://doi.org/10.1021/cr990372u>.
8. León-Rojas A.F., Urbina-González J.M. Las furan-2[5*H*]-onas (Δ^{α,β}-butenolidas), su preparación e importancia biológica. *Av. Quim.*, 2015, vol. 10, no. 1, pp. 67–78. (In Spanish)
9. Rossi R., Lessi M., Manzini C., Marianetti G., Bellina F. Synthesis and biological properties of 2(5*H*)-furanones featuring bromine atoms on the heterocyclic ring and / or brominated substituents. *Curr. Org. Chem.*, 2017, vol. 21, no. 11, pp. 964–1018. <https://doi.org/10.2174/138527282166617011151917>.
10. Husain A., Khan S.A., Iram F., Iqbal A., Asif M. Insights into the chemistry and therapeutic potential of furanones: A versatile pharmacophore. *Eur. J. Med. Chem.*, 2019, vol. 171, pp. 66–92. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.021>.
11. Villamizar-Mogotocoro A.-F., León-Rojas A.-F., Urbina-González J.-M. Δ^{α,β}-Butenolides [furan-2(5*H*)-ones]: Ring construction approaches and biological aspects – a mini-review. *Mini-Rev. Org. Chem.*, 2020, vol. 17, no. 8, pp. 922–945. <https://doi.org/10.2174/1570193X17666200220130735>.
12. Kayumov A.R., Sharafutdinov I.S., Trizna E.Yu., Bogachev M.I. Chapter 6 – Antistaphylococcal activity of 2(5*H*)-furanone derivatives. In: Yadav M.K., Singh B.P. (Eds.) *New and Future*

- Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms*. Elsevier, 2020, pp. 77–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64279-0.00006-2>.
13. Kurbangalieva A.R., Devyatova N.F., Bogdanov A.V., Berdnikov E.A., Mannafov T.G., Krivolapov D.B., Litvinov I.A., Chmutova G.A. Synthesis of novel arylthio derivatives of mucochloric acid. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 2007, vol. 182, no. 3, pp. 607–630. <https://doi.org/10.1080/10426500601015989>.
 14. Kurbangalieva A.R., Lodochnikova O.A., Devyatova N.F., Berdnikov E.A., Gnezdilov O.I., Litvinov I.A., Chmutova G.A. Structural diversity of interaction products of mucochloric acid and its derivatives with 1,2-ethanedithiol. *Tetrahedron*, 2010, vol. 66, no. 52, pp. 9945–9953. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2010.10.047>.
 15. Khabibrakhmanova A.M., Rabbanieva E.S., Gerasimova D.P., Islamov D.R., Latypova L.Z., Lodochnikova O.A., Kurbangalieva A.R. Optically active bisthioethers and disulfones derived from furan-2(5*H*)-one and dithiols: Synthesis and structure. *Russ. J. Org. Chem.*, 2022, vol. 58, no. 8, pp. 1160–1169. <https://doi.org/10.1134/S1070428022080127>.
 16. Khabibrakhmanova A.M., Faizova R.G., Lodochnikova O.A., Zamalieva R.R., Latypova L.Z., Trizna E.Y., Porfiryev A.G., Tanaka K., Sachenkov O.A., Kayumov A.R., Kurbangalieva A.R. The novel chiral 2(5*H*)-furanone sulfones possessing terpene moiety: Synthesis and biological activity. *Molecules*, 2023, vol. 28, no. 6, art. 2543. <https://doi.org/10.3390/molecules28062543>.
 17. Latypova L.Z., Saigitbatalova E.S., Chulakova D.R., Kurbangalieva A.R., Berdnikov E.A., Chmutova G.A. Sulfides, sulfones, and sulfoxides of the furan-2(5*H*)-one series. Synthesis and structure. *Russ. J. Org. Chem.*, 2014, vol. 50, no. 4, pp. 521–534. <https://doi.org/10.1134/S1070428014040149>.
 18. Khabibrakhmanova A.M., Rabbanieva E.S., Gerasimova D.P., Lodochnikova O.A., Latypova L.Z., Kurbangalieva A.R. Oxidation of chiral 2(5*H*)-furanone bis-thioethers to disulfoxides. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 1, pp. 133–148. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2023.1.133-148>. (In Russian)
 19. Sharafutdinov I.S., Trizna E.Y., Baydamshina D.R., Ryzhikova M.N., Sibgatullina R.R., Khabibrakhmanova A.M., Latypova L.Z., Kurbangalieva A.R., Rozhina E.V., Klinger-Stobel M., Fakhrullin R.F., Pletz M.W., Bogachev M.I., Kayumov A.R., Makarewicz O. Antimicrobial effects of sulfonyl derivative of 2(5*H*)-furanone against planktonic and biofilm associated methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus*. *Front. Microbiol.*, 2017, vol. 8, art. 2246. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02246>.
 20. Sharafutdinov I.S., Pavlova A.S., Akhatova F.S., Khabibrakhmanova A.M., Rozhina E.V., Romanova Y.J., Fakhrullin R.F., Lodochnikova O.A., Kurbangalieva A.R., Bogachev M.I., Kayumov A.R. Unraveling the molecular mechanism of selective antimicrobial activity of 2(5*H*)-furanone derivative against *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, no. 3, art. 694. <https://doi.org/10.3390/ijms20030694>.
 21. Sulaiman R., Trizna E., Kolesnikova A., Khabibrakhmanova A., Kurbangalieva A., Bogachev M., Kayumov A. Antimicrobial and biofilm-preventing activity of *l*-borneol possessing 2(5*H*)-furanone derivative F131 against *S. aureus*–*C. albicans* mixed cultures. *Pathogens*, 2023, vol. 12, no. 1, art. 26. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010026>.
 22. Hussain H., Green I.R., Ahmed I. Journey describing applications of oxone in synthetic chemistry. *Chem. Rev.*, 2013, vol. 113, no. 5, pp. 3329–3371. <https://doi.org/10.1021/cr3004373>.
 23. Ruano J.L.G., Bercial F., Fraile A., Castro A.M.M., Martín M.R. Stereoselectivity control in Diels–Alder reactions of 4-thiosubstituted 5-alkoxyfuranones: Synthesis and reactivity of enantio-pure 4-sulfinyl and sulfonyl 5-(*l*-menthyloxy)furan-2(5*H*)-ones. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, vol. 11, no. 23, pp. 4737–4752. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(00\)00471-7](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(00)00471-7).
 24. Mata E.G. Recent advances in the synthesis of sulfoxides from sulfides. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 1996, vol. 117, no. 1, pp. 231–286. <https://doi.org/10.1080/10426509608038790>.
 25. Gordon A., Ford R. *Sputnik khimika: Fiziko-khimicheskie svoistva, metodiki, bibliografiya* [The Chemist’s Companion: A Handbook of Practical Data, Techniques, and References]. Moscow, Mir, 1976. 541 p. (In Russian)
 26. Sheldrick G.M. *SHELXT* – integrated space-group and crystal-structure determination. *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Adv.*, 2015, vol. 71, pt. 1, pp. 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053273314026370>.

27. Sheldrick G.M. Crystal structure refinement with *SHELXL*. *Acta Crystallogr., Sect. C: Struct. Chem.*, 2015, vol. 71, pt. 1, pp. 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.
28. Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J., Howard J.A.K., Puschmann H. *OLEX2*: A complete structure solution, refinement and analysis program. *J. Appl. Crystallogr.*, 2009, vol. 42, no. 2, pp. 339–341. <https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>.
29. Spek A.L. Structure validation in chemical crystallography. *Acta Crystallogr., Sect. D: Biol. Crystallogr.*, 2009, vol. 65, pt. 2, pp. 148–155. <https://doi.org/10.1107/S090744490804362X>.
30. Kayumov A.R., Khakimullina E.N., Sharafutdinov I.S., Trizna E.Y., Latypova L.Z., Hoang T.L., Margulis A.B., Bogachev M.I., Kurbangalieva A.R. Inhibition of biofilm formation in *Bacillus subtilis* by new halogenated furanones. *J. Antibiot.*, 2015, vol. 68, no. 5, pp. 297–301. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.143>.
31. Leclercq R., Cantón R., Brown D.F.J., Giske C.G., Heisig P., MacGowan A.P., Mouton R.W., Nordmann P., Rodloff A.C., Rossolini G.M., Soussy C.-J., Steinbakk M., Winstanley T.G., Kahlmeter G. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2013, vol. 19, no. 2, pp. 141–160. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x>.
32. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: A genetic analysis. *Mol. Microbiol.*, 1998, vol. 28, no. 3, pp. 449–461. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>.

Для цитирования: Хабибрахманова А.М., Фаизова Р.Г., Герасимова Д.П., Тризна Е.Ю., Лодочникова О.А., Каюмов А.Р., Латыпова Л.З., Курбангалиева А.Р. Оптически активные сульфоксиды на основе 2(5H)-фуранона и монотерпеновых спиртов: синтез, строение и антибактериальная активность // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 4. С. 563–589. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.563-589>.

For citation: Khabibrakhmanova A.M., Faizova R.G., Gerasimova D.P., Trizna E.Y., Lodochnikova O.A., Kayumov A.R., Latypova L.Z., Kurbangalieva A.R. Optically active sulfoxides from 2(5H)-furanone and monoterpene alcohols: synthesis, structure, and antibacterial activity. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 4, pp. 563–589. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.563-589>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 620.22:620.17

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.590-607

ПОРОШКОВЫЕ ЭПОКСИ-БЕНЗОКСАЗИНОВЫЕ СВЯЗУЮЩИЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ АРМИРОВАННЫХ КОМПОЗИТОВ С ГРАДИЕНТОМ МАТРИЦЫ

*Р.Р. Амиров¹, К.А. Андрианова², В.С. Никитин², И.С. Антипин¹,
Л.М. Амирова²*

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

²Казанский национальный исследовательский технический университет
им. А.Н. Туполева – КАИ, г. Казань, 420111, Россия

Аннотация

На основе порошковых эпокси-бензоксазиновых связующих получены углекомпози́ты с градиентом состава связующего по сечению изделия. Изучены реологические, теплофизические и физико-механические свойства материалов, показаны преимущества градиентных составов для регулирования параметров технологического процесса как на стадии получения консолидированных пластин, так и на стадии получения изделия методом прессования. Оптимизированы технологические процессы получения сухих препрегов путем электростатического напыления порошковых связующих на углеткань с последующим оплавлением, процессы консолидации препрегов в пластины в вакуумном мешке и прессования изделия из полученных консолидированных пластин. На примере порошковых композиций на основе бензоксазина, термопластичного полимера, эпоксисоволачной и эпоксидиановой смол показана возможность получения градиентного углекомпози́та с высокими физико-механическими и теплофизическими свойствами. Предложены составы связующих с градиентом компонентов, установлено положительное влияние градиента матрицы на компенсацию температурного градиента термпрессования.

Ключевые слова: функционально-градиентный композит, эпоксидные олигомеры, бензоксазины, углеткань, углепластик, реология, консолидированные пластины, физико-механические свойства

Введение

К поверхностным и объемным частям материалов, в том числе и армированных композитов, предъявляются различные требования как на стадии формирования изделия, так и при его эксплуатации. В этом плане наиболее перспективными являются материалы с плавным изменением состава компонентов по сечению изделия – функционально градиентные материалы (ФГМ) [1–3]. В изделиях из ФГМ можно сочетать различные по свойствам материалы (металл – керамика, керамика – полимер, полимер 1 – полимер 2 и т. д.). В то же время в ФГМ отсутствует граница раздела между этими материалами за счет формирования плавного изменения состава. Для дисперсно-наполненных материалов реализовать градиентное распределение компонентов достаточно просто, и для

этого существует большое количество различных методов и разработанных технологических процессов [4–6]. Для композитов, армированных непрерывными волокнами или тканями, традиционные технологии не позволяют осуществить желаемое изменение состава связующего, а предлагаемые в научных статьях методики сложно реализовать на практике [7, 8]. Крайне мало работ и по градиентному плетению или распределению различных по природе армирующих материалов [9, 10].

В качестве матрицы для армированных пластиков большой интерес представляют связующие на основе бензоксазинов, поскольку полибензоксазины имеют высокую теплостойкость, низкий коэффициент теплового расширения, малую усадку при отверждении бензоксазинов, но при этом полимеры на основе бензоксазинов недостаточно прочные, сами бензоксазины при комнатной температуре твердые, а их расплавы имеют слишком высокую вязкость [11–14]. Для улучшения свойств (повышение прочностных характеристик, снижение вязкости) бензоксазины часто модифицируют различными олигомерами, в том числе низковязкими эпоксидными олигомерами [15–17]. Однако при смешении с эпоксидными олигомерами бензоксазины плохо растворяются и склонны к кристаллизации [18], кроме того, вязкость связующих слишком высока даже при использовании активных разбавителей, поэтому часто при разработке композитов применяется препреговая технология [19]. Тем не менее при получении препрега также требуется снижать вязкость связующего в процессе пропитки ткани, например, повышая его температуру, что может приводить к частичному сшиванию связующего и в дальнейшем – к ухудшению технологического процесса получения композита.

В последние годы стал возрастать интерес к технологиям с использованием порошковых связующих, в том числе и эпоксидных [20–22]. Так, начали получать препреги (“towpreg”) для 3D-печати электростатическим напылением порошковых связующих на углеродные жгуты [23, 24]. В то же время проведенный нами поиск показал отсутствие работ по напылению термореактивных связующих на ткани. Сухие тканые препреги имеют ряд достоинств, и их можно было бы использовать для получения твердых консолидированных пластин с последующим термопрессованием изделий по аналогии с методами термоформования консолидированных пластин на основе термопластичных связующих [25–27]. В отличие от традиционных методов формования, таких как инъекция связующего в закрытую форму (Resin Transfer Moulding (RTM)), инфузия и др., получение консолидированных пластин и последующее прессовое термоформование изделий можно легко автоматизировать. Применение прессования востребовано при изготовлении малогабаритных изделий, для которых нерентабельно использовать формование в вакуумном мешке или в автоклаве. Кроме того, порошковые технологии позволяют получать композиты с градиентом состава связующего, если использовать в консолидированной пластине сухие препреги с плавным изменением его состава. Таким образом, разработка порошковых эпокси-бензоксазиновых связующих, изготовление консолидированных пластин и термопрессование композитных изделий являются актуальными задачами.

В настоящей работе изучены процессы консолидации препрегов, получаемых электростатическим напылением порошков эпокси-бензоксазиновых связующих с плавно изменяющимся составом, для выявления влияния градиента состава связующего на температурный интервал консолидации, а также особен-

ности термопрессования градиентных пластин по сравнению с консолидированными пластинами со связующими одного состава.

Целями данной работы являются получение порошковых эпокси-бензоксазиновых связующих для создания углепластиков, в том числе с градиентом состава матрицы по сечению изделия, оптимизация режима консолидации и термопрессования консолидированных пластин, а также определение физико-механических свойств получаемых углепластиков и сравнительный анализ углепластиков с градиентом и без градиента состава связующего.

1. Материалы и методы

Порошковые связующие получали с использованием следующих твердых смол: эпоксидиановая смола на основе бисфенола А марки D.E.R.671 (Dow Chemical Company, США), эпоксिनволачная смола марки D.E.N.439 (Dow Chemical Company, США), бензоксазин на основе бисфенола А, параформа и анилина (ВА-а) (рис. 1), синтезированный безрастворным методом [18], по методике, предложенной в работе [28].

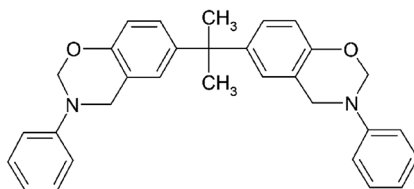


Рис. 1. Бензоксазин на основе бисфенола А, параформа и анилина (ВА-а)

Масс-спектры реакционных смесей получали на Agilent iFunnel 6550 Q-TOF LC/MS (Agilent Technologies, США). Интенсивный пик соответствует целевому соединению $[C_{31}H_{31}N_2O_2]^+$ m/z 463.2390 (теоретическое значение m/z 463.2380), также фиксируется пик, соответствующий димеризованному бисбензоксазину $[C_{62}H_{61}N_4O_4]^+$ m/z 925.4681.

ИК-спектры синтезированного бензоксазина регистрировали на приборе TENSOR 27 (Bruker, Германия), которые совпали с литературными данными [28, 29]. Для получения композиций использовали реакционные смеси без очистки.

Для повышения ударной вязкости композитов в порошковые связующие добавляли высокотемпературный термопластичный полимер полиэфиримид (ПЭИ) Ultem 1000 (Sabic, Саудовская Аравия). Для получения углепластиков использовали углеткань УТР1000-3-200С2 (ООО «Ниагара», Россия) саржевого переплетения 2×2 на основе угленити марки Tenax TM-E HTS45 E23 3K 200tex (Toho Tenax, Япония).

Порошковые связующие на основе бензоксазина и эпоксидных смол с добавлением ПЭИ получали с использованием ультрацентрифужной мельницы ZM 200 (Retsch, Германия) и двухшнекового смесителя Scientific LTE 16-40 (Labtech Engineering, Таиланд). Составы эпокси-бензоксазиновых композиций получали с различным соотношением компонентов, выбранные составы приведены в табл. 1.

Табл. 1

Содержание компонентов порошковых композиций

Номер композиции	Состав связующего, масс. %			
	BA-a	D.E.R.671	D.E.N.439	ПЭИ
1	60	0	30	10
2	55	10	27	8
3	50	20	24	6
4	45	30	21	4
5	40	40	18	2
6	35	60	5	0

Распределение частиц порошковых связующих по размеру контролировали на оптическом микроскопе OLYMPUS GX51 (Olympus, Япония). Размер частиц измеряли вручную, обрабатывая фотоизображения с помощью программы обработки и анализа изображений Altami Studio. Для получения распределения по размерам количество частиц составляло более 500.

Реологические свойства эпокси-бензоксазиновых смесей определяли на ротационном динамическом реометре RheoStress 6000 (Haake, Германия) с помощью системы «плоскость-плоскость» в режиме осцилляции. Полученные результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения HAAKE RheoWin Job Manager (Haake, Германия).

Краевой угол смачивания углеродоволокна частицами оплавленного порошка связующего, нанесенного без электростатического поля и в электростатическом поле, измеряли на приборе DSA20 EasyDrop (Kruss, Германия).

Процесс отверждения связующих изучали на дифференциальном сканирующем калориметре модели 204 F1 Phoenix (Netzsch, Германия) по ISO 11357-5 при скоростях нагрева 1.0, 2.5 и 5.0 °C/мин. Кинетический анализ проводили на основе данных дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) с применением программного обеспечения Thermokinetics 3 (Netzsch, Германия) в соответствии с рекомендациями из работы [30].

Для определения теплостойкости образцы отвержденных полимеров различного состава получали в виде брусков 60×10×2 мм и исследовали с помощью метода динамического механического анализа на приборе DMA Q800 (TA Instruments, США), согласно ASTM E 1640-94 [31], при деформации с амплитудой 0.1 %, частотой 1 Гц и скоростью нагрева 5 °C/мин.

Электростатическое напыление полимера на углеткань проводили в переносном комплексе для нанесения порошковых покрытий «МИНИСТАРТ» (POLYTEX, Россия) с помощью пистолета-распылителя порошковой краски СТАРТ-50. Углеткань закрепляли в токопроводящей рамке и подсоединяли к токопроводнику камеры. Связующее напыляли на обе стороны углеткани, затем напыленную ткань нагревали до температуры оплавления порошка связующего и охлаждали. Полученные сухие препреги использовали для получения консолидированных пластин как с однородным, так и с изменяющимся составом. В этом случае в одной пластине в определенном порядке соединяли препреги со связующими различного состава.

Консолидацию препрегов проводили следующим образом: на металлическую пластину, покрытую антиадгезионной смазкой, укладывали 12 слоев сухих

препрегов $0^\circ \times 90^\circ$, собирали вакуумный мешок, создавали вакуум с остаточным давлением 5 мбар и поднимали температуру до $100\text{--}120^\circ\text{C}$ со скоростью $5^\circ\text{C}/\text{мин}$. По окончании консолидации систему охлаждали со скоростью $5^\circ\text{C}/\text{мин}$ до комнатной температуры, после чего сухие твердые пластины извлекали из вакуумного мешка. Для изучения консолидации градиентных систем собирали симметричный пакет из 12 слоев с 6 различными составами связующего, с номерами от поверхностей к центру согласно табл. 1.

Коэффициент межслоевого трения в консолидированной пластине оценивали по методике, описанной ранее в работе [32]. Для механических испытаний пластины отверждали под горячим прессом в двухступенчатом режиме: 1 ч при 180°C и 1 ч при 220°C при приложенном давлении 3 бар.

Для изготовления тестового изделия (купол) методом термоформования консолидированную пластину закрепляли в раме на пружинных растяжках, нагревали до $100\text{--}120^\circ\text{C}$, помещали в пресс и проводили отверждение по описанной выше для пластин методике. После охлаждения изделие извлекали из пресса.

Механические испытания образцов углепластиков проводили на электромеханической универсальной испытательной машине Instron 5882 (Instron, США) при усилии 100 кН. Ударную вязкость углепластиков определяли по ГОСТ 4647-2015 [33] с помощью маятникового копра ТСКМ-50 (ООО «Тестсистемы», Россия).

2. Результаты и их обсуждение

2.1. Получение порошковых связующих и изучение их свойств. На рис. 2, *а* приведена типичная микрофотография с распределением частиц порошковых эпокси-бензоксазиновых композиций по размеру. Установлено, что средний диаметр частиц составляет около 15 мкм и отсутствуют частицы с диаметром более 70 мкм (рис. 2, *б*). Такое распределение позволяет качественно напылять порошки на углеткань и проводить дальнейшую пропитку путем оплавления порошка.

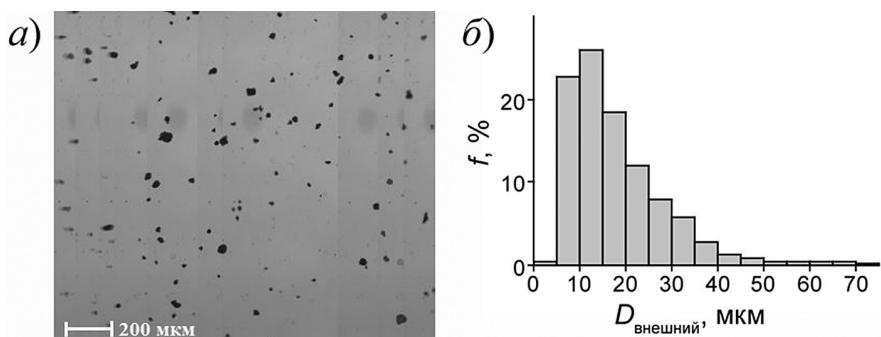


Рис. 2. Микроскопический анализ порошков: *а*) микрофотография; *б*) распределение частиц порошков по размерам

Реологические свойства расплава связующих играют важную роль на стадиях пропитки ткани при оплавлении связующего и получения консолидированных пластин и термопрессования. На рис. 3, *а* приведены зависимости вязкости композиций от температуры при скорости нагрева $5^\circ\text{C}/\text{мин}$, из которых видно, что с увеличением содержания бензоксазина в композиции кривые сдвигаются в область более высоких температур. Это необходимо учитывать при выборе и

оптимизации температурного режима для термопрессования и получения консолидированных пластин.

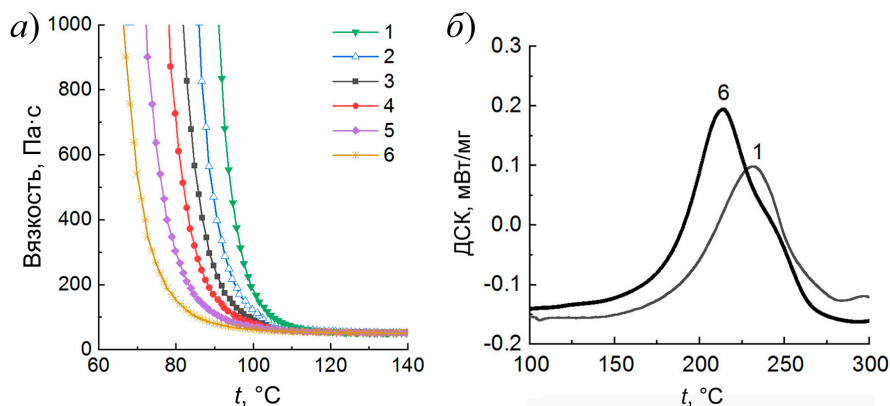


Рис. 3. Температурные зависимости вязкости композиций № 1–6 (а) и ДСК-кривые композиций № 1 и № 6 (б). Скорость нагрева 5 °С/мин

Для оптимизации режима термопрессования необходимо изучить процесс отверждения эпокси-бензоксазиновых композиций. На рис. 3, б в качестве примера представлены ДСК-кривые для композиций № 1 и № 6. При переходе от композиции № 1 к композиции № 6 температура начала и максимума отверждения немного сдвигается в область более высоких температур, что следует учитывать в дальнейшем при оптимизации режима термопрессования консолидированных пластин с градиентом состава связующего.

Выбор оптимального режима отверждения проводили из анализа ДСК-кривых с использованием программного обеспечения Thermokinetics на основании модельных подходов неізотермической кинетики с использованием уравнения Камала–Соро (уравнение Kamal–Sourour). Для эпокси-бензоксазиновых полимеров, отвержденных по оптимальному режиму (1 ч при 180 °С и 1 ч при 220 °С), изучена теплостойкость с помощью динамического механического анализа (рис. 4).

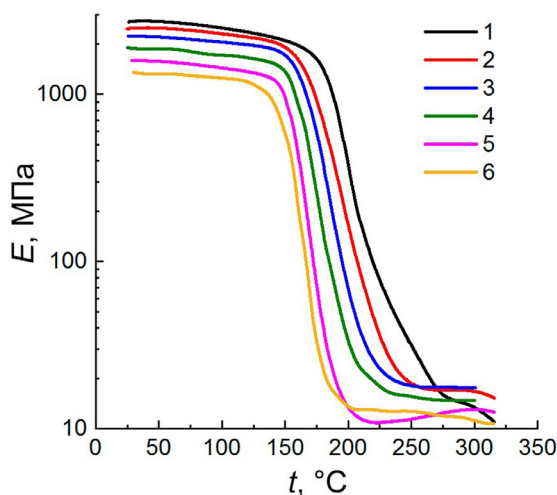


Рис. 4. Температурные зависимости динамического модуля эпокси-бензоксазиновых полимеров

Из полученных данных следует, что температура стеклования полученных полимеров имеет высокие значения (около 200 °С) и увеличивается при переходе от композиции № 1 к композиции № 6. Таким образом, на основе рассматриваемых связующих можно получить теплостойкие углепластики. Кроме того, при получении композита с градиентом состава связующего в поверхностных слоях необходимо использовать составы с более высокой температурой стеклования, так как поверхностные слои прогреваются в большей степени и в основном определяют теплостойкость композита.

2.2. Получение консолидированных пластин на основе порошковых связующих. Полученные порошки эпокси-бензоксазиновых композиций с различным соотношением компонентов напыляли в электростатическом поле на углеткань, закрепленную электропроводящей рамкой в установке для напыления. После напыления ткань нагревали до температуры, соответствующей минимуму вязкости данного связующего на графике температурной зависимости (рис. 3, а), при этом расплав связующего пропитывал ткань. Микрофотографии углеткани без напыления и с напыленным и оплавленным связующим представлены на рис. 5.

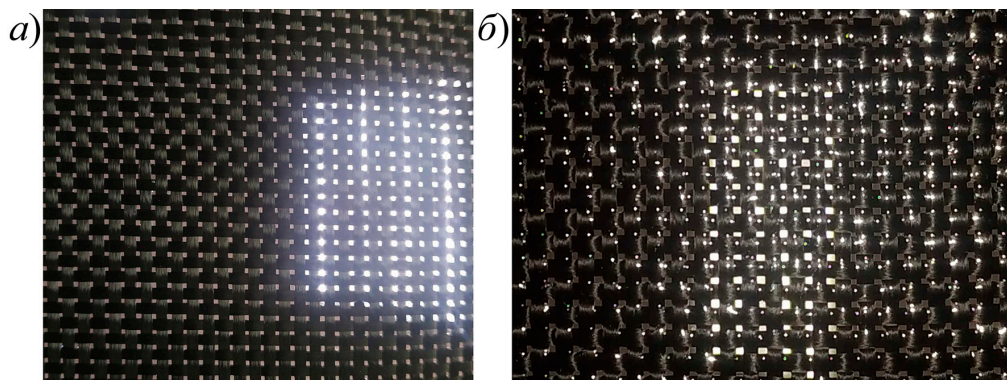


Рис. 5. Микрофотографии углеткани: а) без напыления; б) с напыленным и оплавленным связующим

Как видно на рис. 5, б, связующее равномерно проникает в межволоконное пространство без заливки межнитяных отверстий. Измерения краевого угла смачивания показали снижение угла с примерно 80° при обычном напылении до 40° при напылении в электростатическом поле. Этот эффект можно объяснить тем, что во втором случае волокно и наносимый на него полимер имеют противоположные заряды, за счет чего достигается лучшее сцепление волокна с частицами полимера и их последующее растекание по волокну после оплавления. Таким образом, достигнутую высокую степень пропитки можно объяснить почти двукратным улучшением смачивания волокна при напылении в электростатическом поле.

Для оптимизации режима консолидации проводили имитацию консолидации на ротационном реометре. На рис. 6 показано изменение толщины пакета из 12 листов препрегов с композициями № 1–6 (табл. 1) при подъеме температуры со скоростью 5 °С/мин. Показано, что температура полной консолидации практически коррелирует с температурой минимальной вязкости (рис. 3, а). По полученным данным было рассчитано изменение объемного содержания волокна в

процессе консолидации (рис. 6). Объемное содержание волокна (V_f) рассчитывали по ГОСТ 56682-2015 [34] согласно уравнению 1:

$$V_f = \frac{0.1AN}{\rho h} \times 100\%, \quad (1)$$

где A – масса одного слоя армирующего наполнителя на единицу площади (200 г/м²), N – число слоев армирующего наполнителя в образце для испытаний (12 слоев), ρ – плотность волокна (1.78 г/см³), h – толщина технологического пакета, мм.

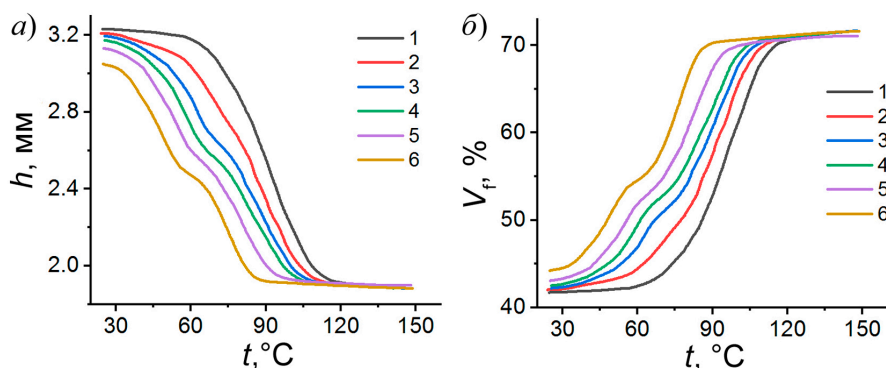


Рис. 6. Изменение толщины технологического пакета h (а) и объемного содержания волокна V_f (б) в процессе консолидации пластин на основе композиций № 1–6

Из рис. 6 видно, что при завершении консолидации объемное содержание волокна практически не зависит от состава связующего. Некоторый разброс в начальной толщине и объемном содержании связан с незначительным отличием в количестве напыленного связующего и различным начальным уплотнением твердых препрегов. Для консолидации пластин необходимо использовать температуру, при которой вязкость связующего принимает минимальное значение, а для выбора температуры консолидации пластины с изменяющимся составом связующего необходимо изучить процесс ее консолидации.

Имитацию консолидации градиентной пластины проводили на симметричном пакете из 12 листов, номера слоев на рис. 7, а соответствуют номерам композиций в табл. 1. Рис. 7, б отражает характер изменения параметров h и V_f в процессе консолидации градиентной пластины. Температура начала консолидации градиентной пластины практически совпадает с температурой начала консолидации пластины на основе композиции № 1, а температура конца консолидации градиентной пластины сдвинута в сторону более низких значений и практически совпадает с температурой конца консолидации пластины на основе композиции № 6. Такое поведение обусловлено последовательностью прогрева слоев. В процессе консолидации сначала прогреваются наружные слои, т. е. слои градиентной пластины, состоящие из композиции № 1, что и определяет температуру начала консолидации. Внутренние слои в пластинах прогреваются с запозданием, а так как они в градиентной пластине соответствуют композиции № 6, то и температура завершения процесса консолидации соответствует температуре завершения консолидации пластины с композицией № 6. Таким образом, процесс консолидации градиентной пластины проходит в более узком интервале температур, поскольку

температура консолидации внутренних слоев ниже, чем внешних. Следовательно, использование пластин с градиентом состава связующего сокращает время консолидации, что, в свою очередь, исключает перегрев внешних слоев.

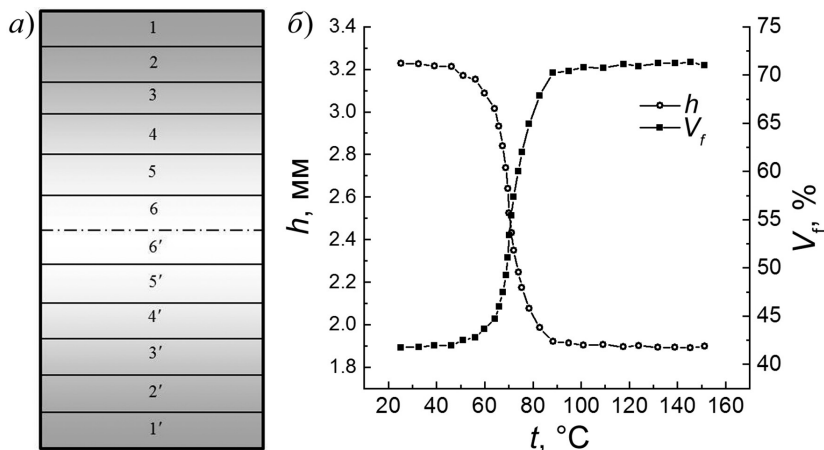


Рис. 7. Консолидация градиентной углепластиковой пластины: а) схема пластины; б) изменение толщины технологического пакета (h) и объемного содержания волокна (V_f) в процессе консолидации пластины

Изучение влияния давления консолидации показало, что создаваемое в вакуумном мешке остаточное давление является достаточным для обеспечения полной консолидации как градиентных, так и неградиентных пластин на основе изученных составов связующих. Таким образом, пластины необходимых размеров для изучения механических характеристик углепластиков и исследования термопрессования тестового изделия (купол) можно получать в вакуумном мешке.

Собранный вакуумный мешок и готовая консолидированная пластина, полученная в режиме, выбранном по результатам имитации, представлены на рис. 8.

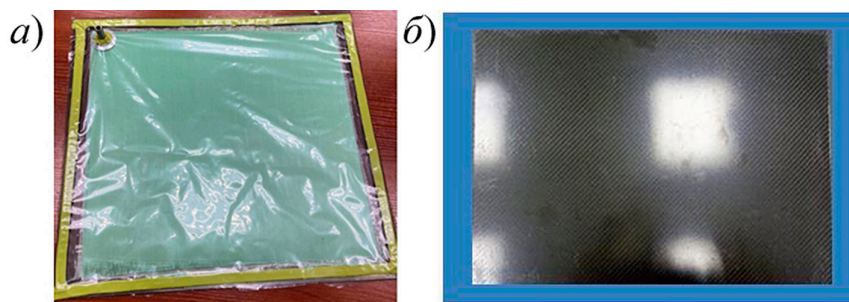


Рис. 8. Консолидация пластин: а) собранный вакуумный мешок; б) готовая пластина

Консолидированные неотвержденные и отвержденные в вакуумном мешке пластины использовали в дальнейшем для изучения процесса прессования и для механических испытаний соответственно.

2.3. Термопрессование консолидированных пластин. Для прессования изделия полученные консолидированные пластины, закрепленные в передвижной раме на пружинах, предварительно нагревали с помощью инфракрасных ламп до температуры 120 °С. Затем их прессовали при давлении 3 бар при начальной

температуре оснастки (пресса) 180 °С с последующим ее подъемом до 220 °С со скоростью 5 °С/мин и выдерживанием при данной температуре в течение 1 ч. Необходимо отметить, что при прессовании изделий сложной геометрии в градиентном образце по сравнению с однородными образцами образуется значительно меньше сморщиваний и складок. Это можно объяснить меньшим разбросом коэффициента трения между слоями препрегов в градиентной пластине, благодаря более близким значениям вязкости в слоях при наличии градиента температуры. В пластинах с однородными матрицами из-за температурного градиента возникает различие в вязкости и, соответственно, в межслоевом коэффициенте трения. Этот вывод можно сделать, проанализировав данные, представленные на рис. 9 и 3, а. Известно, что вязкость связующего определяет характер трения [35–37], и для обеспечения трения со смазкой ее значение должно быть стабильно в слоях и находиться в интервале значений 75–500 Па·с.

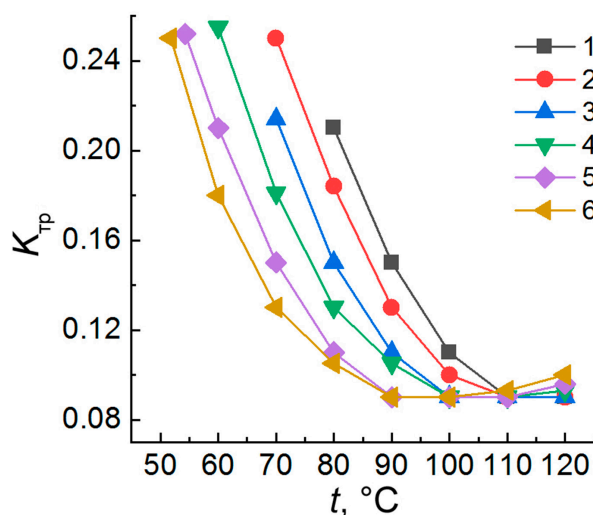


Рис. 9. Температурная зависимость межслоевого коэффициента трения в консолидированных пластинах

Таким образом, градиент концентрации компонентов, благодаря возможности компенсации температурного градиента градиентом вязкости в слоях, позволяет улучшать процесс термопрессования.

Для механических испытаний были получены плоские листы, результаты испытаний которых на растяжение, изгиб и удар представлены в табл. 2. Из полученных данных видно, что состав связующего влияет на механические свойства композита, в частности, с понижением концентрации бензоксазина снижается модуль упругости композита, но при этом повышается его прочность. На ударную вязкость сильное влияние оказывает концентрация термопластичного полимера, с увеличением которой ударная вязкость возрастает. При выборе состава градиентной пластины эти зависимости были учтены и составы связующего в слоях подобраны таким образом, чтобы градиентный композит имел наилучшее сочетание свойств. Для этого наружные слои градиентного композита содержали большее количество бензоксазина и термопластичного полимера, концентрация которых при переходе к внутренним слоям постепенно снижалась.

Табл. 2

Результаты механических испытаний углепластиков на основе эпокси-бензоксазиновых композиций и градиентного углепластика

Номер композиции	Растяжение		Изгиб		Ударная вязкость по Шарпи (без надреза), Дж/м ²
	Прочность, МПа	Модуль, ГПа	Прочность, МПа	Модуль, ГПа	
1	680 ± 24	66.1 ± 0.7	602 ± 9	63.0 ± 0.4	120 ± 2
2	702 ± 26	64.3 ± 0.8	615 ± 12	62.4 ± 0.7	119 ± 2
3	731 ± 29	63.0 ± 0.6	622 ± 14	60.9 ± 0.9	117 ± 3
4	752 ± 25	61.0 ± 0.9	636 ± 16	60.1 ± 0.9	115 ± 4
5	771 ± 28	60 ± 1	654 ± 15	59 ± 1	112 ± 6
6	779 ± 23	60 ± 1	663 ± 18	58 ± 1	114 ± 9
градиентный	770 ± 24	65.2 ± 0.8	660 ± 8	62.2 ± 0.4	120 ± 2

Как видно, градиентная пластина практически не уступает лучшим образцам исследованных композиций № 1–6 по их наилучшим показателям, а по суммарным показателям превосходит все составы, что объясняется сочетанием в градиентной композиции достаточно высокой жесткости и прочности по всем видам проведенных испытаний, в том числе и по ударной вязкости.

Заключение

Разработаны составы порошковых связующих с использованием бензоксазина ВА-а, эпоксидиановой D.E.R.671 и эпоксिनволачной D.E.N.439 смол и ПЭИ Ultem 1000. Методом электростатического напыления на углеткань получены сухие препреги, изучен процесс их консолидации в пластины, в том числе с изменяющимся по сечению составом связующего. Продемонстрированы достоинства градиентной пластины как на стадии консолидации, так и на стадии термпрессования. Определены физико-механические характеристики (прочность и модуль упругости при растяжении и изгибе, ударная вязкость) углепластиков с градиентной и гомогенными матрицами, показано, что в образцах и изделиях с градиентной матрицей сочетаются теплостойкость и высокие упруго-деформационные, прочностные и ударные характеристики. При прессовании изделий сложной геометрии в градиентном образце по сравнению с однородными образцами образуется значительно меньше сморщиваний и складок вследствие меньшего разброса коэффициента трения между слоями препрегов.

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-23-00133, <https://rscf.ru/project/23-23-00133/>).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Kumar P., Sharma S.K., Singh R.K.R. Recent trends and future outlooks in manufacturing methods and applications of FGM: A comprehensive review // Mater. Manuf. Processes. 2023. V. 38, No 9. P. 1033–1067. <https://doi.org/10.1080/10426914.2022.2075892>.

2. Saleh B., Jiang J., Fathi R., Al-hababi T., Xu Q., Wang L., Song D., Ma A. 30 Years of functionally graded materials: An overview of manufacturing methods,

- applications and future challenges // *Composites, Part B*. 2020. V. 201. Art. 108376. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2020.108376>.
3. *Boggarapu V., Gujjala R., Ojha S., Acharya S., Venkateswara babu P., Chowdary S., Gara D.k.* State of the art in functionally graded materials // *Compos. Struct.* 2021. V. 262. Art. 113596. <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2021.113596>.
4. *Parihar R.S., Setti S.G., Sahu R.K.* Recent advances in the manufacturing processes of functionally graded materials: A review // *Sci. Eng. Compos. Mater.* 2018. V. 25, No 2. P. 309–336. <https://doi.org/10.1515/secm-2015-0395>.
5. *Loknath D., Ravindra Kumar V.M.* A review on processing and characterization of bulk functionally graded polymer materials // *Mater. Today*. 2022. V. 56, Pt. 3. P. 1192–1200. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.11.152>.
6. *Andrianova K.A., Sidorov I.N., Amirova L.M.* Modeling and study of properties distribution in graded polymer materials // *Results Eng.* 2023. V. 19. Art. 101299. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2023.101299>.
7. *Kumar S., Murthy Reddy K.V.V.S., Kumar A., Rohini Devi G.* Development and characterization of polymer–ceramic continuous fiber reinforced functionally graded composites for aerospace application // *Aerosp. Sci. Technol.* 2013. V. 26, No 1. P. 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.ast.2012.04.002>.
8. *Андрюанова К.А., Халиков А.А., Беззаметнов О.Н., Амирова Л.М.* Функционально-градиентный углепластик на основе эпоксидной матрицы, модифицированной термоэластопластом // *Вопросы материаловедения*. 2023. № 3 (115). С. 170–177. <https://doi.org/10.22349/1994-6716-2023-115-3-170-177>.
9. *Huang Z.-M., Wang Q., Ramakrishna S.* Tensile behaviour of functionally graded braided carbon fibre/epoxy composite material // *Polym. Polym. Compos.* 2002. V. 10, No 4. P. 307–314. <https://doi.org/10.1177/096739110201000406>.
10. *Sidorov I.N., Andrianova K.A., Gaifutdinov A.M., Usmonov R.S., Amirova L.M.* Modeling and experimental investigations of mechanical properties of hybrid composite rods with gradient composition // *Mater. Today Commun.* 2024. V. 39. Art. 108738. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2024.108738>.
11. *Hsu C.-s., Hwang P.-Y.* The water uptake, thermal and mechanical properties, and aging resistance to thermo- oxidation of phenylboronic acid-modified benzoxazine-glass fiber composites // *J. Appl. Polym. Sci.* 2022. V. 139, No 19. Art. 52135. <https://doi.org/10.1002/app.52135>.
12. *Сиротин И.С., Петракова В.В., Киреев В.В.* Полибензоксазиновые связующие для полимерных композиционных материалов // *Пластические массы*. 2022. Т. 1, № 5–6. С. 4–12. <https://doi.org/10.35164/0554-2901-2022-5-6-4-12>.
13. *Каблов Е.Н., Валуева М.И., Зеленина И.В., Хмельницкий В.В., Алексакин В.М.* Углепластики на основе бензоксазиновых олигомеров – перспективные материалы // *Труды ВИАМ*. 2020. № 1 (85). С. 68–77. <https://doi.org/10.18577/2307-6046-2020-0-1-68-77>.
14. *Winroth S., Scott C., Ishida H.* Structure and performance of benzoxazine composites for space radiation shielding // *Molecules*. 2020. V. 25, No 18. Art. 4346. <https://doi.org/10.3390/molecules25184346>.
15. *Liu L., Wang F., Zhu Y., Qi H.* Degradable Schiff base benzoxazine thermosets with high glass transition temperature and its high- performance epoxy alloy: Synthesis and properties // *Polym. Adv. Technol.* 2023. V. 34, No 1. P. 405–418. <https://doi.org/10.1002/pat.5899>.
16. *Casarino A.F., Bortolato S.A., Casis N., Estenoz D.A., Spontón M.E.* Novel polybenzoxazine and polybenzoxazine/epoxy thermosetting copolymers containing polysilsesquioxane

- nanostructures for high-performance thermal protection systems // *Eur. Polym. J.* 2023. V. 182. Art. 111722. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111722>.
17. Liu L., Wang F., Zhu Y., Qi H. Study on properties of copolymers based on different types of benzoxazines and branched epoxy resins // *High Perform. Polym.* 2023. V. 35, No 3. P. 238–250. <https://doi.org/10.1177/09540083221125862>.
18. Антипин И.С., Амирова Л.М., Андрианова К.А., Мадиярова Г.М., Шумилова Т.А., Казымова М.А., Амиров Р.Р. Безрастворный синтез бензоксазиновых мономеров различного строения и полимеры на их основе // *Вестник Технологического университета.* 2023. Т. 26, № 9. С. 17–25. https://doi.org/10.55421/1998-7072_2023_26_9_17.
19. Bornosuz N.V., Korotkov R.F., Shutov V.V., Sirotin I.S., Gorbunova I.Y. Benzoxazine copolymers with mono- and difunctional epoxy active diluents with enhanced tackiness and reduced viscosity // *J. Compos. Sci.* 2021. V. 5, No 9. Art. 250. <https://doi.org/10.3390/jcs5090250>.
20. Mamalis D., Floreani C., Brádaigh C.M.Ó. Influence of hygrothermal ageing on the mechanical properties of unidirectional carbon fibre reinforced powder epoxy composites // *Compos. B. Eng.* 2021. V. 225. Art. 109281. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2021.109281>.
21. Mamalis D., Murray J.J., McClements J., Tsikritsis D., Koutsos V., McCarthy E.D., Brádaigh C.M.Ó. Novel carbon-fibre powder-epoxy composites: Interface phenomena and interlaminar fracture behaviour // *Compos. B. Eng.* 2019. V. 174. Art. 107012. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107012>.
22. Floreani C., Robert C., Alam P., Davies P., Brádaigh C.M.Ó. Mixed-mode interlaminar fracture toughness of glass and carbon fibre powder epoxy composites – for design of wind and tidal turbine blades // *Materials.* 2021. V. 14, No 9. Art. 2103. <https://doi.org/10.3390/ma14092103>.
23. Çelik M., Noble T., Jorge F., Jian R., Brádaigh C.M.Ó., Robert C. Influence of line processing parameters on properties of carbon fibre epoxy towpreg // *J. Compos. Sci.* 2022. V. 6, No 3. Art. 75. <https://doi.org/10.3390/jcs6030075>.
24. Zhang H., Zhang K., Li A., Wan L., Robert C., Brádaigh C.M.Ó., Yang D. 3D printing of continuous carbon fibre reinforced powder-based epoxy composites // *Compos. Commun.* 2022. V. 33. Art. 101239. <https://doi.org/10.1016/j.coco.2022.101239>.
25. Brooks R.A., Wang H., Ding Z., Xu J., Song Q., Liu H., Dear J.P., Li N. A review on stamp forming of continuous fibre-reinforced thermoplastics // *Int. J. Lightweight Mater. Manuf.* 2022. V. 5, No 3. P. 411–430. <https://doi.org/10.1016/j.ijlmm.2022.05.001>.
26. Akkerman R., Haanappel S. Chapter 12 – Thermoplastic stamp forming // Harper L., Clifford M. (Eds.) *Design and Manufacture of Structural Composites*. Ser.: Woodhead Publishing Series in Composites Science and Engineering. Cambridge: Woodhead Publ., 2023. P. 301–321. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-05165-8>.
27. Соловьев Р.И., Балькаев Д.А., Амирова Л.М. Термоформование изделий из консолидированных листовых заготовок на основе армированного стеклотканью полипропилена // *Известия высших учебных заведений. Авиационная техника.* 2024. № 1. С. 183–191. <https://doi.org/10.3103/S1068799824010215>.
28. Ishida H. Chapter 1 – Overview and historical background of polybenzoxazine research // Ishida H., Agag T. (Eds.) *Handbook of Benzoxazines Resins*. Amsterdam: Elsevier, 2011. P. 3–81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53790-4.00046-1>.
29. Ohashi S., Ishida H. Chapter 1 – Various synthetic methods of benzoxazine monomers // Ishida H., Froimowicz P. (Eds.) *Advanced and Emerging Polybenzoxazine Science and Technology*. Amsterdam: Elsevier, 2017. P. 3–8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804170-3.00001-9>.

30. *Vyazovkin S., Achilias D., Fernandez-Francos X., Galukhin A., Sbirrazzuoli N.* ICTAC Kinetics Committee recommendations for analysis of thermal polymerization kinetics // *Thermochim. Acta.* 2022. V. 714. Art. 179243. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2022.179243>.
31. ASTM E1640-1994 Standard Test Method for Assignment of the Glass Transition Temperature by Dynamic Mechanical Analysis. West Conshohocken, PA: ASTM Int., 1994. 5 p.
32. *Соловьев Р.И., Сафин А.Р., Балькаев Д.А., Батраков В.В., Амирова Л.М.* Определение формообразующего поведения термопластичных композиционных материалов для моделирования термоформования // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов.* 2023. Т. 89, № 7. С. 61–70. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2023-89-7-61-70>.
33. ГОСТ 4647-2015 Пластмассы. Метод определения ударной вязкости по Шарпи. М.: Стандартинформ, 2017. 18 с.
34. ГОСТ Р 56682-2015 Композиты полимерные и металлические. Методы определения объема матрицы, армирующего наполнителя и пустот. М.: Стандартинформ, 2016. 24 с.
35. *Yuan H., Khan M., Qian C., Reynolds N., Kendall K.* Experimental and numerical investigation of the intra-ply shear behaviour of unidirectional prepreg forming through picture-frame test // *Composites, Part B.* 2023. V. 266. Art. 111036. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2023.111036>.
36. *Bai R., Chen B., Colmars J., Boisse P.* Physics-based evaluation of the drapability of textile composite reinforcements // *Composites, Part B.* 2022. V. 242. Art. 110089. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2022.110089>.
37. *Rashidi A., Crawford B., Olfatbakhsh T., Milani A.S.* A mixed lubrication model for inter-ply friction behaviour of uncured fabric prepregs // *Composites, Part A.* 2021. V. 149. Art. 106571. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2021.106571>.

Поступила в редакцию 30.07.2024

Принята к публикации 23.08.2024

Амиров Рустэм Рафаэлевич, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой неорганической химии Химического института им. А.М. Бутлерова

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: ramirov@kpfu.ru

Андреанова Кристина Александровна, кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры производства летательных аппаратов

Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева – КАИ
ул. Толстого, д. 15, г. Казань, 420111, Россия
E-mail: tina_a@mail.ru

Никитин Вадим Сергеевич, аспирант кафедры производства летательных аппаратов

Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева – КАИ
ул. Толстого, д. 15, г. Казань, 420111, Россия
E-mail: vadim98@mail.ru

Антипин Игорь Сергеевич, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры органической и медицинской химии Химического института им. А.М. Бутлерова

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: iantipin54@yandex.ru

Амирова Лилия Миннихмедовна, доктор химических наук, профессор кафедры производства летательных аппаратов

Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева – КАИ
ул. Толстого, д. 15, г. Казань, 420111, Россия
E-mail: amirovaliliyam@mail.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.590-607

**Epoxy-Benzoxazine Powder Binders for Producing
Reinforced Composites with a Matrix Gradient***R.R. Amirov^{a*}, K.A. Andrianova^{b**}, V.S. Nikitin^{b***}, I.S. Antipin^{a****}, L.M. Amirova^{b*****}*^a*Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia*^b*Kazan National Research Technical University named after A.N. Tupolev – KAI,
Kazan, 420111 Russia*E-mail: ^{*}*ramirov@kpfu.ru*, ^{**}*tina_a@mail.ru*, ^{***}*vadim98@mail.ru*, ^{****}*iantipin54@yandex.ru*,
^{*****}*amirovaliliyam@mail.ru*

Received July 30, 2024; Accepted August 23, 2024

Abstract

Carbon composites with graded binder distribution along the product cross-section were developed using epoxy-benzoxazine powder binders. Their rheological, thermophysical, and physicomechanical properties were analyzed. It was demonstrated that graded compositions offer certain advantages in providing control over the parameters of the production process, both during the plate consolidation and the final product formation by pressing. The production of dry prepreps by electrostatic spraying of powder binders on carbon fiber followed by melting, the consolidation of prepreps into plates by vacuum bagging, and subsequent pressing of the plates to obtain the product were optimized. The feasibility of producing a graded carbon composite with enhanced physicomechanical and thermophysical properties was revealed for powder compositions based on benzoxazine, thermoplastic polymer, and epoxy-novolac and epoxy resins. Binder compositions with a gradient of components were proposed. A positive effect of the matrix gradient on lowering the temperature gradient during thermal pressing was confirmed.

Keywords: functionally graded composite, epoxy oligomers, benzoxazines, carbon fiber, carbon fiber reinforced plastic, rheology, consolidated plates, physicomechanical properties

Acknowledgments. This study was supported by the Russian Science Foundation (project no. 23-23-00133, <https://rscf.ru/project/23-23-00133/>).

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

- Fig. 1. Benzoxazine based on bisphenol A, paraformaldehyde, and aniline (BA-a).
Fig. 2. Microscopic analysis of the powders: *a*) microphotograph; *b*) powder particle size distribution.
Fig. 3. Temperature dependences of viscosity for compositions 1–6 (*a*) and DSC curves for compositions 1 and 6 (*b*). Heating rate: 5 °C/min.
Fig. 4. Temperature dependences of storage modulus for the epoxy-benzoxazine polymers.
Fig. 5. Microphotographs of the carbon fiber: *a*) without spraying; *b*) with sprayed and melted binder.
Fig. 6. Changes in the lay-up thickness *h* (*a*) and volumetric fiber content V_f (*b*) during the consolidation of plates based on compositions 1–6.
Fig. 7. Consolidation of the graded carbon fiber plate: *a*) plate diagram; *b*) changes in the lay-up thickness (*h*) and volumetric fiber content (V_f) during the plate consolidation.
Fig. 8. Consolidation of plates: *a*) assembled vacuum bag; *b*) final plate.
Fig. 9. Temperature dependence of the interlayer friction coefficient in the consolidated plates.

References

1. Kumar P., Sharma S.K., Singh R.K.R. Recent trends and future outlooks in manufacturing methods and applications of FGM: A comprehensive review. *Mater. Manuf. Processes*, 2023, vol. 38, no. 9, pp. 1033–1067. <https://doi.org/10.1080/10426914.2022.2075892>.
2. Saleh B., Jiang J., Fathi R., Al-hababi T., Xu Q., Wang L., Song D., Ma A. 30 Years of functionally graded materials: An overview of manufacturing methods, applications and future challenges. *Composites, Part B*, 2020, vol. 201, art. 108376. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2020.108376>.
3. Boggarapu V., Gujjala R., Ojha S., Acharya S., Venkateswara babu P., Chowdary S., Gara D.k. State of the art in functionally graded materials. *Compos. Struct.*, 2021, vol. 262, art. 113596. <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2021.113596>.
4. Parihar R.S., Setti S.G., Sahu R.K. Recent advances in the manufacturing processes of functionally graded materials: A review. *Sci. Eng. Compos. Mater.*, 2018, vol. 25, no. 2, pp. 309–336. <https://doi.org/10.1515/secm-2015-0395>.
5. Loknath D., Ravindra Kumar V.M. A review on processing and characterization of bulk functionally graded polymer materials. *Mater. Today*, 2022, vol. 56, pt. 3, pp. 1192–1200. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.11.152>.
6. Andrianova K.A., Sidorov I.N., Amirova L.M. Modeling and study of properties distribution in graded polymer materials. *Results Eng.*, 2023, vol. 19, art. 101299. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2023.101299>.
7. Kumar S., Murthy Reddy K.V.V.S., Kumar A., Rohini Devi G. Development and characterization of polymer–ceramic continuous fiber reinforced functionally graded composites for aerospace application. *Aerosp. Sci. Technol.*, 2013, vol. 26, no. 1, pp. 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.ast.2012.04.002>.
8. Andrianova K.A., Khalikov A.A., Bezzametnov O.N., Amirova L.M. Functional-gradient carbon fiber-reinforced plastic based on epoxy matrix modified with thermoplastic elastoplast. *Vopr. Materialoved.*, 2023, no. 3 (115), pp. 170–177. <https://doi.org/10.22349/1994-6716-2023-115-3-170-177>. (In Russian)
9. Huang Z.-M., Wang Q., Ramakrishna S. Tensile behaviour of functionally graded braided carbon fibre/epoxy composite material. *Polym. Polym. Compos.*, 2002, vol. 10, no. 4, pp. 307–314. <https://doi.org/10.1177/096739110201000406>.
10. Sidorov I.N., Andrianova K.A., Gaifutdinov A.M., Usmonov R.S., Amirova L.M. Modeling and experimental investigations of mechanical properties of hybrid composite rods with gradient composition. *Mater. Today Commun.*, 2024, vol. 39, art. 108738. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2024.108738>.
11. Hsu C.-s., Hwang P.-Y. The water uptake, thermal and mechanical properties, and aging resistance to thermo-oxidation of phenylboronic acid-modified benzoxazine-glass fiber composites. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2022, vol. 139, no. 19, art. 52135. <https://doi.org/10.1002/app.52135>.
12. Sirotin I.S., Petrakova V.V., Kireev V.V. Polybenzoxazine binders for polymeric composite materials. *Plast. Massy*, 2022, vol. 1, nos. 5–6, pp. 4–12. <https://doi.org/10.35164/0554-2901-2022-5-6-4-12>. (In Russian)
13. Kablov E.N., Valueva M.I., Zelenina I.V., Khmel'nitskiy V.V., Aleksashin V.M. Carbon plastics based on benzoxazine oligomers – promising materials. *Tr. VIAM*, 2020, no. 1 (85), pp. 68–77. <https://doi.org/10.18577/2307-6046-2020-0-1-68-77>. (In Russian)
14. Winroth S., Scott C., Ishida H. Structure and performance of benzoxazine composites for space radiation shielding. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 18, art. 4346. <https://doi.org/10.3390/molecules25184346>.
15. Liu L., Wang F., Zhu Y., Qi H. Degradable Schiff base benzoxazine thermosets with high glass transition temperature and its high- performance epoxy alloy: Synthesis and properties. *Polym. Adv. Technol.*, 2023, vol. 34, no. 1, pp. 405–418. <https://doi.org/10.1002/pat.5899>.
16. Casarino A.F., Bortolato S.A., Casis N., Estenoz D.A., Spontón M.E. Novel polybenzoxazine and polybenzoxazine/epoxy thermosetting copolymers containing polysilsesquioxane nanostructures for high-performance thermal protection systems. *Eur. Polym. J.*, 2023, vol. 182, art. 111722. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111722>.

17. Liu L., Wang F., Zhu Y., Qi H. Study on properties of copolymers based on different types of benzoxazines and branched epoxy resins. *High Perform. Polym.*, 2023, vol. 35, no. 3, pp. 238–250. <https://doi.org/10.1177/09540083221125862>.
18. Antipin I.S., Amirova L.M., Andrianova K.A., Madiyarova G.M., Shumilova T.A., Kazymova M.A., Amirov R.R. Solutionless synthesis of benzoxazine monomers of different structures and polymers based on them. *Vestn. Tekhnol. Univ.*, 2023, vol. 26, no. 9, pp. 17–25. https://doi.org/10.55421/1998-7072_2023_26_9_17. (In Russian)
19. Bornosuz N.V., Korotkov R.F., Shutov V.V., Sirotin I.S., Gorbunova I.Y. Benzoxazine copolymers with mono- and difunctional epoxy active diluents with enhanced tackiness and reduced viscosity. *J. Compos. Sci.*, 2021, vol. 5, no. 9, art. 250. <https://doi.org/10.3390/jcs5090250>.
20. Mamalis D., Floreani C., Brádaigh C.M.Ó. Influence of hygrothermal ageing on the mechanical properties of unidirectional carbon fibre reinforced powder epoxy composites. *Composites, Part B*, 2021, vol. 225, art. 109281. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2021.109281>.
21. Mamalis D., Murray J.J., McClements J., Tsikritsis D., Koutsos V., McCarthy E.D., Brádaigh C.M.Ó. Novel carbon-fibre powder-epoxy composites: Interface phenomena and interlaminar fracture behaviour. *Composites, Part B*, 2019, vol. 174, art. 107012. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107012>.
22. Floreani C., Robert C., Alam P., Davies P., Brádaigh C.M.Ó. Mixed-mode interlaminar fracture toughness of glass and carbon fibre powder epoxy composites – for design of wind and tidal turbine blades. *Materials*, 2021, vol. 14, no. 9, art. 2103. <https://doi.org/10.3390/ma14092103>.
23. Çelik M., Noble T., Jorge F., Jian R., Brádaigh C.M.Ó., Robert C. Influence of line processing parameters on properties of carbon fibre epoxy towpreg. *J. Compos. Sci.*, 2022, vol. 6, no. 3, art. 75. <https://doi.org/10.3390/jcs6030075>.
24. Zhang H., Zhang K., Li A., Wan L., Robert C., Brádaigh C.M.Ó., Yang D. 3D printing of continuous carbon fibre reinforced powder-based epoxy composites. *Compos. Commun.*, 2022, vol. 33, art. 101239. <https://doi.org/10.1016/j.coco.2022.101239>.
25. Brooks R.A., Wang H., Ding Z., Xu J., Song Q., Liu H., Dear J.P., Li N. A review on stamp forming of continuous fibre-reinforced thermoplastics. *Int. J. Lightweight Mater. Manuf.*, 2022, vol. 5, no. 3, pp. 411–430. <https://doi.org/10.1016/j.ijlmm.2022.05.001>.
26. Akkerman R., Haanappel S. Chapter 12 – Thermoplastic stamp forming. In: Harper L., Clifford M. (Eds.) *Design and Manufacture of Structural Composites*. Ser.: Woodhead Publishing Series in Composites Science and Engineering. Cambridge, Woodhead Publ., 2023, pp. 301–321. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-05165-8>.
27. Solov'ev R.I., Bal'kaev D.A., Amirova L.M. Thermoforming of products from consolidated sheet blanks based on the polypropylene reinforced by the fiberglass. *Russ. Aeronaut.*, 2024, vol. 67, no. 1, pp. 183–191. <https://doi.org/10.3103/S1068799824010215>.
28. Ishida H. Chapter 1 – Overview and historical background of polybenzoxazine research. In: Ishida H., Agag T. (Eds.) *Handbook of Benzoxazines Resins*. Amsterdam, Elsevier, 2011, pp. 3–81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53790-4.00046-1>.
29. Ohashi S., Ishida H. Chapter 1 – Various synthetic methods of benzoxazine monomers. In: Ishida H., Froimowicz P. (Eds.) *Advanced and Emerging Polybenzoxazine Science and Technology*. Amsterdam, Elsevier, 2017, pp. 3–8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804170-3.00001-9>.
30. Vyazovkin S., Achilias D., Fernandez-Francos X., Galukhin A., Sbirrazzuoli N. ICTAC Kinetics Committee recommendations for analysis of thermal polymerization kinetics. *Thermochim. Acta*, 2022, vol. 714, art. 179243. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2022.179243>.
31. ASTM E1640-1994 Standard Test Method for Assignment of the Glass Transition Temperature by Dynamic Mechanical Analysis. West Conshohocken, PA, ASTM Int., 1994. 5 p.
32. Solov'ev R.I., Safin A.R., Balkaev D.A., Batrakov V.V., Amirova L.M. Determining the shaping behavior of thermoplastic composite materials required for thermoforming simulation. *Zavod. Lab., Diagn. Mater.*, 2023, vol. 89, no. 7, pp. 61–70. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2023-89-7-61-70>. (In Russian)
33. State Standard 4647-2015. Plastics. A method for determining Charpy impact strength. Moscow, Standartinform, 2017. 18 p. (In Russian)

34. State Standard R 56682-2015. Polymer and metal composites. Methods for determining matrix volume, reinforcing filler, and voids. Moscow, Standartinform, 2016. 24 p. (In Russian)
35. Yuan H., Khan M., Qian C., Reynolds N., Kendall K. Experimental and numerical investigation of the intra-ply shear behaviour of unidirectional prepreg forming through picture-frame test. *Composites, Part B*, 2023, vol. 266, art. 111036. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2023.111036>.
36. Bai R., Chen B., Colmars J., Boisse P. Physics-based evaluation of the drapability of textile composite reinforcements. *Composites, Part B*, 2022, vol. 242, art. 110089. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2022.110089>.
37. Rashidi A., Crawford B., Olfatbakhsh T., Milani A.S. A mixed lubrication model for inter-ply friction behaviour of uncured fabric prepreps. *Composites, Part A*, 2021, vol. 149, art. 106571. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2021.106571>.

⟨ **Для цитирования:** Амиров Р.Р., Андрианова К.А., Никитин В.С., Антипин И.С., Амирова Л.М. Порошковые эпокси-бензоксазиновые связующие для получения армированных композитов с градиентом матрицы // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 4. С. 590–607. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.590-607>. ⟩

⟨ **For citation:** Amirov R.R., Andrianova K.A., Nikitin V.S., Antipin I.S., Amirova L.M. Epoxy-benzoxazine powder binders for producing reinforced composites with a matrix gradient. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 4, pp. 590–607. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.590-607>. (In Russian) ⟩

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 547-326+54.058

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.608-622

СИНТЕЗ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОЛЕКАРСТВЕННЫХ БИФАРМАКОФОРНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НА ОСНОВЕ ПИРИДОКСИНА И КЕТОРОЛАКА

*М.В. Пугачев, Н.В. Штырлин, М.Н. Агафонова, О.С. Васильева,
Е.М. Фафанова, Ю.Г. Штырлин*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

Синтезированы пролекарственные бифармакофорные противовоспалительные средства на основе пиридоксина и кеторолака. Разработана лабораторная методика получения этих соединений без привлечения колоночной хроматографии с чистотой более 98 %. По сравнению с лекарственным препаратом кеторолаком трометамином, являющимся самым эффективным неопиодным анальгетиком, оба соединения менее токсичны (LD_{50} более 2000 мг/кг) и обладают сопоставимой анальгетической активностью на модели острого термического раздражения.

Ключевые слова: пиридоксин, кеторолак, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), анальгетическая активность, безопасность.

Введение

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), такие как кеторолак, кетопрофен, ибупрофен, диклофенак, индометацин, напроксен и некоторые другие, являются одним из наиболее употребляемых в мире типов лекарственных средств. НПВП, блокируя синтез простагландинов непосредственно в месте воспаления, обладают противовоспалительным, анальгезирующим и жаропонижающим действием [1]. Однако эти препараты обладают и существенными побочными эффектами со стороны желудочно-кишечного тракта (прежде всего гастротоксичностью), выделительной, сердечно-сосудистой и кроветворной систем [2–4]. В связи с этим разработка высокоэффективных и безопасных НПВП является актуальной задачей современного здравоохранения во всем мире.

Одним из перспективных подходов в разработке безопасных противовоспалительных лекарственных средств является создание пролекарственных соединений путем защиты карбоксильной группы НПВП с последующим высвобождением в организме активных метаболитов [5]. В медицинской химии наиболее часто используют модификацию карбоксильной группы НПВП с получением сложных эфиров [6–8], амидов [9, 10], ангидридов [11], ацеталей [12] и др. [13]. Действительно, в этом случае существенно повышается безопасность НПВП, но при этом значительно снижаются противовоспалительная и анальгетическая ак-

тивность. По этой причине известные в литературе пролекарственные НПВП в клиническую практику не внедрены.

Ранее в НОЦ фармацевтики КФУ было разработано пролекарственное противовоспалительное средство KFU-01 (рис. 1), содержащее в своей структуре фрагмент пиридоксина и четыре фрагмента лекарственного средства напроксена [14–16].

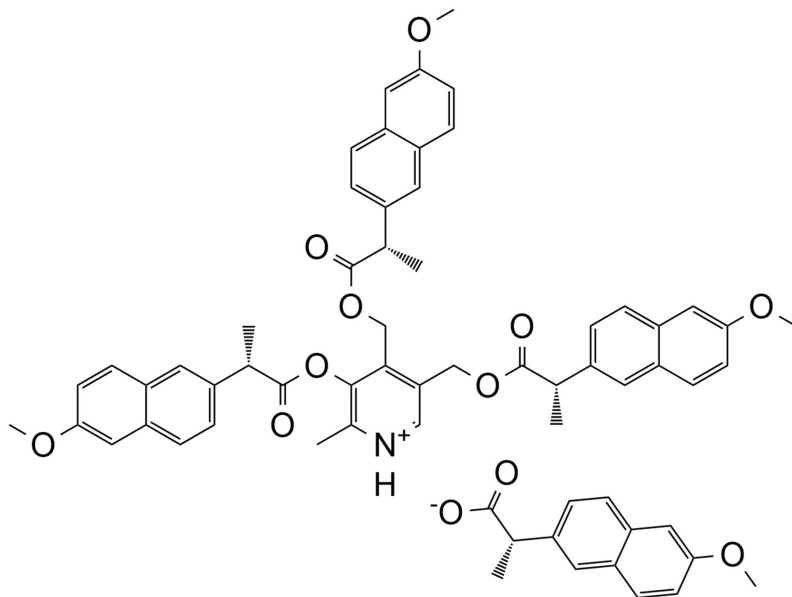


Рис. 1. Структура противовоспалительного лекарственного средства KFU-01

В результате успешно проведенных доклинических исследований в рамках ФЦП «Фарма-2020» показано, что KFU-01 при попадании в организм гидролизуетсЯ с высвобождением пиридоксина и НПВП – напроксена. Постепенно высвобождающиеся пиридоксин и напроксен оказывают синергетический фармакологический эффект и приводят к практически полному преодолению главной проблемы токсических эффектов всех НПВП– язвенности. По сравнению с высокими токсическими эффектами напроксена ($UD_{50} = 49$ мг/кг, $LD_{50} = 620$ мг/кг [14]), KFU-01 в опытах на крысах при пероральном введении практически полностью устраняет язвенность ($UD_{50} > 2000$ мг/кг) и другие токсические эффекты ($LD_{50} > 5000$ мг/кг). При этом по своей противовоспалительной активности KFU-01 превосходит лекарственный препарат напроксен. Однако анальгетическая активность KFU-01 остается весьма умеренной и значительно уступает кеторолаку – самому мощному из всех НПВП ненаркотическому анальгетику короткого действия [17].

Для кеторолака, как и для других НПВП, наблюдаются серьезные побочные эффекты, такие как эрозивно-язвенные поражения желудочно-кишечного тракта, нарушение функции почек, метаболический ацидоз и др. [18–20]. В продолжение систематических работ по синтезу и исследованию биологических свойств производных пиридоксина [15, 16] в настоящей работе синтезированы пролекарственные противовоспалительные средства на основе пиридоксина и кеторолака, а также изучены их токсичность и анальгетическая активность *in vitro* и *in vivo*.

1. Экспериментальная часть

1.1. Приборы и условия проведения эксперимента. Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C регистрировали на приборе Bruker Avance 400WB (Bruker Corporation, Германия) при рабочих частотах 400.13 и 100.62 МГц на ядрах ^1H и ^{13}C соответственно. В качестве внутреннего стандарта в спектрах ^1H и ^{13}C использовали сигналы трихлорметана (δH 7.26 и δC 77.16 м.д. соответственно).

Масс-спектрометрическое детектирование в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) проводили с помощью масс-спектрометра высокого разрешения TripleTOF 5600 (AB Sciex, Сингапур) в условиях ионизации электростатическим распылением (турбоионный спрей) при энергии столкновения с молекулами азота 10 еВ. Для анализа использовали растворы веществ в метаноле.

Температуры плавления продуктов определяли на приборе Stanford Research Systems MPA-100 OptiMelt (Stanford Research Systems, США). Хроматографическую очистку полученных соединений проводили с использованием колоночной хроматографии на силикагеле Acros (60–200 меш) (Acros Organics, Бельгия). Контроль за ходом реакций и чистотой соединений проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинах Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ (ООО «ИМИД», Россия).

Аналитическая обращенно-фазовая ВЭЖХ с УФ-детектированием реализована на колонке Atlantis T3 C18 (5 мкм, 150×4.6 мм) от Waters (США) в режиме градиентного элюирования (0 мин А:В = 55:45, 10 мин А:В = 55:45, 20 мин А:В = 10:90) при скорости потока 1.0 мл/мин. В качестве элюента А использован 1%-ный водный раствор уксусной кислоты, а элюента В – ацетонитрил. ВЭЖХ-анализ проводили при 40 °С в течение 20 мин с детектированием при длине волны 314 нм.

1.2. Методика получения пиридоксина (1). Триэтиламин (8.50 мл, 60.8 ммоль) добавляли к суспензии пиридоксина гидрохлорида (5.00 г, 24.3 ммоль) в дихлорметане (150 мл), после чего реакционную смесь интенсивно перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Далее осадок отфильтровывали и двукратно промывали дихлорметаном порциями по 50 мл. Полученный осадок высушивали досуха при пониженном давлении. Выход составил 3.7 г (90 %), получено белое кристаллическое вещество.

1.3. Методика получения кеторолака (2). Концентрированную соляную кислоту (13.0 мл, 133 ммоль) по каплям добавляли к раствору кеторолака трометамина (50.0 г, 133 ммоль) в воде (250 мл), после чего реакционную смесь интенсивно перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Выпавший осадок отфильтровывали и дважды промывали водой порциями по 250 мл.

Далее проводили переосаждение полученного продукта **2**: к полученному осадку приливали 250 мл воды и интенсивно перемешивали до образования однородной суспензии, после чего по каплям добавляли 1.7 М водный раствор NaOH до pH = 8. Нерастворившийся осадок отфильтровывали, а фильтрат подкисляли концентрированной соляной кислотой до pH = 2. Выпавший осадок отфильтровывали и промывали водой (2 раза по 250 мл).

Процедуру переосаждения повторяли еще 2 раза, после чего выпавший осадок высушивали досуха при пониженном давлении. Выход составил 27.3 г (81 %), получено белое кристаллическое вещество.

1.4. Получение 5-((5-бензоил-2,3-дигидро-1*H*-пирролизин-1-карбонил)окси)-6-метилпиридин-3,4-диил)бис(метилен)бис(5-бензоил-2,3-дигидро-1*H*-пирролизин-1-карбоксилата) (3).

Методика А: *N,N'*-Дициклогексилкарбодиимид (30.1 г, 146 ммоль) в дихлорметане (100 мл) по каплям добавляли к суспензии пиридоксина гидрохлорида **1** (10.0 г, 48.6 ммоль), кеторолака **2** (37.2 г, 146 ммоль) и 4-(диметиламино)пиридина (6.0 г, 49.1 ммоль) в дихлорметане (350 мл). Далее реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре (условия 1, табл. 1). Затем осадок отфильтровывали, а фильтрат высушивали досуха. Сухой остаток растворяли в минимальном количестве элюента и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент этилацетат-хлороформ в соотношении 1:1).

Выход составил 17.8 г (42 %), получено бежевое кристаллическое вещество, т. пл. 79–81 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ, м.д.: 2.36 (с, 3H, CH₃), 2.37 (с, 3H, CH₃), 2.66–3.10 (м, 12H, 6CH₂CH₂), 3.89–3.96 (м, 2H, 2CH₂CH₂), 4.02–4.07 (м, 2H, 2CH₂CH₂), 4.35–4.67 (м, 14H, 2CH₂CH₂ + 6CH₂CH₂), 5.11–5.25 (м, 4H, 2CH₂O), 5.30–5.39 (м, 4H, 2CH₂O), 5.93–6.02 (м, 4H, 4CH₂^{пиррол}), 6.21–6.22 (м, 2H, 2CH₂^{пиррол}), 6.73–6.80 (м, 4H, 4CH₂^{пиррол}), 6.84–6.85 (м, 2H, 2CH₂^{пиррол}), 7.40–7.56 (м, 18H, 18CH₂^{ар}), 7.75–7.82 (м, 12H, 12CH₂^{ар}), 8.49 (с, 2H, 2CH₂^{пиррол}). ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ, м.д.: 19.84 (2CH₃); 30.98, 31.06, 31.26, 42.23, 42.29, 42.52, 42.62, 47.54, 47.56, 42.64 (6CH₂CH₂); 57.63, 62.11 (4CH₂O); 103.14, 103.20, 103.62, 124.90, 124.98, 125.02, 127.40, 127.71, 128.28, 128.34, 128.96, 128.99, 129.35, 131.61, 131.76, 131.77, 135.15, 138.99, 139.01, 139.11, 139.17, 140.55, 141.39, 141.58, 144.63, 148.33, 153.40 (36C_{ар} + 10C_{пир} + 24C_{пиррол}); 169.05, 170.77 (6C(O)O); 185.04, 185.09, 185.19 (6C(O)). Масс-спектр высокого разрешения: найдено [M+H]⁺ 881.3187. C₅₃H₄₅N₄O₉, рассчитано [M+H]⁺ 881.3181.

Методика Б: Раствор *N,N'*-Дициклогексилкарбодиимида (3.15–3.20 экв) в дихлорметане (50 мл) по каплям добавляли к суспензии пиридоксина **1** (1 экв), кеторолака **2** (3.05–4.0 экв) и 4-(диметиламино)пиридина (0.5–1.0 экв) в дихлорметане (100 мл). После чего реакционную смесь перемешивали при условиях, указанных в табл. 1. Выпавший осадок отфильтровывали, а фильтрат промывали водой (2 раза по 150 мл). Органическую часть отделяли и высушивали досуха.

1.5. Получение 3-((5-бензоил-2,3-дигидро-1*H*-пирролизин-1-карбонил)окси)-4,5-бис(((5-бензоил-2,3-дигидро-1*H*-пирролизин-1-карбонил)окси)метил)-2-метилпиридиний 5-бензоил-2,3-дигидро-1*H*-пирролизин-1-карбоксилата (4). К раствору соединения **3** (7.9 г, 8.97 ммоль) в 100 мл дихлорметана добавляли кеторолак **2** (2.3 г, 8.97 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при кипячении до полного растворения компонентов. Затем удаляли растворитель в вакууме. Выход составил 10.2 г (количественный), получено бежевое кристаллическое вещество, т. пл. 77–80 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ, ppm: 2.36 (с, 3H, CH₃), 2.37 (с, 3H, CH₃), 2.67–3.10 (м, 16H, 8CH₂CH₂), 3.89–3.96 (м, 2H, 2CH₂CH₂), 4.02–4.13 (м, 4H, 4CH₂CH₂), 4.35–4.67 (м, 18H, 2CH₂CH₂ + 8CH₂CH₂), 5.11–5.39 (м, 8H, 4CH₂O),

5.93–6.02 (м, 4Н, 4СН_{пиррол}), 6.14–6.22 (м, 4Н, 4СН_{пиррол}), 6.73–6.79 (м, 4Н, 4СН_{пиррол}), 6.83–6.85 (м, 4Н, 4СН_{пиррол}), 7.40–7.56 (м, 24Н, 24СН_{ар}), 7.75–7.82 (м, 16Н, 16СН_{ар}), 8.52 (с, 2Н, 2СН_{пир}). ¹³С ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ, м.д.: 19.32 (2СН₃); 30.96, 31.04, 31.12, 31.22, 42.20, 42.26, 42.49, 42.58, 47.53, 47.56, 42.63, 47.67 (8СНСН₂СН₂); 57.57, 62.01 (4СН₂О); 103.19, 103.27, 103.41, 103.66, 125.04, 125.09, 125.17, 125.25, 127.22, 127.36, 127.69, 128.25, 128.27, 128.34, 128.96, 128.99, 129.72, 131.51, 131.63, 131.64, 131.79, 131.80, 135.74, 135.76, 138.89, 138.92, 139.01, 139.09, 139.25, 140.54, 140.55, 141.42, 141.65, 142.64, 144.77, 144.79, 147.77, 153.14 (48С_{ар} + 10С_{пир} + 32С_{пиррол}); 168.95, 168.98, 170.69, 170.74 (6С(О)О); 174.74 (2С(О)О⁻); 185.12, 185.16, 185.26 (8С(О)). Масс-спектр высокого разрешения: найдено [М–С₁₅Н₁₂NO₃]⁺ 881.3187. C₅₃H₄₅N₄O₉, рассчитано [М–С₁₅Н₁₂NO₃]⁺ 881.3181.

1.6. Оценка цитотоксичности с помощью МТТ-теста. Клетки культивировали в атмосфере 5%-ного СО₂ при 37 °С в среде α-МЕМ, содержащей феноловый красный, L-глутамин (2 мМ), 10%-ную эмбриональную телячью сыворотку и антибиотик (пенициллин-стрептомицин 100 мкг/мл) до образования монослоя. Для получения клеточной суспензии монослой клеток трипсинизировали и рассеивали в лунки 96-луночного планшета: 4000 клеток в 200 микролитрах культуральной среды. Планшеты с клетками инкубировали в атмосфере 5%-ного СО₂ при 37 °С в течение 24 ч для адгезии клеток к субстрату. Затем добавляли исследуемые соединения, варьируя концентрацию в диапазоне 4–500 мкМ. Через 72 ч к клеткам добавляли раствор красителя 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ), конечная концентрация которого составляла 0.5 мг/мл. Через 2 ч удаляли жидкость, добавляли диметилсульфоксид и измеряли поглощение на планшетном ридере Infinite 200 Pro (Tecan, Швейцария) при 555 нм (референс 700 нм). Строили графики зависимости ингибирования, выраженного в процентах по отношению к контролю, от логарифма концентрации исследуемого соединения и определяли концентрацию полумаксимального ингибирования роста клеток с помощью программного обеспечения OriginPro (OriginLab Corp., США) и Prism 6 (GraphPad Software Inc., США). Исследование проводили трижды в одинаковых условиях.

1.7. Условия содержания животных. Исследование проведено на крысах линии Wistar обоих полов (питомник лабораторных животных ООО «Кролинфо»). Вес особей на момент начала эксперимента составлял не менее 180–220 г. Животных содержали в поликарбонатных клетках, снабженных решетчатой крышкой из нержавеющей стали с углублением для корма, съемным разделителем, поликарбонатной поилкой с крышкой-ниппелем из нержавеющей стали и держателем для этикетки. Крыс кормили комбикормом для содержания лабораторных животных (ООО «Зилубаг», Россия). Животные имели свободный доступ к воде и корму. В качестве подстила использовали подстилочный материал для лабораторных животных – обеспыленный кукурузный подстил (ВетКормТорг, Россия). Клетки с крысами содержали в отдельных комнатах, где поддерживали 12-часовой цикл освещения с автоматическим включением и выключением. Параметры микроклимата были следующими: температура 19–25 °С, относительная влажность 30–70 %. Время адаптации животных перед началом эксперимента составляло не менее 10 дней.

1.8. Исследование острой токсичности *in vivo* проводили в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [21]. Были сформированы группы животных, состоящие из 10 особей (5 самцов и 5 самок), которым проводили однократное внутрижелудочное введение исследуемых соединений в объеме не более 5 мл на 250 г массы тела крысы с применением желудочного зонда. Исследуемые вещества суспензировали в 1%-ном растворе крахмала и вводили животным, лишенным корма на промежуток времени не менее 8 ч, но со свободным доступом к воде. Объем введения рассчитывали индивидуально для каждого животного, основываясь на массе его тела, зарегистрированной непосредственно перед введением вещества. Доступ животных к воде и корму возобновляли через 1 ч после введения соединений. Период индивидуального наблюдения за каждым животным составлял 14 дней. В ходе эксперимента проводили оценку общего состояния (интегральные показатели) и клинический осмотр. После окончания эксперимента животных подвергали эвтаназии методом ингаляции углекислым газом и проводили макроскопический анализ.

1.9. Исследование анальгетической активности в тесте «Горячая пластина» согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [21]. Для проведения теста сформировали группы животных, состоящие из 10 самцов и 10 самок. Исследуемые соединения и препарат сравнения вводили животным однократно внутрижелудочно. По прошествии 1 и 2 ч животных помещали на нагретую до 52 °С металлическую поверхность, окруженную цилиндром (Hot Plate, Ugo Basile), и фиксировали латентное время болевой реакции до первого облизывания крысой задней лапы либо до прыжка. Критерием анальгетического эффекта считали достоверное увеличение латентного периода реакции после введения вещества.

Статистическую обработку результатов проводили на языке программирования R v.3.6.3 в программе RStudio v.1.1.463 (Posit Software, США). Нормальность распределения данных оценивали с помощью теста Шапиро–Уилка. Для выявления статистически достоверных различий показателей между исследуемыми группами сравнения использовали непараметрический тест Краскела–Уоллиса с поправкой на множественное сравнение по методу Бенджамини–Хохберга (при сравнении более двух групп применяли тест Данна). В качестве критического уровня значимости принимали $p < 0.05$.

2. Результаты и их обсуждение

Синтез трис-производного **3** и соли на его основе **4** осуществляли в одну и две стадии соответственно. Трис-производное **3** первоначально получали этерификацией по Стеглиху из фармацевтической субстанции пиридоксина гидрохлорида **1** и известного НПВП – кеторолака **2**, выделенного из фармацевтической субстанции кеторолака трометамин. Реакцию проводили в дихлорметане при комнатной температуре в течение суток с использованием дициклогексилкарбодиимида (DCC) в качестве реагента сочетания и 4-диметиламинопиридина (DMAP) в качестве катализатора. Однако реакция протекала с сильным осмолением реакционной смеси и выделение продукта потребовало дополнительной

очистки путем многократного использования колоночной хроматографии. При этом выход продукта составил всего лишь 42 %. Тетракис-производное **4** получали взаимодействием трис-производного **3** с эквимольным количеством кеторолака **2** с количественным выходом (схема 1).

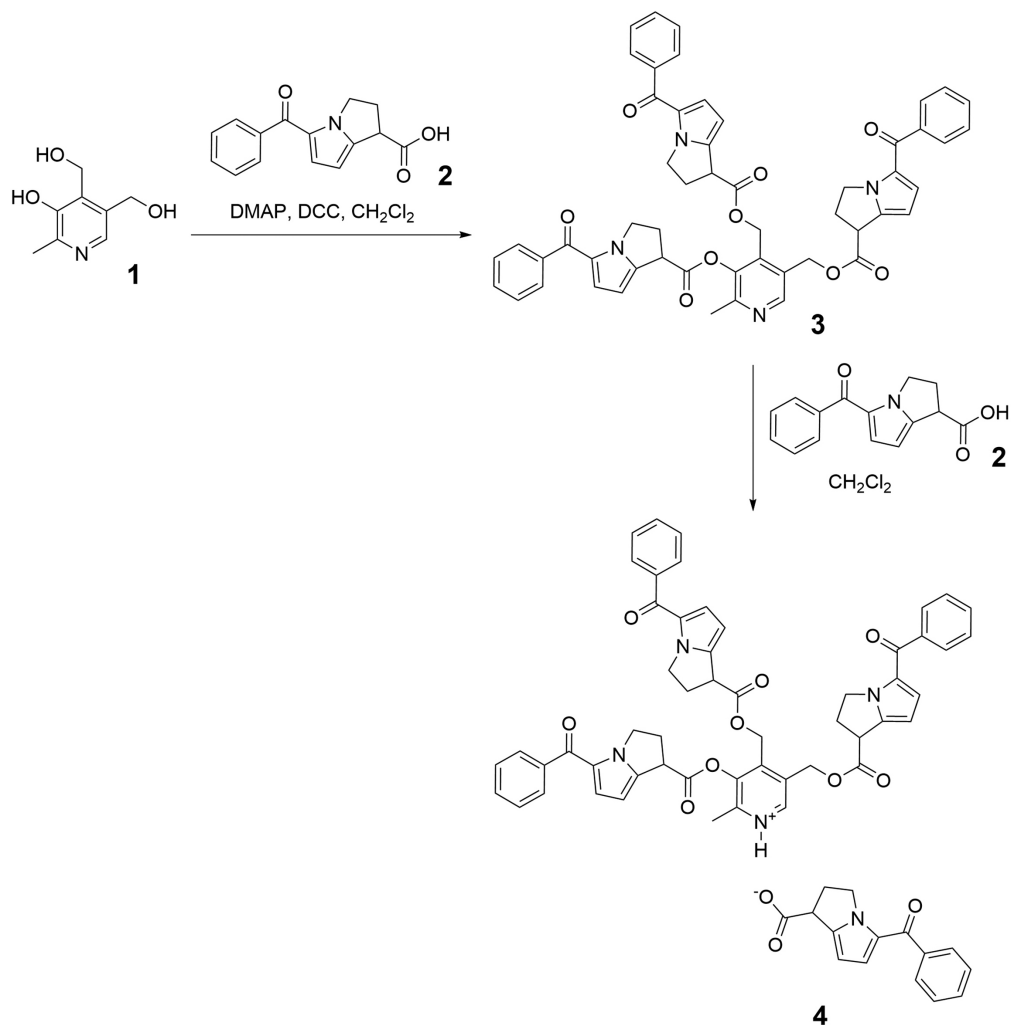


Схема 1. Синтез бифармакофорных противовоспалительных соединений на основе пиридоксина и кеторолака (DCC – дициклогексилкарбодиимид, DMAP – 4-диметиламинопиридин)

Для доказательства структуры синтезированных соединений использован комплекс физико-химических методов анализа: ЯМР-спектроскопия (^1H , ^{13}C) и масс-спектрометрия высокого разрешения.

На следующем этапе отработана лабораторная методика получения целевых производных с чистотой не менее 98 % без использования колоночной хроматографии. Из литературы известно [22], что кеторолак в виде кислоты под воздействием света и кислорода подвергается разложению с образованием ряда побочных продуктов декарбоксилирования и окисления. В работе [23] показана термическая нестабильность кеторолака трометамин как в кислых, так и в

щелочных средах. Поэтому осуществлен поиск условий проведения синтеза в несколько этапов с целью увеличения степени чистоты и выхода трис-производного **3**. Первоначально для оценки влияния присутствия хлороводорода в реакционной смеси на процессы кислотно-катализируемой деструкции кеторолака фармацевтическую субстанцию пиридоксина гидрохлорида заменили на пиридоксин. При этом разработка реакционной смеси также упростилась и включала две операции: фильтрование для отделения дициклогексилмочевины и промывание водой. Анализ реакционной смеси после разработки методом ВЭЖХ показал, что замена пиридоксина гидрохлорида на пиридоксин обеспечила уменьшение образования побочных продуктов в реакционной смеси. Содержание основного продукта после промывания реакционной смеси водой составило 78.5 % (реакция 2, табл. 1).

Табл. 1

Условия получения трис-производного пиридоксина с кеторолаком

№ реакции	Пиридоксин гидрохлорид, экв	Пиридоксин, экв	Кеторолак, экв	DCC, экв	DMAP, экв	t , °C	Аргон	Свет	$t_{\text{синтеза}}$, ч	ω основного продукта, % (ВЭЖХ)
1	1.00	—	3.00	3.00	1.00	25	—	—	24	42.0
2	—	1.00	3.15	3.15	1.00	25	—	—	2	78.5
3	—	1.00	3.15	3.15	1.00	0	+	+	2	92.7
4	—	1.00	3.05	3.20	1.00	0	+	+	2	93.1
5	—	1.00	4.00	3.15	1.00	0	+	+	2	92.1
6	—	1.00	3.15	3.15	1.00	0 25	+	+	1.5 5	95.6
7	—	1.00	3.15	3.15	0.50	0 25	+	+	2 72	98.3

Варьирование условий проведения реакции показало, что синтез при 0 °C в среде аргона и в отсутствии света обеспечил увеличение содержания основного продукта в реакционной смеси до 92.7 % (реакция 3, табл. 1). Варьирование количества кеторолака (3.0–4.0 экв) не привело к значительному изменению содержания основного продукта (92.1–93.1 %) (реакции 4 и 5, табл. 1). Напротив, увеличение времени реакции до 1.5 ч при 0 °C с последующим выдерживанием реакционной смеси при 25 °C в течение 5 ч позволило довести чистоту соединения **3** до 95 % (реакция 6, табл. 1). Дальнейшее увеличение времени реакции при 0 °C до 2 ч с последующим выдерживанием смеси при 25 °C в течение 72 ч, а также уменьшение количества DMAP до 0.5 экв привело к получению целевого продукта с чистотой > 98 % (реакция 7, табл. 1), т. е. позволило решить поставленную задачу. Хроматограмма соединения **3**, полученного по условиям реакции 7, представлена на рис. 2. Следует отметить, что помимо действующего вещества в продукте реакции присутствуют четыре неидентифицированные примеси, содержание которых составляет от 0.18 до 0.89 %. Суммарное содержание примесей равно 1.72 %.

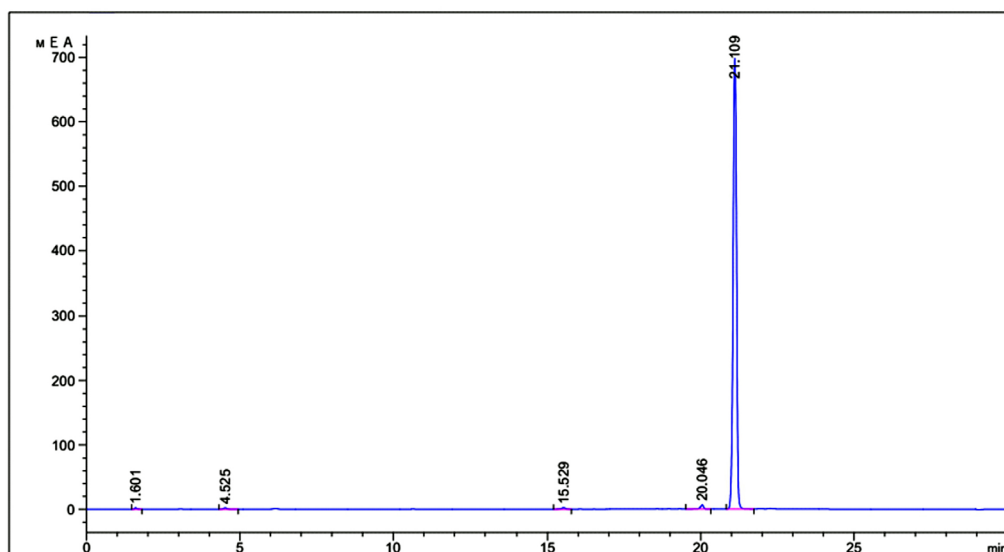


Рис. 2. Хроматограмма соединения **3**, полученного по условиям синтеза 7

2.1. Оценка цитотоксичности трис- и тетракис-производных **3 и **4**.** На первом этапе исследована цитотоксичность трис- и тетракис-производных **3** и **4** в отношении условно-нормальных клеток человека MSC (мультипатентные клетки человека) и HSF (фибробласты кожи человека) с использованием МТТ-теста (табл. 2). Полученные данные демонстрируют, что синтезированные соединения являются нетоксичными по отношению к изученным линиям клеток.

Табл. 2

Величины концентраций полумаксимального ингибирования роста условно-нормальных клеток (CC_{50}) в присутствии трис- и тетракис-производных **3** и **4**

Соединение	CC_{50} , мкМ	
	MSC	HSF
3	> 500	> 500
4	> 500	> 500

2.2. Исследование острой токсичности полученных соединений. Поскольку тесты *in vitro* показали низкую цитотоксичность синтезированных производных **3** и **4**, то на следующем этапе оценена их безопасность *in vivo* [21]. Начальная доза при введении соединений **3** и **4** животным составила 400 мг/кг. Выбор начальной дозы основан на анализе литературных данных, согласно которым LD_{50} кеторолака составляет 189 мг/кг [21]. При введении начальной дозы гибель животных не наблюдали, поэтому для тестируемой группы дозу последовательно увеличили до 800, а затем до 2000 мг/кг (табл. 3). Из данных таблицы следует, что трис- и тетракис-производные пиридоксина характеризуются значительно большими значениями LD_{50} , т. е. они являются более безопасными по сравнению с кеторолаком.

Табл. 3

Результаты исследования острой токсичности на крысах при внутривенном введении соединений **3** и **4**

Соединение	Введенная доза, мг/кг	Число погибших животных/в группе	Значение ЛД ₅₀ , мг/кг
3	400	0/10	> 2000
	800	0/10	
	2000	0/10	
4	400	0/10	> 2000
	800	0/10	
	2000	2/10	
Кеторолак трометамин	—	—	189

2.3. Исследование анальгетической активности трис- и тетракис-производных пиридоксина и кеторолака **3, **4** в тесте «Горячая пластина».** Удостоверившись в благоприятном профиле безопасности соединений **3** и **4**, мы изучили их анальгетическую активность в тесте термического раздражения «Горячая пластина» на крысах. Расчет доз исследуемых веществ осуществляли эквивалентно дозам препарата сравнения [24, 25].

Установлено, что через 1 и 2 ч после перорального введения пролекарственных средств **3** и **4** анальгетическая активность сохраняется на уровне препарата сравнения – кеторолака трометамин (табл. 4).

Табл. 4

Анальгетическая активность трис- и тетракис-производных пиридоксина и кеторолака **3**, **4** в тесте «Горячая пластина»

Соединение	Введенная доза, мг/кг	Пол	Латентное время болевой реакции через 1 ч после введения, с	Латентное время болевой реакции через 2 ч после введения, с
3	6.10	Самцы	11.8 ± 3.4	13.6 ± 4.3
		Самки	11.9 ± 4.0	13.3 ± 3.4
4	5.83	Самцы	17.1 ± 4.7*	14.4 ± 3.4
		Самки	16.2 ± 6.6	16.2 ± 9.1
Кеторолак трометамин	5.00	Самцы	11.5 ± 3.5	15.5 ± 4.4
		Самки	12.6 ± 3.9	13.7 ± 2.7
Контрольная группа	—	Самцы	11.4 ± 4.2	
		Самки	10.0 ± 2.3	

Примечание: * – статистически значимое отличие от контрольной группы

Закключение

Таким образом, разработан метод получения трис- и тетракис-производных пиридоксина и кеторолака с чистотой более 98 % по данным ВЭЖХ. На основе полученных данных по безопасности и анальгетической активности сделан вывод, что эти пролекарственные бифармакофорные производные являются перспективными кандидатами в лекарственные средства с высокой анальгетической активностью и улучшенным профилем безопасности по сравнению с самым эффективным неопиодным анальгетиком – кеторолаком.

Закключение Комитета по этике. Исследования с участием животных одобрены Локальным этическим комитетом Казанского (Приволжского) федерального университета (протокол № 38 от 04.10.2022).

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-23-00350, <https://rscf.ru/project/24-23-00350/>.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. *Bacchi S., Palumbo P., Sponta A., Coppolino M.F.* Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: A review // *Anti-Inflammatory Anti-Allergy Agents Med. Chem.* 2012. V. 11, No 1. P. 52–64. <https://doi.org/10.2174/187152312803476255>.
2. *Handa O., Naito Y., Fukui A., Omatsu T., Yoshikawa T.* The impact of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the small intestinal epithelium // *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2014. V. 54, No 1. P. 2–6. <https://doi.org/10.3164/jcbn.13-84>.
3. *Conaghan P.G.* A turbulent decade for NSAIDs: Update on current concepts of classification, epidemiology, comparative efficacy, and toxicity // *Rheumatol. Int.* 2012. V. 32, No 6. P. 1491–1502. <https://doi.org/10.1007/s00296-011-2263-6>.
4. *Bjarnason I., Scarpignato C., Takeuchi K., Rainsford K.D.* Determinants of the short-term gastric damage caused by NSAIDs in man // *Aliment Pharmacol. Ther.* 2007. V. 26, No 1. P. 95–106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03348.x>.
5. *Sehajpal S., Prasad D.N., Singh R.K.* Prodrugs of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): A long march toward synthesis of safer NSAIDs // *Mini-Rev. Med. Chem.* 2018. V. 18, No 14. P. 1199–1219. <https://doi.org/10.2174/1389557518666180330112416>.
6. *Ahmed M., Azam F., Gbaj A., Zetrini A.E., Abodlal A.S., Rghigh A., Elmahdi E., Hamza A., Salama M., Bensaber S.M.* Ester prodrugs of ketoprofen: Synthesis, in vitro stability, in vivo biological evaluation and in silico comparative docking studies against COX-1 and COX-2 // *Curr. Drug Discovery Technol.* 2016. V. 13, No 1. P. 41–57. <https://doi.org/10.2174/1570163813666160119092807>.
7. *Bonina F., Puglia C., Santagati N.A., Saija A., Tomaino A., Tita B.* Oligoethylene ester derivatives of ketoprofen, naproxen and diclofenac as oral prodrugs: A pharmacological evaluation // *Pharmazie.* 2002. V. 57, No 8. P. 552–555.
8. *Jain S., Tran S., El Gendy M.A.M., Kashfi K., Jurasz P., Velázquez-Martínez C.A.* Nitric oxide release is not required to decrease the ulcerogenic profile of nonsteroidal anti-inflammatory drugs // *J. Med. Chem.* 2012. V. 55, No 2. P. 688–696. <https://doi.org/10.1021/jm200973j>.
9. *Dalpiaz A., Pavan B., Scaglianti M., Vitali F., Bortolotti F., Biondi C., Scatturin A., Manfredini S.* Vitamin C and 6-amino-vitamin C conjugates of diclofenac: Synthesis and evaluation // *Int. J. Pharm.* 2005. V. 291, Nos 1–2. P. 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.07.054>.
10. *Zovko M., Zorc B., Jadrijević-Mladar Takač M., Metelko B., Novak P.* The novel ketoprofenamides: Synthesis and spectroscopic characterization // *Croat. Chem. Acta.* 2003. V. 76, No 4. P. 335–341.
11. *Mizrahi B., Domb A.J.* Anhydride prodrug of ibuprofen and acrylic polymers // *AAPS PharmSciTech.* 2009. V. 10, No 2. P. 453–458. <https://doi.org/10.1208/s12249-009-9228-z>.
12. *Khalaj A., Amanlou M., Jorjani M.* Cyclic acetal-like derivatives of diclofenac: Synthesis and in-vivo evaluation in rats // *Pharm. Pharmacol. Commun.* 1998. V. 4, No 4. P. 201–203. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1998.tb00335.x>.

13. *Abdellatif K.R.A., Abdelall E.K.A., Bakr R.B.* Nitric oxide-NASIDs donor prodrugs as hybrid safe anti-inflammatory agents // *Curr. Top. Med. Chem.* 2017. V. 17, No 8. P. 941–955. <https://doi.org/10.2174/1568026616666160927153435>.
14. *Штырлин Ю.Г., Павельев Р.С., Иксанова А.Г., Штырлин Н.В., Пугачев М.В., Балакин К.В., Аймалетдинов А.А., Ганиев И.М., Маланьева А.Г.* Нестероидное противовоспалительное средство на основе напроксена, обладающее низкой гастротоксичностью // Патент РФ на изобретение № 2629367. 2017. Бюл. ФИПС № 25.
15. *Штырлин Ю.Г., Петухов А.С., Стрельник А.Д., Штырлин Н.В., Иксанова А.Г., Пугачев М.В., Павельев Р.С., Дзюркевич М.С., Гарипов М.Р., Балакин К.В.* Химия пиридоксина в разработке лекарственных средств // *Изв. АН. Сер. хим.* 2019. № 5. С. 911–945. <https://doi.org/10.1007/s11172-019-2504-5>.
16. *Штырлин Ю.Г., Агафонова М.Н., Бондарь О.В., Балакин К.В., Хазиев Р.М., Казакова Р.Р., Сапожников С.В., Стрельник А.Д., Пугачев М.В., Штырлин Н.В.* Химия пиридоксина в разработке лекарственных средств. Казань: Издательство Казанского университета, 2022. 173 с.
17. *Куташов В.А., Сахаров И.Е.* Клиническая эффективность и безопасность кеторолака в терапии болевого синдрома в неврологической практике // *РМЖ.* 2014. Т. 22, Вып. 16. С. 1173–1177.
18. *Strom B.L., Berlin J.A., Kinman J.L., Spitz P.W., Hennessy S., Feldman H., Kimmel S., Carson J.L.* Parenteral ketorolac and risk of gastrointestinal and operative site bleeding: A postmarketing surveillance study // *JAMA.* 1996. V. 275, No 5. P. 376–382. <https://doi.org/10.1001/jama.1996.03530290046036>.
19. *Feldman H.I., Kinman J.L., Berlin J.A., Hennessy S., Kimmel S.E., Farrar J., Carson J.L., Strom B.L.* Parenteral ketorolac: The risk for acute renal failure // *Ann. Intern. Med.* 1997. V. 126, No 3. P. 193–199. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-126-3-199702010-00003>.
20. *Hunter L.J., Wood D.M., Dargan P.I.* The patterns of toxicity and management of acute nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) overdose // *Open Access Emerg. Med.* 2011. V. 2011, No 3. P. 39–48. <https://doi.org/10.2147/OAEM.S22795>.
21. *Миронов А.Н.* Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
22. *Gu L., Chiang H.-S., Johnson D.* Light degradation of ketorolac tromethamine // *Int. J. Pharm.* 1988. V. 41, Nos 1–2. P. 105–113. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(88\)90142-1](https://doi.org/10.1016/0378-5173(88)90142-1).
23. *Gu L., Chiang H.-S., Becker A.* Kinetics and mechanisms of the autoxidation of ketorolac tromethamine in aqueous solution // *Int. J. Pharm.* 1988. V. 41, Nos 1–2. P. 95–104. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(88\)90141-X](https://doi.org/10.1016/0378-5173(88)90141-X).
24. *Kohn D.F., Martin T.E., Foley P.L., Morris T.H., Swindle M.M., Vogler G.A., Wixson S.K.* Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits // *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2007. V. 46, No 2. P. 97–108.
25. *Rahman M.M., Begum N., Abdur Rouf M., Masood S.* Synergistic antinociceptive, anti-inflammatory interaction between vitamin B12 and ketorolac in long Evans rats // *EJ-CLINICMED.* 2021. V. 2, No 3. P. 105–110. <https://doi.org/10.24018/clinicmed.2021.2.3.94>.

Поступила в редакцию 26.07.2024

Принята к публикации 11.08.2024

Пугачев Михаил Владимирович, кандидат химических наук, старший научный сотрудник отдела медицинской химии Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: mpugache@kpfu.ru

Штырлин Никита Валерьевич, кандидат химических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Лаборатория по разработке лекарственных средств для терапии заболеваний, вызываемых резистентными микроорганизмами» Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *Nikita.Shtyrin@kpfu.ru*

Агафонова Мария Николаевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Лаборатория по разработке лекарственных средств для терапии заболеваний, вызываемых резистентными микроорганизмами» Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *Mariya.Agafonova@kpfu.ru*

Васильева Ольга Сергеевна, научный сотрудник НИЛ «Лаборатория по разработке лекарственных средств для терапии заболеваний, вызываемых резистентными микроорганизмами» Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *OISVasileva@kpfu.ru*

Фафанова Екатерина Михайловна, лаборант-исследователь НИЛ «Медицинские материалы» Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *EMFafanova@stud.kpfu.ru*

Штырлин Юрий Григорьевич, доктор химических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Научно-образовательного центра фармацевтики

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: *Yurii.Shtyrin@kpfu.ru*

ISSN 2542-064X (Print)

ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2024, vol. 166, no. 4, pp. 608–622

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.608-622

Synthesis and Analgesic Properties of Prodrug Bipharmacophore Compounds Based on Pyridoxine and Ketorolac

M.V. Pugachev^{*}, *N.V. Shtyrin*^{**}, *M.N. Agafoнова*^{***}, *O.S. Vasileva*^{****}, *E.M. Fafanova*^{*****},
Y.G. Shtyrin^{*****}

Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

E-mail: ^{*}*mpugache@kpfu.ru*, ^{**}*Nikita.Shtyrin@kpfu.ru*, ^{***}*Mariya.Agafoнова@kpfu.ru*,
^{****}*OISVasileva@kpfu.ru*, ^{*****}*EMFafanova@stud.kpfu.ru*, ^{*****}*Yurii.Shtyrin@kpfu.ru*

Received July 26, 2024; Accepted August 11, 2024

Abstract

Prodrug bipharmacophore anti-inflammatory compounds based on pyridoxine and ketorolac were synthesized. A new laboratory method was developed to achieve > 98 % purity of these compounds, without the use of column chromatography. Compared to ketorolac tromethamine, which is the most potent non-opioid analgesic, both compounds exhibited lower toxicity (LD₅₀ > 2000 mg/kg), while maintaining comparable analgesic efficacy in a model of acute thermal pain response.

Keywords: pyridoxine, ketorolac, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), analgesic activity, safety

Institutional Review Board Statement. The animal study protocol was approved by the Local Ethics Committee of Kazan Federal University (protocol no. 38 dated October 4, 2022).

Acknowledgments. This study was supported by the Russian Science Foundation (project no. 24-23-00350, <https://rscf.ru/en/project/24-23-00350/>).

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Structure of the anti-inflammatory drug KFU-01.

Scheme 1. Synthesis of biparmacophore anti-inflammatory compounds based on pyridoxine and ketorolac (DCC – dicyclohexylcarbodiimide, DMAP – 4-dimethylaminopyridine).

Fig. 2. Chromatogram of compound **3** synthesized using route 7.

References

1. Bacchi S., Palumbo P., Sponta A., Coppolino M.F. Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: A review. *Anti-Inflammatory Anti-Allergy Agents Med. Chem.*, 2012, vol. 11, no. 1, pp. 52–64. <https://doi.org/10.2174/187152312803476255>.
2. Handa O., Naito Y., Fukui A., Omatsu T., Yoshikawa T. The impact of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the small intestinal epithelium. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 2014, vol. 54, no. 1, pp. 2–6. <https://doi.org/10.3164/jcbn.13-84>.
3. Conaghan P.G. A turbulent decade for NSAIDs: Update on current concepts of classification, epidemiology, comparative efficacy, and toxicity. *Rheumatol. Int.*, 2012, vol. 32, no. 6, pp. 1491–1502. <https://doi.org/10.1007/s00296-011-2263-6>.
4. Bjarnason I., Scarpignato C., Takeuchi K., Rainsford K.D. Determinants of the short-term gastric damage caused by NSAIDs in man. *Aliment Pharmacol. Ther.*, 2007, vol. 26, no. 1, pp. 95–106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03348.x>.
5. Sehajpal S., Prasad D.N., Singh R.K. Prodrugs of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): A long march toward synthesis of safer NSAIDs. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 2018, vol. 18, no. 14, pp. 1199–1219. <https://doi.org/10.2174/1389557518666180330112416>.
6. Ahmed M., Azam F., Gbaj A., Zetrini A.E., Abodlal A.S., Rghigh A., Elmahdi E., Hamza A., Salama M., Bensaber S.M. Ester prodrugs of ketoprofen: Synthesis, in vitro stability, in vivo biological evaluation and in silico comparative docking studies against COX-1 and COX-2. *Curr. Drug Discovery Technol.*, 2016, vol. 13, no. 1, pp. 41–57. <https://doi.org/10.2174/1570163813666160119092807>.
7. Bonina F., Puglia C., Santagati N.A., Saija A., Tomaino A., Tita B. Oligoethylene ester derivatives of ketoprofen, naproxen and diclofenac as oral prodrugs: A pharmacological evaluation. *Pharmazie*, 2002, vol. 57, no. 8, pp. 552–555.
8. Jain S., Tran S., El Gendy M.A.M., Kashfi K., Jurasz P., Velázquez-Martínez C.A. Nitric oxide release is not required to decrease the ulcerogenic profile of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J. Med. Chem.*, 2012, vol. 55, no. 2, pp. 688–696. <https://doi.org/10.1021/jm200973j>.
9. Dalpiaz A., Pavan B., Scaglianti M., Vitali F., Bortolotti F., Biondi C., Scatturin A., Manfredini S. Vitamin C and 6-amino-vitamin C conjugates of diclofenac: Synthesis and evaluation. *Int. J. Pharm.*, 2005, vol. 291, nos. 1–2, pp. 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.07.054>.
10. Zovko M., Zorc B., Jadrijević-Mladar Takač M., Metelko B., Novak P. The novel ketoprofenamides: Synthesis and spectroscopic characterization. *Croat. Chem. Acta*, 2003, vol. 76, no. 4, pp. 335–341.
11. Mizrahi B., Domb A.J. Anhydride prodrug of ibuprofen and acrylic polymers. *AAPS PharmSciTech*, 2009, vol. 10, no. 2, pp. 453–458. <https://doi.org/10.1208/s12249-009-9228-z>.
12. Khalaj A., Amanlou M., Jorjani M. Cyclic acetal-like derivatives of diclofenac: Synthesis and in-vivo evaluation in rats. *Pharm. Pharmacol. Commun.*, 1998, vol. 4, no. 4, pp. 201–203. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1998.tb00335.x>.

13. Abdellatif K.R.A., Abdelall E.K.A., Bakr R.B. Nitric oxide-NASIDs donor prodrugs as hybrid safe anti-inflammatory agents. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2017, vol. 17, no. 8, pp. 941–955. <https://doi.org/10.2174/1568026616666160927153435>.
14. Shtyrlin Yu.G., Pavel'ev R.S., Iksanova A.G., Shtyrlin N.V., Pugachev M.V., Balakin K.V., Aimaletdinov A.M., Ganiev I.M., Malaneva A.G. Nonsteroid anti-inflammatory agent based on naproxen with low gastrototoxicity. Patent RF no. 2629367. Byull. FIPS, 2017, no. 25. (In Russian)
15. Shtyrlin Y.G., Petukhov A.S., Strel'nik A.D., Shtyrlin N.V., Iksanova A.G., Pugachev M.V., Pavelyev R.S., Dzyurkevich M.S., Garipov M.R., Balakin K.V. Chemistry of pyridoxine in drug design. *Russ. Chem. Bull.*, 2019, vol. 68, no. 5, pp. 911–945. <https://doi.org/10.1007/s11172-019-2504-5>.
16. Shtyrlin Yu.G., Agafonova M.N., Bondar' O.V., Balakin K.V., Khaziev R.M., Kazakova R.R., Sapozhnikov S.V., Strel'nik A.D., Pugachev M.V., Shtyrlin N.V. *Khimiya piridoksina v razrabotke lekarstvennykh sredstv* [Pyridoxine Chemistry in Drug Development]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 2022. 173 p. (In Russian)
17. Kutashov V.A., Sakharov I.E. Clinical efficacy and safety of ketorolac in treating pain syndrome in neurological practice. *Russ. Med. Zh.*, 2014, vol. 22, no. 16, pp. 1173–1177. (In Russian)
18. Strom B.L., Berlin J.A., Kinman J.L., Spitz P.W., Hennessy S., Feldman H., Kimmel S., Carson J.L. Parenteral ketorolac and risk of gastrointestinal and operative site bleeding: A postmarketing surveillance study. *JAMA*, 1996, vol. 275, no. 5, pp. 376–382. <https://doi.org/10.1001/jama.1996.03530290046036>.
19. Feldman H.I., Kinman J.L., Berlin J.A., Hennessy S., Kimmel S.E., Farrar J., Carson J.L., Strom B.L. Parenteral ketorolac: The risk for acute renal failure. *Ann. Intern. Med.*, 1997, vol. 126, no. 3, pp. 193–199. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-126-3-199702010-00003>.
20. Hunter L.J., Wood D.M., Dargan P.I. The patterns of toxicity and management of acute nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) overdose. *Open Access Emerg. Med.*, 2011, vol. 2011, no. 3, pp. 39–48. <https://doi.org/10.2147/OAEM.S22795>.
21. Mironov A.N. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* [Guidelines for Preclinical Studies of Drugs]. Moscow, Grif i K, 2012. 944 p. (In Russian)
22. Gu L., Chiang H.-S., Johnson D. Light degradation of ketorolac tromethamine. *Int. J. Pharm.*, 1988, vol. 41, nos. 1–2, pp. 105–113. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(88\)90142-1](https://doi.org/10.1016/0378-5173(88)90142-1).
23. Gu L., Chiang H.-S., Becker A. Kinetics and mechanisms of the autoxidation of ketorolac tromethamine in aqueous solution. *Int. J. Pharm.*, 1988, vol. 41, nos. 1–2, pp. 95–104. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(88\)90141-X](https://doi.org/10.1016/0378-5173(88)90141-X).
24. Kohn D.F., Martin T.E., Foley P.L., Morris T.H., Swindle M.M., Vogler G.A., Wixson S.K. Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.*, 2007, vol. 46, no. 2, pp. 97–108.
25. Rahman M.M., Begum N., Abdur Rouf M., Masood S. Synergistic antinociceptive, anti-inflammatory interaction between vitamin B12 and ketorolac in long Evans rats. *EJ-CLINICMED*, 2021, vol. 2, no. 3, pp. 105–110. <https://doi.org/10.24018/clinicmed.2021.2.3.94>.

Для цитирования: Пугачев М.В., Штырлин Н.В., Агафонова М.Н., Васильева О.С., Фафанова Е.М., Штырлин Ю.Г. Синтез и анальгетическая активность пролекарственных бифармакофорных производных на основе пиридоксина и кеторолака // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 4. С. 608–622. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.608-622>.

For citation: Pugachev M.V., Shtyrlin N.V., Agafonova M.N., Vasileva O.S., Fafanova E.M., Shtyrlin Y.G. Synthesis and analgesic properties of prodrug biparmacophore compounds based on pyridoxine and ketorolac. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 4, pp. 608–622. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.608-622>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 681.518+622.276.63

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.623-639

ПРИМЕНЕНИЕ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ В ЗАДАЧАХ ВЫБОРА ОБЪЕКТОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ И ПРОЕКТИРОВАНИЯ КИСЛОТНОЙ ОБРАБОТКИ

*И.И. Маннанов, М.А. Варфоломеев, Г.Р. Ганиева, А.Р. Гимаева,
Р.Р. Гиниятуллин*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

Для карбонатных отложений кислотная обработка является одним из наиболее востребованных решений для интенсификации добычи нефти, которое активно применяется на практике. Анализ успешности соответствующих работ показывает высокую дифференцированность промысловых результатов. Современные подходы к решению задачи проектирования дизайна кислотной обработки основываются на применении программных продуктов, позволяющих учесть многие факторы, влияющие на процесс обработки. Применение машинного обучения может быть эффективным дополнением к подходам в части выбора объектов воздействия и обоснования исходных данных для проектирования дизайна в реализованных и эффективно функционирующих программных продуктах. В работе приводятся решения по использованию машинного обучения для выбора объектов воздействия на основе данных ранее выполненных работ по влиянию начальных режимных скважинных условий, технологических условий выполнения работ, кратности обработки, объемов, типов кислотных систем, предобработки, применения отклонителей кислотных систем, а также времени выдерживания кислоты на результативность обработки. Проектирование кислотной обработки предусматривает выполнение сложных лабораторных исследований для изучения кинетики процесса взаимодействия кислотных систем с породой, ключевыми параметрами которого являются минералогический состав горной породы и характеристики применяемых кислотных составов, в частности концентрации компонентов кислотной композиции. В работе рассмотрена задача прогнозирования кинетики реакции кислотных систем методами машинного обучения на основе обработки массива данных лабораторных исследований. В качестве базовых решений прогнозирования использованы методы линейной регрессии и случайного леса. Привлечение машинного обучения позволяет создать алгоритмы принятия решений для оптимизации кислотной обработки с учетом многофакторного влияния условий ее выполнения. Разработанные алгоритмы значительно упрощают задачи проектирования кислотной обработки.

Ключевые слова: колебательные спектры, молекулярная структура, электронография, квантово-химические расчеты.

Введение

Доля карбонатных отложений в мировой структуре извлекаемых запасов нефти и газа по различным оценкам составляет более 60 % и продолжает расти [1–3].

Традиционно для разработки коллекторов, содержащих в составе пород карбонатные минералы, применяют различные модификации технологии кислотной обработки пластов [4]. Этот подход можно считать одним из основных, универсальных и действенных методов, обеспечивающих гидродинамическую связь скважины и пласта коллектора. Характерным признаком опыта применения кислотной обработки является факт различной технологической успешности в разновозрастных или техногенно измененных карбонатных отложениях. Основная причина таких результатов заключается в природном разнообразии карбонатных коллекторов по генезису, минеральному составу, структуре порового пространства, неоднородности и проницаемости. Другой, не менее важной, причиной различий в эффективности применяемого кислотного состава являются влияние накопленной техногенной нагрузки на пласт и ее рост при кислотном воздействии. Проявления этой нагрузки снижают проницаемость призабойной зоны пласта [5].

Одна из проблем, с которыми сталкиваются нефтедобывающие предприятия, состоит в снижении плановых и фактических приростов дебитов после выполнения работ по интенсификации добычи. Успешность кислотной обработки, особенно на месторождениях трудноизвлекаемых запасов, составляет по различным оценкам не более 30–40 %, при этом основными причинами низкой успешности являются сложное геологическое строение, свойства минералов, слагающих пласт, термобарические условия призабойной зоны, невозможность создания оптимального дизайна обработки скважины [6, 7].

Изменение проницаемости и пористости породы в результате кислотной обработки – сложный процесс, так как на него оказывают влияние несколько различных, порой конкурирующих, явлений в пористой среде. Проницаемость возрастает с увеличением размеров пор за счет растворения минералов скелета пород. В то же время при растворении цементирующего материала породы освобождаются твердые частицы различных размеров, не взаимодействующие с кислотой [8, 9].

Важным этапом применения кислотных композиций является лабораторное изучение процесса взаимодействия кислотных составов с породой. Зачастую это трудоемкие и сложные эксперименты, направленные на получение данных, отражающих условия протекания процесса, и ориентированные на дальнейшее их применение в симуляторах процесса кислотного воздействия.

Перенос результатов лабораторного изучения растворения породы в скважинах невозможен без применения методов численного моделирования протекающих процессов. Математическое моделирование и симуляции являются эффективными решениями при проектировании успешных кислотных обработок в масштабах скважины [10].

Главная задача планирования выполнения технологий обработки призабойной зоны (ОПЗ) пласта связана с решением по выбору оптимального темпа закачки кислотного состава в пласт, что обеспечивает максимальное снижение скин-фактора и образование червоточин в пласте, обеспечивающих, в свою очередь, эффективное сообщение пласта со скважиной [13]. Скорость закачки, которая позволяет провести кислотную обработку с максимальной эффективностью, относят к оптимальным параметрам. Для подтверждения оценки эффективности необходимо исследовать различные параметры, такие как температура, давление, минералогический состав породы и влияние химических отклонителей. Также необходимо учесть влияние

конвекции и диффузии [14]. Современные задачи планирования и проектирования выполнения кислотных обработок могут быть успешно дополнены при использовании методов машинного обучения.

1. Методы машинного обучения

Методы машинного обучения, получившие существенное развитие в последнее время, позволяют по-новому взглянуть на многочисленные фактические результаты, полученные в нефтегазовой отрасли за годы эксплуатации скважин, применения методов интенсификации добычи, выполнения лабораторных исследований по изучению показателей эффективности кислотных составов и моделированию процесса кислотной обработки [15, 16].

Для решения задачи оптимизации кислотной обработки необходимо разработать комплексную методику прогнозирования с использованием многомерного регрессионного анализа с учетом данных лабораторных исследований. Регрессионный анализ включает в себя статическую модель, для создания которой необходимо учесть все виды операций с привлечением геолого-физических и технологических показателей, таких как:

- проницаемость ствола скважины и удаленных зон пласта;
- обводненность;
- отношение пластового и скважинного давлений к давлению насыщения;
- удельный дебит нефти перед остановкой скважины на капитальный ремонт;
- удельный расход кислоты;
- давление впрыска;
- скорость впрыска;
- время воздействия на реакцию.

Удельный прирост добычи нефти после операций ОПЗ принимали за показатель эффективности проведенных работ. Для оценки достоверности регрессионных моделей на первом этапе сравнивали результаты расчетных и фактических значений, а на втором – оценивали эффективность обработок, включенных в адресную программу геолого-технических мероприятий, с использованием статистических зависимостей, а также проводили лабораторную оценку исследований. Способ прогнозирования эффективности кислотной обработки позволил разработать, обосновать и апробировать подход на основе математического и физического моделирования. Реальные геологические полевые материалы дали возможность получить уравнения многомерной регрессии для прогнозирования эффективности кислотных обработок с целью точной оценки результата обработки призабойных зон скважин различными химическими реагентами [11].

Оценку эффективности кислотной обработки проводили с помощью пошагового регрессионного анализа и вычисления значения коэффициента корреляции. Расчет регрессионного коэффициента в разрабатываемой модели выполняли при помощи метода наименьших квадратов. Для расчета рассматривали два варианта: в первом случае использовали геолого-физические и технологические параметры, а во втором – скорость закачки применяемой для обработки кислоты. Все данные необходимо получать с учетом многомерных статистических моделей [12].

Для достоверного прогнозирования проводят оценку эффективности кислотной обработки с помощью регрессии опорных векторов, нейронных сетей, методов дерева решений, случайного леса (метод, который объединяет несколько посредственных базовых оценок, чтобы обеспечить лучшую общую производительность) и k -ближайших соседей (интуитивная идентификация аналогового и целевого объектов на основе близости их параметров). Показано, что модель, основанная на нейронных сетях, дает надежные и более точные результаты по оценке давления насыщения, объемного коэффициента нефти и плотности газа и нефти [17].

Рассмотрим применение методов машинного обучения на примере решения двух задач:

- выбор объектов воздействия для достижения максимального эффекта на основе машинного обучения по данным статистики применения методов ОПЗ;
- прогноз результатов кинетики и констант растворения образцов, состоящих из различных минералов, по результатам комплекса лабораторных исследований.

2. Прогноз выбора предпочтительных объектов для ОПЗ с применением метода машинного обучения на основе результатов ранее выполненных работ

В качестве исходных данных использованы результаты применения технологий ОПЗ на скважинах Бавлинского месторождения.

Для построения различных моделей из набора данных были сформированы следующие подвыборки объектов:

- 1) все объекты, в которых применялись химические методы ОПЗ (230 объектов);
- 2) результаты первичной обработки призабойной зоны кислотными составами (146 объектов);
- 3) результаты повторной обработки призабойной зоны кислотными составами (84 объекта);
- 4) результаты обработки вертикальных скважин (после первичной и повторной кислотной обработки) (132 объекта);
- 5) результаты обработки горизонтальных скважин (после первичной и повторной кислотной обработки) (98 объектов);
- 6) результаты обработки вертикальных скважин после первичной кислотной обработки (83 объекта);
- 7) результаты обработки вертикальных скважин после повторной кислотной обработки (49 объектов);
- 8) результаты обработки горизонтальных скважин после первичной кислотной обработки (63 объекта);
- 9) результаты обработки горизонтальных скважин после повторной кислотной обработки (35 объектов).

При построении прогнозных моделей и проведении анализа учитывали следующие показатели:

- геолого-эксплуатационные характеристики – коэффициент продуктивности, пористость, плотность перфорации, дебит жидкости, дебит нефти,

обводненность, пластовое и забойное давление, перфорированная мощность, сумма перфорационных отверстий и наличие открытого ствола;

- технологические характеристики выполнения ОПЗ, в частности значения ожидания реакции кислоты (ОРК), давление при продавке, количество обработок скважины, объем кислотных составов;

- химические характеристики – концентрация активных компонентов в кислотных составах, виды кислотных составов, наличие и объем отклонителя.

Следует отметить, что категориальные признаки были преобразованы в числовые с использованием метода One-Hot Encoding.

Для каждой подвыборки данных строили модели, используя:

- 1) Все перечисленные факторы (дескрипторы);
- 2) Параметры, характеризующие эксплуатационные характеристики (дебит жидкости, дебит нефти, обводненность и т. д.);
- 3) Параметры, характеризующие эксплуатационные характеристики (дебит жидкости, дебит нефти, обводненность) и объемы и виды технологических жидкостей;
- 4) Параметры, характеризующие технологические жидкости, типы кислотных составов и объемы, без эксплуатационных характеристик (дебит жидкости, дебит нефти, обводненность и т. д.).

При этом анализировали данные, отражающие фактическое исполнение дизайна обработки с учетом давления закачки.

В результате было построено 36 моделей (9 подвыборок по четырем типам перебора дескрипторов). Проведенный сравнительный анализ всех моделей показал, что среди лучших моделей оказалась библиотека градиентного бустинга на деревьях решений с открытым исходным кодом (CatBoost).

В результате проведенного исследования установлено, что высокие значения предсказательной способности классификационных моделей наблюдаются для системы первичной обработки вертикальных скважин и системы первичной обработки вертикальных и горизонтальных скважин. Значения сбалансированной точности (BA), полноты (TPR) и точности (PPV) разработанной модели на основе CatBoost для системы первичной обработки вертикальных скважин составили 0.84, 0.82 и 0.61 соответственно, а для системы первичной обработки вертикальных и горизонтальных скважин – 0.79, 0.56 и 0.72 соответственно (табл. 1).

На основе анализа зависимостей дескрипторов с целевой переменной с помощью библиотеки SHAP (она позволяет оценить, насколько рассматриваемый признак изменил предсказание модели по сравнению с моделью при некоем базовом значении этого признака) выявлено, что в среднем для всех систем обработка скважины успешнее при высоких значениях дебита жидкости до обработки, пористости, пластового и забойного давления до обработки, а также содержания нефти в продукции скважины. Таким образом, отсутствует явная зависимость эффективности обработки от типа использованной кислотной композиции. Эффективность обработки определяется почти исключительно начальными условиями на скважине, также заметен эффект от учета объема используемой кислотной композиции. Поскольку в выборке присутствовали кислотные композиции, оптимально подобранные для скважины, то они работали почти одинаково хорошо, и при моделировании влияние типа композиции на успешность ОПЗ не наблюдается.

Табл. 1

Результаты предсказательной способности классификационных моделей

Наборы дескрипторов	Подвыборка объектов набора данных	Кол-во дан-ных	Значения, отражающие сбалансированность и точность модели													
			TN	FP	FN	TP	Acc	TPR	TNR	BA	PPV	PNV	AUC	F_1	F_0.5	F_2
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
С учетом эксплуатационных характеристик и химических параметров	Все обработки ПЗ	230	230	106	42	33	49	0.674	0.598	0.716	0.539	0.763	0.725	0.566	0.549	0.585
	Первичная обработка ПЗ	146	146	71	29	16	30	0.692	0.652	0.710	0.509	0.816	0.764	0.571	0.532	0.617
	Повторные обработки ПЗ	84	84	30	18	19	17	0.560	0.472	0.625	0.486	0.612	0.530	0.479	0.483	0.475
	ГС	98	98	35	19	21	23	0.592	0.523	0.648	0.548	0.625	0.631	0.535	0.542	0.528
	ВС	132	132	75	19	15	23	0.742	0.605	0.798	0.548	0.833	0.745	0.575	0.558	0.593
	Первичная обработка ГС	63	63	22	12	13	16	0.603	0.552	0.647	0.571	0.629	0.590	0.561	0.567	0.556
	Первичная обработка ВС	83	83	57	9	3	14	0.855	0.824	0.864	0.609	0.950	0.909	0.700	0.642	0.769
	Повторные обработки ГС	35	35	11	9	8	7	0.514	0.467	0.550	0.438	0.579	0.523	0.452	0.443	0.461
	Повторные обработки ГС	49	49	20	8	12	9	0.592	0.429	0.714	0.529	0.625	0.648	0.474	0.506	0.446
Без учета эксплуатационных характеристик, но с учетом химических параметров	Все обработки ПЗ	230	230	93	55	44	38	0.570	0.463	0.628	0.409	0.679	0.589	0.434	0.419	0.451
	Первичная обработка ПЗ	146	146	66	34	18	28	0.644	0.609	0.660	0.452	0.786	0.722	0.519	0.476	0.569
	Повторные обработки ПЗ	84	84	26	22	23	13	0.464	0.361	0.542	0.371	0.531	0.487	0.366	0.369	0.363
	ГС	98	98	35	19	19	25	0.612	0.568	0.648	0.568	0.648	0.596	0.568	0.568	0.568
	ВС	132	132	68	26	19	19	0.659	0.500	0.723	0.422	0.782	0.681	0.458	0.436	0.482
	Первичная обработка ГС	63	63	18	16	17	12	0.476	0.414	0.529	0.429	0.514	0.507	0.421	0.426	0.417
	Первичная обработка ВС	83	83	59	7	5	12	0.855	0.706	0.894	0.632	0.922	0.824	0.667	0.645	0.690
	Повторные обработки ГС	35	35	11	9	7	8	0.543	0.533	0.550	0.471	0.611	0.523	0.500	0.482	0.519
	Повторные обработки ГС	49	49	19	9	12	9	0.571	0.429	0.679	0.500	0.613	0.478	0.462	0.484	0.441

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
С учетом эксплуатационных характеристик, без учета химии и объемов химии	Все обработки ПЗ	230	106	42	33	49	0.674	0.598	0.716	0.657	0.539	0.763	0.719	0.566	0.549	0.585
	Первичная обработка ПЗ	146	70	30	13	33	0.706	0.717	0.700	0.709	0.524	0.843	0.786	0.606	0.554	0.668
	Повторные обработки ПЗ	84	30	18	15	21	0.607	0.583	0.625	0.604	0.539	0.667	0.586	0.560	0.547	0.574
	ГС	98	35	19	22	22	0.582	0.500	0.648	0.574	0.537	0.614	0.615	0.518	0.529	0.507
	ВС	132	69	25	13	25	0.712	0.658	0.734	0.696	0.500	0.842	0.758	0.568	0.525	0.619
	Первичная обработка ГС	63	20	14	10	19	0.619	0.655	0.588	0.622	0.576	0.667	0.616	0.613	0.590	0.638
	Первичная обработка ВС	83	55	11	2	15	0.843	0.882	0.833	0.858	0.577	0.965	0.898	0.698	0.620	0.798
	Повторные обработки ГС	35	15	5	6	9	0.686	0.600	0.750	0.675	0.643	0.714	0.673	0.621	0.634	0.608
	Повторные обработки ГС	49	23	5	10	11	0.694	0.524	0.821	0.673	0.688	0.697	0.672	0.595	0.647	0.550
	Все обработки ПЗ	230	104	44	30	52	0.678	0.634	0.703	0.668	0.542	0.776	0.730	0.584	0.558	0.613
С учетом эксплуатационных характеристик и объемов химии, без учета химии	Первичная обработка ПЗ	146	73	27	13	33	0.726	0.717	0.730	0.724	0.550	0.849	0.794	0.623	0.577	0.676
	Повторные обработки ПЗ	84	31	17	15	21	0.619	0.583	0.646	0.615	0.553	0.674	0.600	0.568	0.559	0.577
	ГС	98	35	19	21	23	0.592	0.523	0.648	0.585	0.548	0.625	0.619	0.535	0.542	0.528
	ВС	132	72	22	13	25	0.735	0.658	0.766	0.712	0.532	0.847	0.784	0.588	0.553	0.628
	Первичная обработка ГС	63	19	15	11	18	0.587	0.621	0.559	0.590	0.546	0.633	0.621	0.581	0.559	0.604
	Первичная обработка ВС	83	55	11	3	14	0.831	0.824	0.833	0.828	0.560	0.948	0.897	0.667	0.598	0.753
	Повторные обработки ГС	35	16	4	6	9	0.714	0.600	0.800	0.700	0.692	0.727	0.633	0.643	0.672	0.616
	Повторные обработки ГС	49	22	6	12	9	0.633	0.429	0.786	0.607	0.600	0.647	0.662	0.500	0.556	0.455

Примечания: ПЗ – призабойная зона; ГС – горизонтальные скважины; ВС – вертикальные скважины; TN – истинно отрицательные случаи прогноза; FR – ложноположительные случаи прогноза; FN – ложноотрицательные случаи прогноза; TP – истинно положительные случаи прогноза; Асс – площадь под кривой; TPR – истинно положительный показатель; TNR – ложноположительный показатель; BA – сбалансированная точность; PPV – прогностическая значимость положительной классификации; PNV – доля ложных пропусков; AUC – качество работы классификатора; F₁ – среднее гармоническое точности и полноты; F_{0.5} – F-мера с приоритетом точности; F₂ – F-мера с приоритетом полноты. Изменение цвета от зеленого к красному отражает снижение сбалансированной точности предсказания.

Также проанализировано влияние на качество модели учета коэффициента продуктивности и пористости. Для линейных моделей учет таких характеристик, как коэффициент продуктивности и плотность перфорации, не позволил выявить зависимости. Как видно из табл. 2, для нелинейных моделей лучше исключить комплексный коэффициент продуктивности, не учитывающий абсолютные значения входящих в него показателей. Лучшие результаты получены в модели, учитывающей абсолютные значения дебита жидкости и пластового и забойного давления, т. е. комплексный коэффициент продуктивности является менее информативным критерием для модели.

С целью получения правил при принятии решений по выбору объектов для выполнения ОПЗ с учетом рассмотренных моделей использован алгоритм «дерево принятия решений» – это метод обучения с учителем (с англ. supervised machine learning algorithm), когда необходимо найти функциональную зависимость результатов (моделируемых свойств) от параметров объектов и построить алгоритм, принимающий на входе описание объекта и дающий на выходе ответ (свойство). В качестве входных данных выбраны параметры объектов, а результаты предсказанных значений успешности ОПЗ из моделей CatBoost приняты за значения успешности для построения дерева принятия решений. Использование предсказанных значений успешности позволяет сгладить выбросы, которые могут наблюдаться в исходных значениях. Для построения дерева принятия решений применяли алгоритм обучения CART, имплементированный из библиотеки scikit-learn [18, 19].

Для системы первичной ОПЗ вертикальных и горизонтальных скважин в качестве критерия выбора узла для расщепления в процессе роста классификационного дерева взят дебит жидкости, а в качестве числа признаков для выбора расщепления – все рассматриваемые параметры (рис. 1). Для данной системы потребовалось построение дерева принятия решений до глубины 5. При построении модели учитывали все параметры, т. е. правила по критерию успешности.

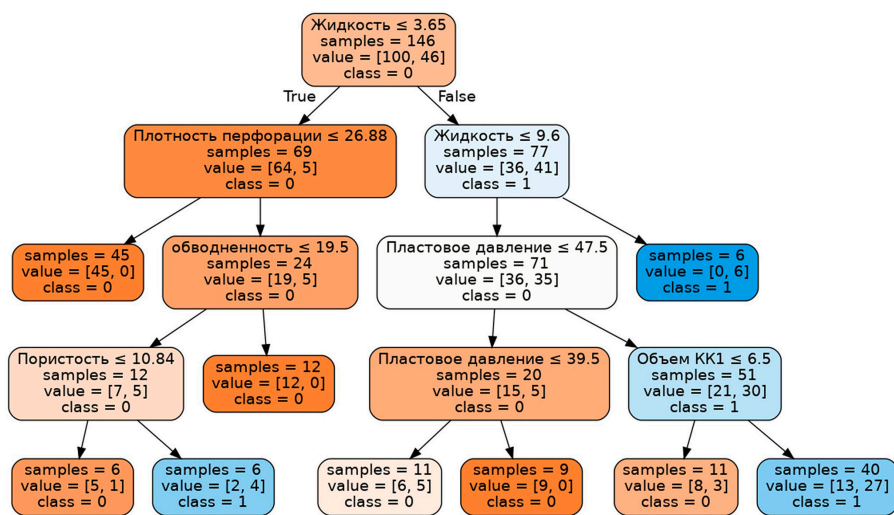


Рис. 1. Иерархическая древовидная структура, состоящая из решающих правил для системы первичной обработки вертикальных и горизонтальных скважин

Табл. 2

Результаты предсказательной способности классификационных моделей

Наборы общих дескрипторов	Параметры		Значения, отражающие сбалансированность и точность модели													
			TN	FP	FN	TP	Acc	TPR	TNR	BA	PPV	PNV	AUC	F_1	F_0.5	F_2
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	2		Первичная обработка вертикальных скважин													
С учетом эксплуатационных характеристик и химических параметров	Все 27 (факторов) дескрипторов		58	8	4	13	0.855	0.765	0.879	0.822	0.619	0.936	0.868	0.684	0.644	0.730
	Без коэффициента продуктивности		57	9	3	14	0.855	0.824	0.864	0.844	0.609	0.950	0.909	0.700	0.642	0.769
	Без дебита нефти забойного и пластового давления		57	9	7	10	0.807	0.588	0.864	0.726	0.526	0.891	0.823	0.556	0.538	0.575
Без учета эксплуатационных характеристик, но с учетом химических параметров	Все 27 (факторов) дескрипторов		61	5	5	12	0.880	0.706	0.924	0.815	0.706	0.924	0.854	0.706	0.706	0.706
	Без коэффициента продуктивности		59	7	5	12	0.855	0.706	0.894	0.800	0.632	0.922	0.824	0.667	0.645	0.690
	Без дебита нефти забойного и пластового давления		53	13	6	11	0.771	0.647	0.803	0.725	0.458	0.898	0.777	0.537	0.487	0.598
С учетом эксплуатационных характеристик, без учета химии и объемов химии	Все 27 (факторов) дескрипторов		52	14	4	13	0.783	0.765	0.788	0.776	0.482	0.929	0.876	0.591	0.520	0.684
	Без коэффициента продуктивности		55	11	2	15	0.843	0.882	0.833	0.858	0.577	0.965	0.898	0.698	0.620	0.798
	Без дебита нефти забойного и пластового давления		50	16	6	11	0.735	0.647	0.758	0.702	0.407	0.893	0.801	0.500	0.440	0.579
С учетом эксплуатационных характеристик и объемов химии, без учета химии	Все 27 (факторов) дескрипторов		53	13	3	14	0.807	0.824	0.803	0.813	0.519	0.946	0.896	0.636	0.560	0.737
	Без коэффициента продуктивности		55	11	3	14	0.831	0.824	0.833	0.828	0.560	0.948	0.897	0.667	0.598	0.753
	Без дебита нефти забойного и пластового давления		51	15	5	12	0.759	0.706	0.773	0.739	0.444	0.911	0.811	0.545	0.480	0.632

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
	Первичная обработка вертикальных и горизонтальных скважин														
С учетом эксплуатационных характеристик и химических параметров	Все 27 (факторов) дескрипторов	74	26	13	33	0.733	0.717	0.740	0.729	0.559	0.851	0.769	0.629	0.585	0.679
	Без коэффициента продуктивности	71	29	16	30	0.692	0.652	0.710	0.681	0.509	0.816	0.764	0.571	0.532	0.617
	Без дебита нефти забойного и пластового давления	75	25	17	29	0.712	0.630	0.750	0.690	0.537	0.815	0.732	0.580	0.553	0.609
Без учета эксплуатационных характеристик, но с учетом химических параметров	Все 27 (факторов) дескрипторов	68	32	18	28	0.658	0.609	0.680	0.644	0.467	0.791	0.740	0.528	0.490	0.574
	Без коэффициента продуктивности	66	34	18	28	0.644	0.609	0.660	0.634	0.452	0.786	0.722	0.519	0.476	0.569
	Без дебита нефти забойного и пластового давления	71	29	14	32	0.706	0.696	0.710	0.703	0.525	0.835	0.733	0.598	0.552	0.653
С учетом эксплуатационных характеристик, без учета химии и объемов химии	Все 27 (факторов) дескрипторов	73	27	14	32	0.719	0.696	0.730	0.713	0.542	0.839	0.782	0.610	0.567	0.658
	Без коэффициента продуктивности	70	30	13	33	0.706	0.717	0.700	0.709	0.524	0.843	0.786	0.606	0.554	0.668
	Без дебита нефти забойного и пластового давления	74	26	13	33	0.733	0.717	0.740	0.729	0.559	0.851	0.749	0.629	0.585	0.679
С учетом эксплуатационных характеристик и объемов химии, без учета химии	Все 27 (факторов) дескрипторов	71	29	13	33	0.712	0.717	0.710	0.714	0.532	0.845	0.787	0.611	0.561	0.671
	Без коэффициента продуктивности	73	27	13	33	0.726	0.717	0.730	0.724	0.550	0.849	0.794	0.623	0.577	0.676
	Без дебита нефти забойного и пластового давления	75	25	12	34	0.747	0.739	0.750	0.745	0.576	0.862	0.764	0.648	0.603	0.700

Примечания: TN – истинно отрицательные случаи прогноза; FR – ложноположительные случаи прогноза; FN – ложноотрицательные случаи прогноза; TP – истинно положительные случаи прогноза; Acc – площадь под кривой; TPR – истинно положительный показатель; TNR – ложноположительный показатель; BA – сбалансированная точность; PPV – прогностическая значимость положительной классификации; PNV – доля ложных пропусков; AUC – качество работы классификатора; F_1 – среднее гармоническое точности и полноты; F_0.5 – F-мера с приоритетом точности; F_2 – F-мера с приоритетом полноты. Изменение цвета от зеленого к красному отражает снижение сбалансированной точности предсказания.

3. Прогноз результатов лабораторных исследований с использованием методов машинного обучения

В качестве исходных данных использованы результаты лабораторного изучения константы скорости реакции на основе 114 уникальных параметров, включающих результаты рентгенофазного анализа пород, SARA-анализа насыщающих флюидов (асфальтены, смолы и парафины) и содержание серы.

Задача по изучению предсказательной способности моделей для прогнозирования скорости кинетических реакций при известных составах слагающих породу минералов и содержаниях асфальтенов, смол, парафинов, серы и кислотных составов в насыщающей нефти рассматривается как задача регрессии. Для этого использованы линейные и нелинейные методы машинного обучения, такие как линейная регрессия и метод случайного леса.

На первом этапе из общего набора дескрипторов были отобраны дескрипторы для построения модели. Затем проводили усреднение дескрипторов, масштабирование и удаление дубликатов. На третьем этапе осуществляли построение и обучение модели с использованием пятикратной перекрестной валидации с десятью повторениями. На заключительном этапе собирали и анализировали статистические данные по всем моделям (всего было построено более 7000 моделей).

Для нахождения линейной зависимости использовали основанный на методе наименьших квадратов метод LinearModel, имплементированный в библиотеке scikit-learn [19]. Были построены модели на малом наборе дескрипторов, и лучшие модели затем использованы для предсказания константы скорости реакции.

Результаты предсказательной способности наилучшей регрессионной модели представлены на рис. 2, а. Значения коэффициента детерминации (R^2) и среднеквадратичной ошибки RMSE равны 0.6 и 0.18 соответственно.

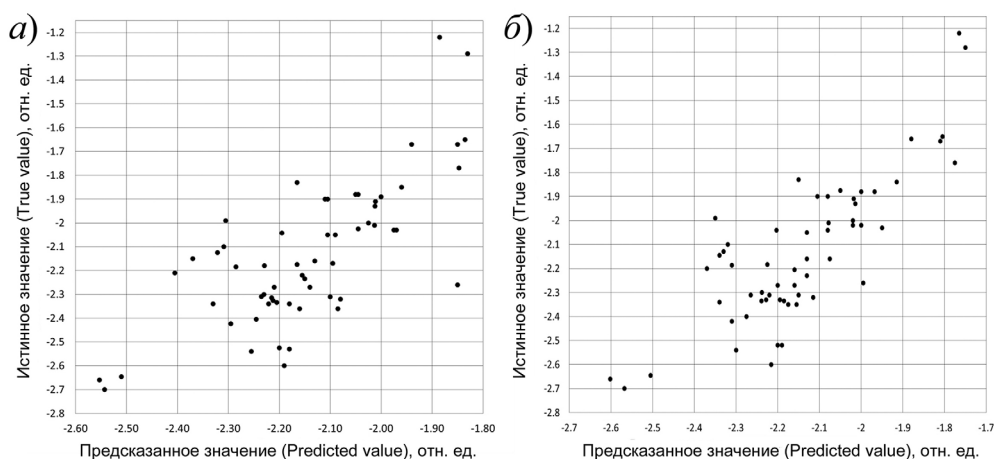


Рис. 2. Качество регрессионной модели, построенной на малом наборе дескрипторов: а) метод линейной регрессии; б) метод Random Forest

Для нахождения нелинейной зависимости использовали метод случайного леса (Random Forest, RF), имплементированный в библиотеку scikit-learn [19]. Количество деревьев установлено на уровне 100, настраиваемый гиперпараметр

модели – $\max_features(\log 2)$. В целях получения надежной оценки предсказательной способности модели и во избежание переобучения использована процедура вложенной перекрестной валидации. Выбор гиперпараметра $\max_features$ модели RF осуществляли таким образом, чтобы обеспечить максимальную предсказательную способность моделей во внутреннем скользящем перекрестном контроле на основе RMSE. Лучшие модели, построенные на малом наборе дескрипторов, использованы для предсказания константы скорости реакции (рис. 2, б). Значения коэффициента детерминации (R^2) и среднеквадратичной ошибки (RMSE) равны 0.59 и 0.19 соответственно.

Исходя из этих результатов, можно сделать вывод, что полученные регрессионные модели обладают средней предсказательной способностью.

Для определения вклада каждого признака, описывающего объект, в предсказанное значение свойства этого объекта был проведен SHAP-анализ. Ввиду более дифференцированного влияния факторов в модели случайного леса для дальнейшего предсказания применяли этот метод.

Анализ значений SHAP позволяет констатировать, что наибольшее влияние на константу скорости реакции оказывают следующие факторы (по степени убывания):

- типы коммерческих кислотных составов, использованных для ОПЗ;
- содержание в составе карбонатных пород примесей кварца и полевого шпата;
- содержание в насыщающих нефтях серы, смол, асфальтенов и парафинов, причем влияние уменьшается в представленном ряде от серы к парафинам.

Таким образом, установлено, что успешная предсказательная модель основывается на методе случайного леса и использует такие признаки, как состав нефти, наличие кварца и полевого шпата, а также принадлежность нефти к эксплуатационному горизонту.

Для интерпретации лучшего набора признаков, выбранного в методе случайного леса, был использован метод дерева принятия решений. В данном случае масштабирование данных не проводили. Визуализация сложных деревьев принятия решений в виде решающих правил вместо иерархической структуры из узлов и листьев может оказаться более удобной для восприятия (рис. 3). Следует отметить, что чем больше значение константы скорости реакции, тем ближе цвет вершины к темно-оранжевому в представленной визуализации, и наоборот, чем меньше, тем цвет ближе к белому.

Заключение

Анализ результатов применения методов машинного обучения показывает, что на сегодняшний день резерв повышения эффективности технологий ОПЗ не исчерпан. Прогноз результатов выполнения обработки и прогноз исходных данных, получаемых в лабораторных условиях на основе сформированной по результатам экспериментов базы данных, позволяет через систему правил значительно упростить задачи, решаемые при планировании и проектировании работ по ОПЗ.

Наполнение базы данных, используемой при создании прогнозных моделей, позволяет значительно повысить адекватность полученных моделей. По результатам выполненных работ получены два решения, позволяющие использовать полученные модели прогноза показателей.

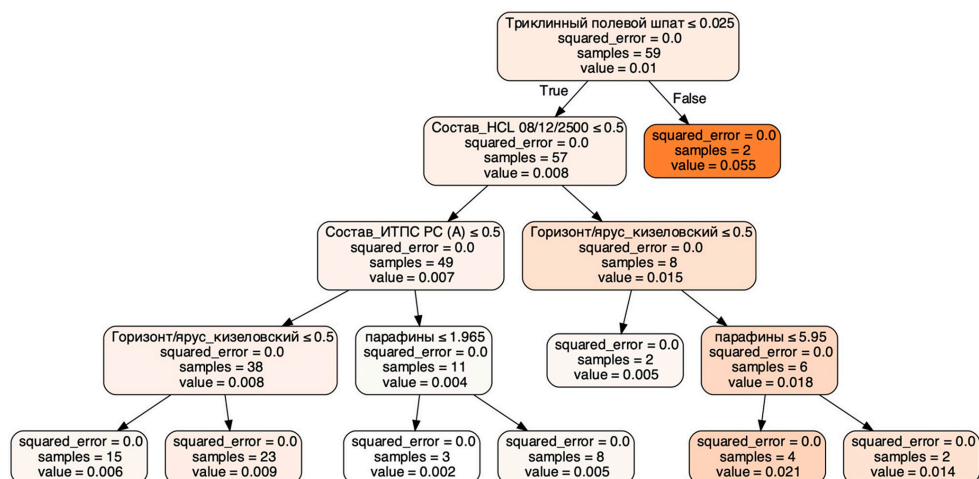


Рис. 3. Иерархическая древовидная структура, состоящая из решающих правил для предсказания константы скорости реакции

Первая модель – это система подбора скважин для интенсификации добычи нефти, встроенная в технологическую базу мониторинга работы скважин АРМИТС (автоматизированные рабочие места инженерно-технологической службы) и позволяющая в режиме реального времени отслеживать потенциальный фонд для выполнения ОПЗ.

Вторая модель – система прогнозирования кинетики реакции кислотных композиций с породами дифференцированного минералогического состава, реализованная с помощью статистически значимой модели на основе случайного леса в виде интернет-ресурса tatneft2023.cimm.site. Прогнозная константа кинетики реакции используется в дизайне и проектировании ОПЗ.

В дополнение к существующим подходам к решению задачи по оптимизации ОПЗ, положения, изложенные в данной работе, позволяют значительно упростить систему прогнозирования и подготовки данных для проектирования и выполнения ОПЗ.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по договору № 075-15-2022-299 в рамках программы развития Научного центра мирового уровня «Рациональное освоение запасов жидких углеводородов планеты».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Akbar M., Vissapragada B., Alghamdi A.H., Allen D., Herron M., Carnegie A., Dutta D., Olesen J.R., Chourasiya R.D., Logan D., Stief D., Netherwood R., Russell S.D., Saxena, K. A snapshot of carbonate reservoir evaluation // *Oilfield Rev.* 2000. V. 12, No 4. P. 20–41.
2. Burchette T.P. Carbonate rocks and petroleum reservoirs: A geological perspective from the industry // Garland J., Neilson J.E., Laubach S.E., Whidden K.J. (Eds.) *Advances in Carbonate Exploration and Reservoir Analysis*. Ser.: *GSL Special Publications*. V. 370. Geol. Soc. London, 2012. P. 17–37. <https://doi.org/10.1144/SP370.14>.
3. Janjuhah H.T., Alansari A. Offshore carbonate facies characterization and reservoir quality of Miocene rocks in the southern margin of South China Sea // *Acta Geol. Sin.* 2020. V. 94, No 5. P. 1547–1561. <https://doi.org/10.1111/1755-6724.13880>.
4. Hall-Thompson B., Ernesto A.R., Abdulrahman N., Alsuhaime A. Acid stimulation-best practices for design, selection and testing of acid recipes in low permeability carbonate reservoirs // *Proc. Int. Pet. Technol. Conf.* (January 13–15, 2020). Dhahran, 2020. Art. IPTC-19690-MS. <https://doi.org/10.2523/IPTC-19690-MS>.
5. Насибулин И.М. Обоснование технологии кислотной стимуляции карбонатных коллекторов на основе многофункциональных композиций с регулируемой реакционной способностью: автореф. дис. ... канд. техн. наук. СПб., 2013. 20 с.
6. Копытов А.Г., Левкович С.В., Левитина Е.Е., Ковалев И.А. Эффективность кислотной обработки призабойной зоны скважины для отложений с трудноизвлекаемыми запасами // *Наука. Инновации. Технологии*. 2021. № 4. С. 27–40. <https://doi.org/10.37493/2308-4758.2021.4.2>.
7. Sengul M., Remisio L.H.A. Applied carbonate stimulation – an engineering approach // *Proc. Abu Dhabi Int. Pet. Exhib. Conf.* (October 13–16, 2002). Abu Dhabi, UAE, 2002. Art. SPE-78560-MS. <https://doi.org/10.2118/78560-MS>.
8. Бурнашев В.Ф., Хужаеров Б.Х. Моделирование кислотной обработки доломитового коллектора призабойной зоны нефтяного пласта с учетом кольматации породы // *Изв. РАН. МЖГ*. 2015. № 1. С. 78–85.
9. Economides M.J., Nolte K.G. (Eds.) *Reservoir Stimulation*. New York, NY: Prentice Hall, 1989. 440 p.
10. Liu X., Ormond A., Bartko K., Li Y., Ortoleva P. A geochemical reaction-transport simulator for matrix acidizing analysis and design // *J. Pet. Sci. Eng.* 1997. V. 17, Nos 1–2. P. 181–196. [https://doi.org/10.1016/S0920-4105\(96\)00064-2](https://doi.org/10.1016/S0920-4105(96)00064-2).
11. Новиков В.А. Методика прогнозирования эффективности матричных кислотных обработок карбонатов // *Недропользование*. 2021. Т. 21, № 3. С. 137–143. <https://doi.org/10.15593/2712-8008/2021.3.6>.
12. Галкин В.И., Хижняк Г.П., Амиров А.М., Гладких Е.А. Оценка эффективности воздействия кислотных составов на керны с использованием регрессионного анализа // *Вестник ПНИПУ. Геология. Нефтегазовое и горное дело*. 2014. № 13. С. 38–48. <https://doi.org/10.15593/2224-9923/2014.13.4>.
13. Fredd C.N. Dynamic model of wormhole formation demonstrates conditions for effective skin reduction during carbonate matrix acidizing // *Proc. SPE Permian Basin Oil Gas Recovery Conf.* (March 21–23, 2000). Midland, TX, 2000. Art. SPE-59537-MS. <https://doi.org/10.2118/59537-MS>.
14. Safari A., Dowlatabad M.M., Hassani A., Rashidi F. Numerical simulation and X-ray imaging validation of wormhole propagation during acid core-flood experiments in a carbonate gas reservoir // *J. Nat. Gas Sci. Eng.* 2016. V. 30. P. 539–547. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2016.02.036>.

15. Курганов Д.В. Оценка эффективности обработок призабойных зон нефтяных скважин с применением методов машинного обучения // Автоматизация процессов управления. 2020. № 1 (59). С. 47–57. <https://doi.org/10.35752/1991-2927-2020-1-5-47-54>.
16. Zangl G., Hannerer J. Data Mining: Applications in the Petroleum Industry. East Nynehead: Round Oak Publ., 2003. 222 p.
17. Хадавиногоаддам Ф., Мищенко И.Т., Мостаджежан М. Применение методов искусственного интеллекта в прогнозировании основных свойств нефти // Газовая промышленность. 2019. № 12 (794). С. 28–32.
18. Scikit-Learn User Guide. URL: https://scikit-learn.org/stable/_downloads/scikit-learn-docs.pdf.
19. Pedregosa F., Varoquaux G., Gramfort A., Michel V., Thirion B., Grisel O., Blondel M., Prettenhofer P., Weiss R., Dubourg V., Vanderplas J., Passos A., Cournapeau D., Brucher M., Perrot M., Duchesnay É. Scikit-learn: Machine learning in Python // J. Mach. Learn. Res. 2011. V. 12. P. 2825–2830.

Поступила в редакцию 27.04.2024

Принята к публикации 29.07.2024

Маннанов Ильдар Илгизович, кандидат технических наук, доцент кафедры разработки и эксплуатации месторождений трудноизвлекаемых углеводородов Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: ildarmannanov@mail.ru

Варфоломеев Михаил Алексеевич, кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой разработки и эксплуатации месторождений трудноизвлекаемых углеводородов Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: vma.ksu@gmail.com

Ганиева Гузель Рафиковна, кандидат технических наук, доцент кафедры разработки и эксплуатации месторождений трудноизвлекаемых углеводородов Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: gguzelrafikovna@mail.ru

Гимаева Алина Рашитовна, кандидат технических наук, доцент кафедры разработки и эксплуатации месторождений трудноизвлекаемых углеводородов Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: argimaeva@yandex.ru

Гиниятуллин Радель Рамилевич, аспирант кафедры разработки и эксплуатации месторождений трудноизвлекаемых углеводородов Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: radel0099@gmail.com

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.623-639

Application of Machine Learning for Target Selection and Acid Treatment Design*I.I. Mannanov**, *M.A. Varfolomeev***, *G.R. Ganieva****, *A.R. Gimaeva*****,
*R.R. Giniyatullin*******Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia*E-mail: **ildarmannanov@mail.ru*, ***vma.ksu@gmail.com*, ****gguzelrafikovna@mail.ru*,
*****argimaeva@yandex.ru*, ******radel0099@gmail.com*

Received April 27, 2024; Accepted July 29, 2024

Abstract

Acid treatment is commonly used to enhance the production capacity of wells drilled in carbonate deposits. However, field outcomes of this procedure may vary significantly. Current approaches to acid treatment design rely on advanced software tools that evaluate major acidizing factors. Machine learning is a valuable complement to the existing techniques: it facilitates the selection of target wells and aids in defining initial parameters for design engineering on reliable and effective software platforms. This study examines potential applications of machine learning in target selection based on the history of treatment outcomes influenced by the initial well conditions, operational conditions, treatment frequency, acid volumes, acid system types, pretreatment strategies, acid system diverters, and acid residence time. Acid treatment design requires complex laboratory work to investigate the kinetics of acid-rock interactions determined by the mineral composition of the rock formation and the chemical properties of the acid system, including the concentrations of its components. The problem of predicting the reaction kinetics of acid systems by processing an array of laboratory data using machine learning methods, specifically linear regression and random forest methods, was discussed. It was demonstrated that the incorporation of machine learning enables the development of robust decision-making algorithms that optimize acid treatment by considering its multifactorial effects. These algorithms significantly simplify the tasks of acid treatment design.

Keywords: vibrational spectra, molecular structure, electronography, quantum chemical calculations

Acknowledgments. This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under agreement no. 075-15-2022-299 within the framework of the development program for a world-class research center “Efficient development of the global liquid hydrocarbon reserves.”

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Hierarchical tree structure of decision rules for the primary processing system of vertical and horizontal wells.

Fig. 2. Performance of the regression model using a small set of descriptors: *a)* linear regression; *b)* random forest.

Fig. 3. Hierarchical tree structure of decision rules for predicting the reaction rate constant.

References

1. Akbar M., Vissapragada B., Alghamdi A.H., Allen D., Herron M., Carnegie A., Dutta D., Olesen J.R., Chourasiya R.D., Logan D., Stief D., Netherwood R., Russell S.D., Saxena, K. A snapshot of carbonate reservoir evaluation. *Oilfield Rev.*, 2000, vol. 12, no. 4, pp. 20–41.
2. Burchette T.P. Carbonate rocks and petroleum reservoirs: A geological perspective from the industry. In: Garland J., Neilson J.E., Laubach S.E., Whidden K.J. (Eds.) *Advances in Carbonate Exploration*

- and Reservoir Analysis*. Ser.: GSL Special Publications. Vol. 370. Geol. Soc. London, 2012. pp. 17–37. <https://doi.org/10.1144/SP370.14>.
3. Janjuhah H.T., Alansari A. Offshore carbonate facies characterization and reservoir quality of Miocene rocks in the southern margin of South China Sea. *Acta Geol. Sin.*, 2020, vol. 94, no. 5, pp. 1547–1561. <https://doi.org/10.1111/1755-6724.13880>.
 4. Hall-Thompson B., Ernesto A.R., Abdulrahman N., Alsuhaime A. Acid stimulation-best practices for design, selection and testing of acid recipes in low permeability carbonate reservoirs. *Proc. Int. Pet. Technol. Conf. (January 13–15, 2020)*. Dhahran, 2020, art. IPTC-19690-MS. <https://doi.org/10.2523/IPTC-19690-MS>.
 5. Nasibulin I.M. Justification of acid stimulation technique for carbonate reservoirs using multifunctional compositions with controlled reactivity. *Extended Abstract of Cand. Tech. Sci. St. Petersburg*, 2013. 20 p. (In Russian)
 6. Kopytov A.G., Levkovich S.V., Levitina E.E., Kovalev I.A. Efficiency of acid treatment of the bottom borehole zone of the well for sediments with hard-to-remove reserves. *Nauka. Innovatsii. Tekhnol.*, 2021, no. 4, pp. 27–40. <https://doi.org/10.37493/2308-4758.2021.4.2>. (In Russian)
 7. Sengul M., Remisio L.H.A. Applied carbonate stimulation – an engineering approach. *Proc. Abu Dhabi Int. Pet. Exhib. Conf. (October 13–16, 2002)*. Abu Dhabi, UAE, 2002, art. SPE-78560-MS. <https://doi.org/10.2118/78560-MS>.
 8. Burnashev V.F., Khuzhaerov B.K. Modeling the acid treatment of the dolomitic collector of an oil formation bottom-hole zone with account of rock colmatation. *Fluid Dyn.*, 2015, vol. 50, no. 1, pp. 71–78. <https://doi.org/10.1134/S0015462815010081>.
 9. Economides M.J., Nolte K.G. (Eds.) *Reservoir Stimulation*. New York, NY, Prentice Hall, 1989. 440 p.
 10. Liu X., Ormond A., Bartko K., Li Y., Ortoleva P. A geochemical reaction-transport simulator for matrix acidizing analysis and design. *J. Pet. Sci. Eng.*, 1997, vol. 17, nos. 1–2, pp. 181–196. [https://doi.org/10.1016/S0920-4105\(96\)00064-2](https://doi.org/10.1016/S0920-4105(96)00064-2).
 11. Novikov V.A. The method of predicting efficiency of the matrix acid treatment of carbonates. *Perm J. Pet. Min. Eng.*, 2021, vol. 21, no. 3, pp. 137–143. <https://doi.org/10.15593/2712-8008/2021.3.6>.
 12. Galkin V.I., Khizhnyak G.P., Amirov A.M., Gladkikh E.A. Assessing the efficiency of core sample acidizing using regression analysis. *Vestn. PNIPU. Geol. Neftegazov. Gorn. Delo*, 2014, no. 13, pp. 38–48. <https://doi.org/10.15593/2224-9923/2014.13.4>. (In Russian)
 13. Fredd C.N. Dynamic model of wormhole formation demonstrates conditions for effective skin reduction during carbonate matrix acidizing. *Proc. SPE Permian Basin Oil Gas Recovery Conf.* (March 21–23, 2000). Midland, TX, 2000, art. SPE-59537-MS. <https://doi.org/10.2118/59537-MS>.
 14. Safari A., Dowlatabad M.M., Hassani A., Rashidi F. Numerical simulation and X-ray imaging validation of wormhole propagation during acid core-flood experiments in a carbonate gas reservoir. *J. Nat. Gas Sci. Eng.*, 2016, vol. 30, pp. 539–547. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2016.02.036>.
 15. Kurganov D.V. Assessing the effectiveness of bottomhole treatment in oil wells using machine learning techniques. *Avtom. Protsessov Upr.*, 2020, no. 1 (59), pp. 47–57. <https://doi.org/10.35752/1991-2927-2020-1-5-47-54>. (In Russian)
 16. Zangl G., Hannerer J. *Data Mining: Applications in the Petroleum Industry*. East Nynehead, Round Oak Publ., 2003. 222 p.
 17. Hadavimoghaddam F., Mishchenko I.T., Mostajeran M. Using artificial intelligence methods in forecasting the key oil properties. *Gazov. Prom-st.*, 2019, no. 12 (794), pp. 28–32. (In Russian)
 18. Scikit-Learn User Guide. URL: https://scikit-learn.org/stable/_downloads/scikit-learn-docs.pdf.
 19. Pedregosa F., Varoquaux G., Gramfort A., Michel V., Thirion B., Grisel O., Blondel M., Prettenhofer P., Weiss R., Dubourg V., Vanderplas J., Passos A., Cournapeau D., Brucher M., Perrot M., Duchesnay É. Scikit-learn: Machine learning in Python. *J. Mach. Learn. Res.*, 2011, vol. 12, no. 85, pp. 2825–2830.

⟨ Для цитирования: Маннанов И.И., Варфоломеев М.А., Ганиева Г.Р., Гимаева А.Р., Гиниятуллин Р.Р. Применение машинного обучения в задачах выбора объектов воздействия и проектирования кислотной обработки // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 4. С. 623–639. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.623-639>. ⟩

⟨ For citation: Mannanov I.I., Varfolomeev M.A., Ganieva G.R., Gimaeva A.R., Giniyatullin R.R. Application of machine learning for target selection and acid treatment design. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 4, pp. 623–639. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.623-639>. (In Russian) ⟩

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 577.112.34+548.562

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.640-657

ПРОМОТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ ГИДРАТА УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ЛИМОННОЙ И АМИНОКИСЛОТ

*Ш.Э. Гайнуллин^{1,2}, П.Ю. Казакова¹, Р.С. Павельев^{1,2}, В.М. Тавочкин¹,
М.А. Варфоломеев¹*

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

²Казанский национальный исследовательский технологический университет,
г. Казань, 420015, Россия

Аннотация

Синтезированы и исследованы новые амиды некоторых аминокислот и лимонной кислоты, которые улучшают кинетику образования гидрата углекислого газа. Эти соединения могут стать потенциальными эффективными промоторами гидратообразования при низких концентрациях. Показано, что добавление в раствор амида лимонной кислоты и норлейцина (CTR+Nle) способствует увеличению конверсии воды в гидрат и существенно снижению времени индукции. Так, для раствора с концентрацией 0.05 масс. % конверсия увеличилась до 57 ± 3 %, что на 21 и 3.1 % больше по сравнению с конверсией в системах без добавок и с добавлением раствора додецилсульфата натрия (SDS) соответственно. Время индукции в присутствии CTR+Nle снижается до 35 мин, что в 8.1 раза меньше, чем в отсутствие добавок, и в 5.8 раза меньше, чем в случае применения раствора триптофана, который является известным промотором образования гидратов углекислого газа.

Ключевые слова: газовые гидраты, гидраты углекислого газа, хранение парниковых газов, промотирование гидратообразования, аминокислоты, лимонная кислота, кинетические промоторы гидратообразования, утилизация углекислого газа.

Введение

Рост энергопотребления в мире [1] неуклонно приводит к увеличению выбросов парниковых газов, таких как углекислый газ, метан и попутный нефтяной газ. Основными источниками выбросов углекислого газа являются промышленная деятельность и тепловые электростанции [1]. Для обеспечения устойчивости окружающей среды необходимо обеспечить снижение выбросов парниковых газов. Одним из подходов к решению этой задачи является улавливание и захоронение углекислого газа, образующегося в ходе различных промышленных процессов. Разработка способов улавливания углекислого газа является актуальным направлением исследований и требует оригинальных решений.

Один из наиболее интенсивно изучаемых подходов к утилизации парниковых газов основан на использовании газогидратов и характеризуется относительно низким потреблением энергии [2]. Гидратная технология является перспективной за счет непрерывного образования гидрата углекислого газа, что

позволяет обрабатывать большие объемы потока газа при меньших эксплуатационных затратах [3].

Газовые гидраты представляют собой класс льдоподобных кристаллических соединений включения, в которых ячеистый кристаллический каркас образован молекулами воды, связанными водородными связями, а молекулы газов заполняют ячейки этого каркаса. Газовые гидраты образуются в результате захвата молекул газа молекулами воды в условиях высокого давления и низкой температуры.

Поскольку углекислый газ склонен к гидратообразованию при низких давлениях, он быстрее, чем другие газы, образует гидраты. Затем выделенный углекислый газ может быть изолирован или сохранен в резервуарах в виде гидрата.

Чтобы сделать технологии улавливания углекислого газа на основе гидратов устойчивыми и жизнеспособными, необходимо обеспечить высокую стабильность гидратов, значительную скорость и глубину реакции их образования. Известно, что зарождение гидратов носит стохастический характер, а дальнейший их рост происходит относительно медленно. Таким образом, в настоящее время первостепенной задачей является уменьшение времени начала гидратообразования (времени индукции), увеличение скорости роста газовых гидратов и конверсии этого процесса. Достижению этих целей способствуют механические воздействия, такие как перемешивание или распыление/барботаж [4, 5] или присутствие некоторых промотирующих агентов (пористые среды [3, 6–11], наночастицы [12, 13] и химические промотирующие реагенты [14–16]).

Промоторы гидратообразования подразделяются на термодинамические и кинетические. Участвуя в образовании гидратов, термодинамические промоторы могут изменять/сдвигать равновесные условия образования гидратов в сторону более низких давлений и высоких температур по сравнению с исходными системами без промоторов, однако конкурируют с молекулами газа за полости в гидрате. В качестве термодинамических промоторов образования гидрата углекислого газа можно использовать различные вещества, например, циклопентан [17], тетра-*n*-бутил хлорид аммония [18] и тетрагидрофуран, которые способны стабилизировать гидраты CO_2 в условиях, близких к атмосферным [19–22]. Использование термодинамических промоторов позволяет получать газогидраты при более низком давлении и высокой температуре. Однако в этом случае снижается конверсия газа в гидрат. Кроме того, термодинамические промоторы не решают проблему медленного роста гидрата, а иногда даже усугубляют ее [14–16, 23–26].

Кинетические промоторы, напротив, в основном представляют собой добавки, которые помогают уменьшить время индукции и повысить скорость образования гидратов, но сами не участвуют в гидратообразовании. Таким образом, условия образования гидратов (температура и давление) и их структура не будут затронуты включением кинетических промоторов. Также кинетические промоторы добавляют в значительно меньших концентрациях по сравнению с термодинамическими, которые могут проявлять токсические свойства [27, 28]. Так, например, тетрагидрофуран, хорошо изученный термодинамический промотор образования гидрата, чаще всего используют в концентрации 5.6 моль %, что соответствует 19.1 масс. %, в то время как концентрации кинетических промоторов обычно составляют от 0.025 до 0.5 масс. % [22, 29–35].

К известным кинетическим промоторам относятся поверхностно-активные вещества (ПАВ) [36], среди которых наиболее эффективным и часто применяемым является анионный додецилсульфат натрия (SDS) [37-40]. Промотирующая активность анионных ПАВ, в том числе SDS, хорошо изучена и обычно принимается в качестве эталонного значения. Однако ПАВ оказывают негативное воздействие на окружающую среду, создавая экологические проблемы [38-40]. Поэтому разработка и применение биоразлагаемых реагентов на основе природных соединений, обладающих способностью эффективно промотировать гидратообразование, будут способствовать минимизации нагрузки на окружающую среду, а также повышению эффективности процессов улавливания углекислого газа.

Этим требованиям соответствуют промоторы на основе аминокислот, имеющих природное происхождение. Известно, что многие аминокислоты, такие как триптофан, метионин, лейцин и др., являются промоторами гидратообразования [41-50]. Однако вследствие меньшей эффективности промотирующей активности по сравнению с ПАВ аминокислоты используются в более высоких концентрациях. Для улучшения промотирующей активности аминокислот необходимо синтезировать их производные.

Ранее нашей научной группой были синтезированы и изучены этилендиаминтетраацетамид и бисамиды этилендиаминтетрауксусной кислоты в качестве эффективных промоторов образования гидрата метана [51, 52]. В продолжение изучения производных этилендиаминтетрауксусной кислоты в качестве потенциальных промоторов газогидратов без образования пены разработаны производные аминокислот на основе тетраамидов этилендиамина, которые показали очень хорошие результаты в качестве промоторов образования гидрата метана и углекислого газа [6, 53, 54].

В продолжение исследований в этом направлении в настоящей работе проведен синтез амидов лимонной и аминокислот и оценена кинетика образования гидрата углекислого газа при их использовании в качестве промоторов. Лимонная кислота является трехосновной карбоновой кислотой, содержащей одну гидроксильную группу, что удобно для осуществления модификации. Кроме того, она является безопасным и доступным соединением, а также имеет строение, отдаленно схожее со строением ранее изученной этилендиаминтетрауксусной кислоты.

1. Экспериментальная часть

1.1. Стандартная методика получения промоторов. Общая схема получения амидов лимонной и аминокислот представлена на рис. 1. В качестве исходного соединения использован доступный и нетоксичный триэтилцитрат, широко применяемый в пищевой, парфюмерной и косметической промышленности. Каждую аминокислоту перед введением в реакцию переводили в натриевую соль действием эквимольного количества гидроксида натрия на каждую карбоксильную группу аминокислоты. К 1 экв. триэтилцитрата добавляли 3 экв. натриевой соли аминокислоты в 50 % об. водном метаноле и перемешивали в течение 3 дней при 60 °С. По завершении реакции растворитель выпаривали при пониженном давлении в ротационном испарителе. Продукт промывали ацетоном и высушивали.

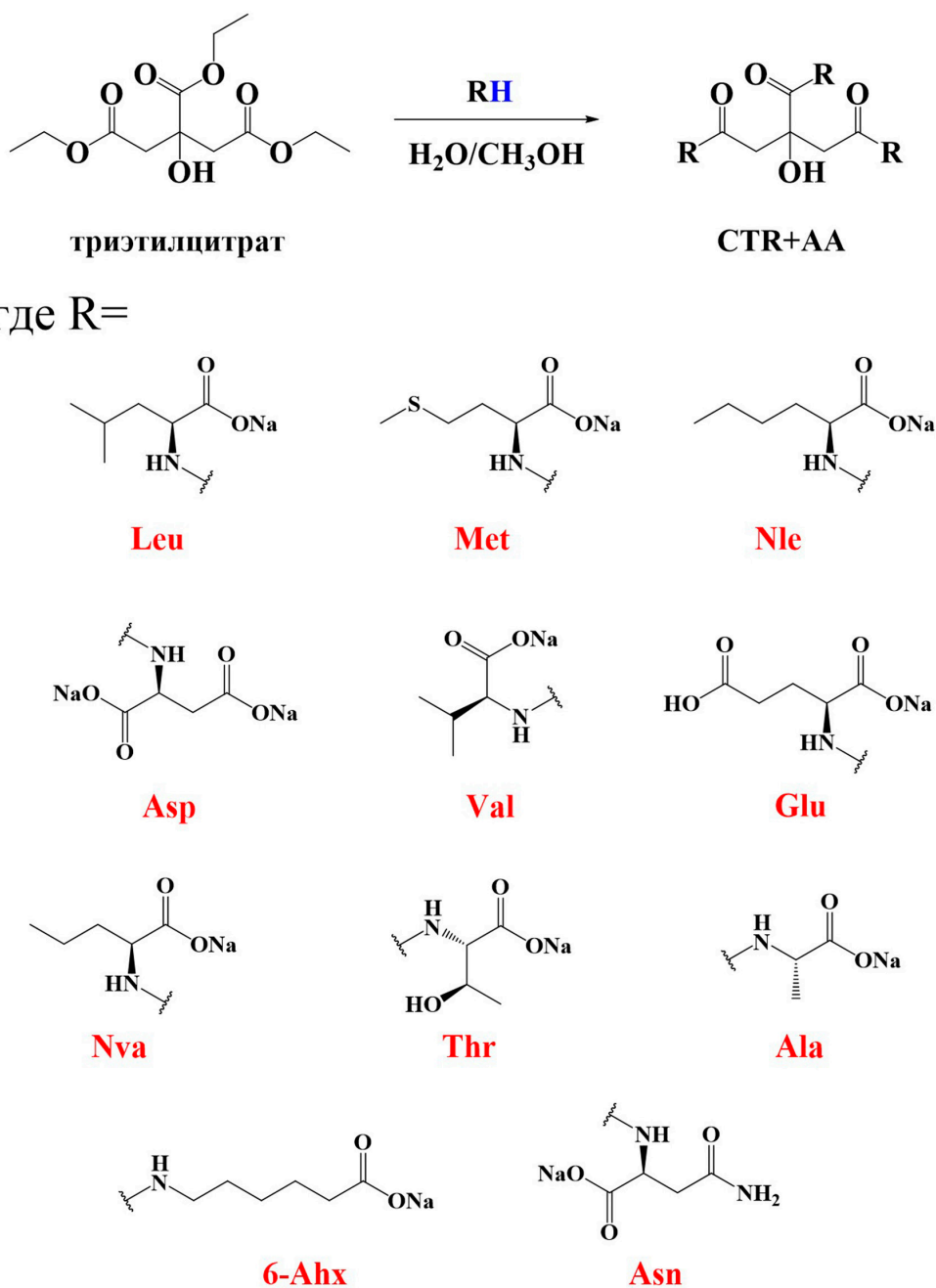


Рис. 1. Схема синтеза промоторов гидратообразования на основе амидов лимонной и аминокислот, где Leu – лейцин, Met – метионин, Nle – норлейцин, Asp – аспарагиновая кислота, Val – валин, Glu – глутаминовая кислота, Nva – норвалин, Thr – треонин, Ala – аланин, 6-Ahx – 6-аминогексановая кислота, Asn – аспарагин

Структура полученных амидов подтверждена методом ЯМР-спектроскопии. ^1H , ^{13}C ЯМР-спектры регистрировали на спектрометре Avance II (Bruker, Германия) с рабочей частотой 400.17 МГц (^1H) и 100.62 МГц (^{13}C) в D_2O . Остаточные сигналы H_2O использовали в качестве эталонов в спектрах ^1H .

Соотношение интегральных интенсивностей, химические сдвиги и мультиплетность всех сигналов однозначно подтверждают структуру полученных соединений.

CTR+Leu: выход соединения 96 %. ^1H NMR (δ , м.д.): 3.46 (m, 3H), 2.62 (m, 4H), 1.58 (m, 9H), 0.92 (m, 18H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 180.77, 179.58, 74.74, 62.65, 54.31, 46.19, 45.91, 42.49, 24.53, 22.48, 21.39.

CTR+Met: выход соединения 95 %. ^1H NMR (δ , м.д.): 3.33 (m, 3H), 2.56 (m, 10H), 2.11 (s, 9H), 1.83 (m, 6H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 183.18, 182.33, 179.66, 75.54, 55.59, 46.10, 34.49, 30.05, 14.43.

CTR+Nle: выход соединения 94 %. ^1H NMR (δ , м.д.): 3.66 (t, 3H), 2.55 (m, 4H), 1.80 (m, 6H), 1.34 (m, 12H), 0.90 (t, 9H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 179.62, 178.28, 176.58, 75.55, 55.30, 46.24, 45.98, 30.96, 26.80, 21.99, 13.30.

CTR+Asp: выход соединения 96 %. ^1H NMR (δ , м.д.): 3.72 (m, 3H), 2.60 (m, 10H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 179.02, 178.32, 177.97, 177.10, 74.79, 53.27, 46.25, 39.71.

CTR+Val: выход соединения 95 %. ^1H NMR (δ , м.д.): 3.48 (s, 3H), 2.62 (m, 4H), 2.19 (m, 3H), 0.95 (m, 18H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 179.62, 178.29, 176.30, 75.54, 60.96, 46.07, 29.89, 18.47, 16.98.

CTR+Glu: выход соединения 93 %. ^1H NMR (δ , м.д.): 3.43 (m, 3H), 2.47 (m, 4H), 2.19 (m, 6H), 2.86 (m, 6H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 182.29, 178.49, 178.33, 74.77, 55.48, 46.25, 34.06, 29.33.

CTR+Nva: выход соединения 92 %. ^1H NMR (δ , м.д.): 3.55 (m, 3H), 2.54 (m, 4H), 1.72 (m, 6H), 1.34 (m, 6H), 0.92 (t, 9H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 179.62, 178.27, 177.04, 74.78, 55.31, 46.23, 34.20, 18.29, 13.34.

CTR+Thr: выход соединения 87 %. ^1H NMR (δ , м.д.): δ 4.12 (m, 3H), 3.39 (m, 3H), 2.54 (m, 4H), 1.27 (d, 9H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 178.29, 177.05, 175.92, 74.78, 67.47, 61.22, 46.24, 19.61.

CTR+Ala: выход соединения 94 %. ^1H NMR (δ , м.д.): 3.63 (q, 3H), 2.53 (m, 4H), 1.38 (d, 9H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 179.61, 178.52, 178.28, 177.08, 74.75, 51.03, 46.23, 17.64.

CTR+6-Ahx: выход соединения 95 %. ^1H NMR (δ , м.д.): 2.94 (t, 6H), 2.54 (m, 4H), 2.19 (t, 6H), 1.58 (m, 12H), 1.36 (m, 6H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 183.97, 179.57, 75.48, 46.19, 45.91, 39.73, 37.49, 27.38, 25.71, 25.48.

CTR+Asn: выход соединения 90 %. ^1H NMR (δ , м.д.): 3.3 (m, 3H), 3.63 (m, 10H). ^{13}C NMR (δ , м.д.): 178.58, 178.31, 177.11, 176.18, 74.79, 52.84, 46.26, 38.53.

1.2. Эксперимент по образованию гидрата углекислого газа. Исследования гидратообразования углекислого газа в присутствии промоторов проводили с использованием автоклава высокого давления. Схема установки для проведения эксперимента по оценке эффективности промоторов образования гидратов представлена на рис. 2. Для этого использовали водные растворы промоторов с концентрацией 0.05 масс. %.

В автоклав высокого давления 8 объемом 284 мл добавляли 50 мл воды или раствора промотора, удаляли остаточный воздух из ячейки трехкратным продуванием исследуемым газом с давлением 0.5 МПа из баллона 1. Затем в автоклавную ячейку высокого давления 8 с помощью газового бустера (PSL Systemtechnik, Германия) 2 подавали давление до 3.5 МПа при температу-

ре 20°C , начинали перемешивание со скоростью 400 об/мин с помощью верхнеприводной мешалки 5, после чего запускали систему сбора данных 11, которые регистрировали на локальном компьютере 12. Затем с помощью термостата 9 осуществляли цикл охлаждения от $+20^{\circ}\text{C}$ до $+2^{\circ}\text{C}$ за 1 ч с последующим переходом в изотермический режим при $+2^{\circ}\text{C}$ в течение 8 ч. С целью обеспечения точности результатов для каждого образца проводилось не менее трех экспериментов. Степень превращения воды в гидрат углекислого газа рассчитывали по изменению давления в ячейке. Погрешности измерения температуры и давления составляют 0.1°C и 0.005 МПа соответственно.

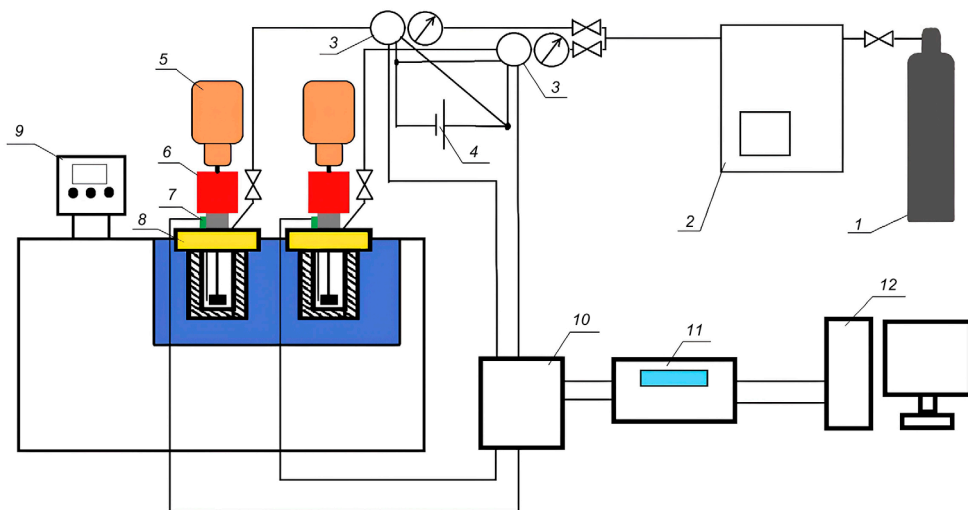


Рис. 2. Схема лабораторной установки для оценки эффективности промоторов образования гидратов: 1 – баллон углекислого газа, 2 – газовый бустер, 3 – датчик давления, 4 – источник постоянного тока, 5 – верхнеприводная мешалка, 6 – магнитная муфта, 7 – термopapa, 8 – автоклавная ячейка высокого давления, 9 – термостат, 10 – коммутатор, 11 – прецизионный преобразователь сигнала, 12 – компьютер

Для расчета времени индукции использовали данные об изменении температуры и давления в камере в зависимости от времени. Время индукции определяли как продолжительность от момента пересечения равновесных условий образования гидрата углекислого газа, полученных по программе CSMGem [55], до момента начала образования гидрата, наблюдаемого в эксперименте, которое сопровождается резким падением давления, что наблюдалось на P – T -диаграмме. Для расчета коэффициента сжимаемости, который, в свою очередь, был использован в газовом уравнении состояния для расчета количества поглощенного газа и конверсии воды в гидрат углекислого газа, было применено уравнение Пенга–Робинсона [56].

Результаты исследований представлены как среднее значение и стандартное отклонение.

2. Результаты и их обсуждение

Изучена кинетика образования гидрата углекислого газа в присутствии 11-ти новых производных аминокислот. Влияние амидов этих аминокислот на кинетику образования гидрата углекислого газа оценивали по таким параметрам,

как время индукции и конверсия воды в гидрат. Промотирующие свойства производных аминокислот сравнивали с SDS и триптофаном, известными как эффективные промоторы, а также с дистиллированной водой. Результаты исследований представлены в табл. 1 и на рис. 3.

Табл. 1

Время индукции и максимальная конверсия воды в гидрат при образовании гидрата углекислого газа в чистой воде и в присутствии SDS, триптофана и синтезированных амидов (CTR+AA) с массовой концентрацией 0.05 масс. %

Образец	Время индукции, мин	Конверсия воды в гидрат, %
Вода	283 ± 173	36 ± 3
SDS	40 ± 2	53.9 ± 0.6
Триптофан	202 ± 22	59.6 ± 0.3
CTR+Leu	30 ± 3	48 ± 4
CTR+Met	45 ± 13	49.2 ± 0.4
CTR+Nle	35 ± 4	57 ± 3
CTR+Asp	318 ± 4	47 ± 2
CTR+Val	46 ± 11	50 ± 3
CTR+Glu	34 ± 10	47 ± 1
CTR+Nva	113 ± 56	49.2 ± 0.9
CTR+Thr	42 ± 6	41 ± 3
CTR+Ala	177 ± 8	46 ± 2
CTR+6-Ahx	240 ± 11	31 ± 4
CTR+Asn	133 ± 5	49 ± 2

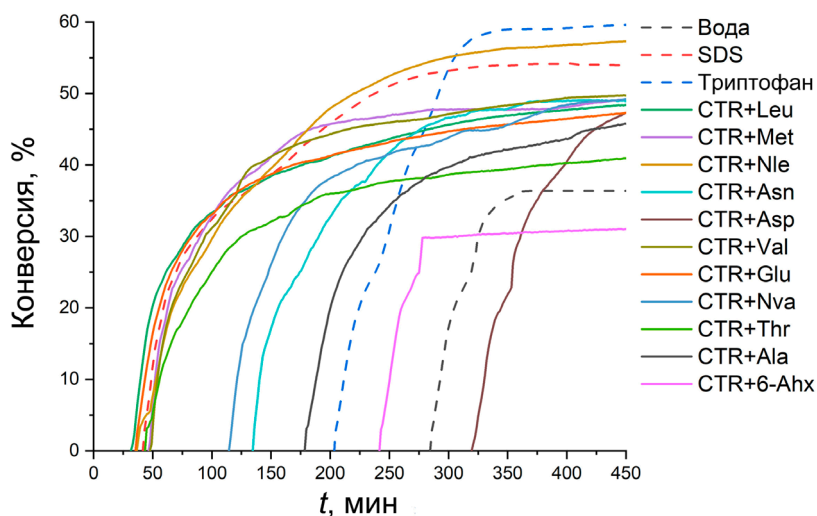


Рис. 3. Зависимость конверсии воды в гидрат от времени после пересечения равновесной кривой гидратообразования для чистой воды и 0.05 масс. % водных растворов SDS, триптофана и CTR+AA

Серьезными проблемами при образовании гидрата углекислого газа без использования промоторов являются продолжительное среднее время индукции (более 250 мин) с большим разбросом и низкое значение конверсии воды в гидрат (36 ± 3 %). Добавление триптофана почти в два раза увеличивает конверсию воды

в гидрат (до $59.6 \pm 0.3 \%$), но лишь незначительно уменьшает время индукции (до 202 мин) и его стандартное отклонение. SDS значительно снижает время индукции (до 40 мин) и повышает конверсию (до $53.9 \pm 0.6 \%$).

Добавление амидов лимонной и аминокислот (CTR+AA), за исключением CTR+6-Ahx, способствует увеличению конверсии воды в гидрат по сравнению с чистой водой. Для большинства растворов CTR+AA конверсия воды в гидрат находится в диапазоне 46–50 %, что выше значений для чистой воды ($36 \pm 3 \%$), но ниже значений конверсии в растворе триптофана ($59.6 \pm 0.3 \%$) и SDS ($53.9 \pm 0.6 \%$). Добавление CTR+Nle увеличивает конверсию до $57 \pm 3 \%$, что соответствует поглощению 88 ммоль углекислого газа на 1 моль воды.

Время индукции для всех растворов CTR+AA, кроме CTR+Asp, ниже, чем для чистой воды. CTR+6-Ahx также характеризуется большим значением времени индукции (240 мин), которое выше, чем для раствора триптофана. Для растворов соединений CTR+Nva, CTR+Ala, CTR+Asn время индукции лежит в пределах 113–177 мин. В свою очередь, добавление CTR+Leu, CTR+Met, CTR+Nle, CTR+Val, CTR+Glu, CTR+Thr способствует значительному снижению времени индукции (до 30–46 мин), что сопоставимо со значением времени индукции раствора SDS (40 мин).

Из совокупности характеристик можно заключить, что растворы соединений CTR+Leu, CTR+Met, CTR+Val и CTR+Glu с концентрацией 0.05 масс. % могут быть использованы как эффективные промоторы образования гидрата углекислого газа, так как отличаются коротким временем индукции – 30, 45, 46 и 34 мин соответственно и способствуют достижению высоких значений конверсии (48 ± 4 , 49.2 ± 0.4 , 50 ± 3 и $47 \pm 1 \%$ для CTR+Leu, CTR+Met, CTR+Val и CTR+Glu соответственно).

Лидером среди синтезированных промоторов является CTR+Nle, для которого среднее значение конверсии воды в гидрат на 3.1 % выше, а время индукции на 5 мин меньше, чем для раствора SDS, однако эти различия являются статистически незначимыми. Раствор триптофана, хоть и обеспечивает наибольшую конверсию, характеризуется слишком длительным временем индукции (202 мин), которое в 5.8 раза больше времени индукции для раствора CTR+Nle, что является существенным недостатком и затрудняет использование триптофана в качестве эффективного промотора образования гидрата углекислого газа.

Заключение

Синтезированы и охарактеризованы 11 новых производных лимонной и аминокислот, которые способствуют улучшению кинетики образования гидрата углекислого газа. Показано, что растворы большинства синтезированных соединений с концентрацией 0.05 масс. % увеличивают поглощение углекислого газа до 70–77 ммоль газа на 1 моль воды, что соответствует конверсии воды в гидрат в диапазоне 46–50 %. Также добавление этих соединений существенно снижает время индукции, которое для большинства промоторов составляет 30–46 мин, что статистически достоверно ниже времени индукции раствора триптофана (202 мин) и чистой воды (283 мин). Наилучшие характеристики демонстрирует амид лимонной кислоты и норлейцина (CTR+Nle), что позволяет рассматривать

его в качестве потенциального высокоэффективного промотора образования гидрата углекислого газа, использующегося в малых концентрациях.

Благодарности. Работа выполнена в рамках программы Приоритет-2030 (исследование промотирующей активности полученных соединений) и за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект FZSM-2024-0003) (получение новых соединений).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Aminu M.D., Nabavi S.A., Rochelle C.A., Manovic V. A review of developments in carbon dioxide storage // *Appl. Energy*. 2017. V. 208. P. 1389–1419. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.09.015>.
2. Li L., Fan S., Chen Q., Yang G., Zhao J., Wei N., Wen Y. Experimental and modeling phase equilibria of gas hydrate systems for post-combustion CO₂ capture // *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 2019. V. 96. P. 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.11.007>.
3. Babu P., Kumar R., Linga P. Pre-combustion capture of carbon dioxide in a fixed bed reactor using the clathrate hydrate process // *Energy*. 2013. V. 50. P. 364–373. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2012.10.046>.
4. House K.Z., Schrag D.P., Harvey C.F., Lackner K.S. Permanent carbon dioxide storage in deep-sea sediments // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103, No 33. P. 12291–12295. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605318103>.
5. Qureshi M.F., Atilhan M., Altamash T., Aparicio S., Aminnaji M., Tohidi B. High-pressure gas hydrate autoclave hydraulic experiments and scale-up modeling on the effect of stirring RPM effect // *J. Nat. Gas Sci. Eng.* 2017. V. 38. P. 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2016.12.023>.
6. Chirkova Y.F., Varfolomeev M.A., Mirzakimov U.Zh., Gainullin S.E., Semenov M.E., Stoporev A.S., Pavelyev R.S. Influence of kinetic promoters with different surface-active properties on methane and natural gas hydrate formation in porous media // *Fuel*. 2024. V. 369. Art. 131727. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2024.131727>.
7. Partoon B., Sabil K.M., Lau K.K., Lal B., Nasrifar K. Production of gas hydrate in a semi-batch spray reactor process as a means for separation of carbon dioxide from methane // *Chem. Eng. Res. Des.* 2018. V. 138. P. 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2018.08.024>.
8. Khlebnikov V.N., Antonov S.V., Mishin A.S., Liang M., Khamidullina I.V., Zobov P.M., Likhacheva N.V., Gushchin P.A. Major factors influencing the generation of natural gas hydrate in porous media // *Nat. Gas Ind. B*. 2017. V. 4, No 6. P. 442–448. <https://doi.org/10.1016/j.ngib.2017.09.006>.
9. Stoporev A., Kadyrov R., Adamova T., Statsenko E., Nguyen T.H., Yarakhmedov M., Semenov A., Manakov A. Three-dimensional-printed polymeric cores for methane hydrate enhanced growth // *Polymers*. 2023. V. 15, No 10. Art. 2312. <https://doi.org/10.3390/polym15102312>.
10. Adeyemo A., Kumar R., Linga P., Ripmeester J., Englezos P. Capture of carbon dioxide from flue or fuel gas mixtures by clathrate crystallization in a silica gel column // *Int. J. Greenhouse Gas Control*. 2010. V. 4, No 3. P. 478–485. <https://doi.org/10.1016/j.ijggc.2009.11.011>.

11. *Seo Y., Kang S.-P.* Enhancing CO₂ separation for pre-combustion capture with hydrate formation in silica gel pore structure // *Chem. Eng. J.* 2010. V. 161, Nos 1–2. P. 308–312. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.04.032>.
12. *ZareNezhad B., Montazeri V., Rahimi M.* Experimental and theoretical investigations regarding the effect of chromium oxide nanoparticles on the CO₂ gas capture through gas hydrate process in petroleum industry // *Pet. Sci. Technol.* 2019. V. 37, No 8. P. 869–875. <https://doi.org/10.1080/10916466.2018.1517166>.
13. *Li A., Luo D., Jiang L., Wang J., Zhou Y.* Experimental study on CO₂ hydrate formation in the presence of TiO₂, SiO₂, MWNTs nanoparticles // *Sep. Sci. Technol.* 2019. V. 54, No 15. P. 2498–2506. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1548481>.
14. *Nesterov A.N., Reshetnikov A.M.* New combination of thermodynamic and kinetic promoters to enhance carbon dioxide hydrate formation under static conditions // *Chem. Eng. J.* 2019. V. 378. Art. 122165. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122165>.
15. *Hassan M.H.A., Sher F., Zarren G., Suleiman N., Tahir A.A., Snape C.E.* Kinetic and thermodynamic evaluation of effective combined promoters for CO₂ hydrate formation // *J. Nat. Gas Sci. Eng.* 2020. V. 78. Art. 103313. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2020.103313>.
16. *Daraboina N., von Solms N.* The combined effect of thermodynamic promoters tetrahydrofuran and cyclopentane on the kinetics of flue gas hydrate formation // *J. Chem. Eng. Data.* 2015. V. 60, No 2. P. 247–251. <https://doi.org/10.1021/je500529w>.
17. *Li S., Fan S., Wang J., Lang X., Wang Y.* Clathrate hydrate capture of CO₂ from simulated flue gas with cyclopentane/water emulsion // *Chin. J. Chem. Eng.* 2010. V. 18, No 2. P. 202–206. [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(08\)60343-2](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(08)60343-2).
18. *Zhong D.-L., Wang W.-C., Lu Y.-Y., Yan J.* Using tetra-*n*-butyl ammonium chloride semiclathrate hydrate for methane separation from low-concentration coal mine gas // *Energy Procedia.* 2017. V. 105. P. 4854–4858. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.961>.
19. *Kumar A., Veluswamy H.P., Kumar R., Linga P.* Kinetic promotion of mixed methane–THF hydrate by additives: Opportune to energy storage // *Energy Procedia.* 2019. V. 158. P. 5287–5292. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.01.647>.
20. *Veluswamy H.P., Premasinghe K.P., Linga P.* CO₂ hydrates – effect of additives and operating conditions on the morphology and hydrate growth // *Energy Procedia.* 2017. V. 105. P. 5048–5054. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.1019>.
21. *Torré J.-P., Ricaurte M., Dicharry C., Broseta D.* CO₂ enclathration in the presence of water-soluble hydrate promoters: Hydrate phase equilibria and kinetic studies in quiescent conditions // *Chem. Eng. Sci.* 2012. V. 82. P. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2012.07.025>.
22. *Phan A., Schlösser H., Striolo A.* Molecular mechanisms by which tetrahydrofuran affects CO₂ hydrate growth: Implications for carbon storage // *Chem. Eng. J.* 2021. V. 418. Art. 129423. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.129423>.
23. *Majid A.A.A., Worley J., Koh C.A.* Thermodynamic and kinetic promoters for gas hydrate technological applications // *Energy Fuels.* 2021. V. 35, No 23. P. 19288–19301. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c02786>.
24. *Mech D., Gupta P., Sangwai J.S.* Kinetics of methane hydrate formation in an aqueous solution of thermodynamic promoters (THF and TBAB) with and without kinetic promoter (SDS) // *J. Nat. Gas Sci. Eng.* 2016. V. 35, Pt. B. P. 1519–1534. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2016.06.013>.
25. *Partoon B., Javanmardi J.* Effect of mixed thermodynamic and kinetic hydrate promoters on methane hydrate phase boundary and formation kinetics // *J. Chem. Eng. Data.* 2013. V. 58, No 3. P. 501–509. <https://doi.org/10.1021/je301153t>.

26. *Pahlavanzadeh H., Hassan H., Pourranjbar M.* Hydrate dissociation conditions of CH₄ in the presence of TBANO₃ and cyclopentane promoter mixture: Thermodynamic modeling and experimental measurement // *J. Chem. Eng. Data*. 2020. V. 65, No 4. P. 1927–1935. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.9b01108>.
27. *Yao Y., Guan J., Tang P., Jiao H., Lin C., Wang J., Lu Z., Min H., Gao H.* Assessment of toxicity of tetrahydrofuran on the microbial community in activated sludge // *Bioresour. Technol.* 2010. V. 101, No 14. P. 5213–5221. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.051>.
28. *Hermida S.A.S., Possari E.P.M., Souza D.B., de Arruda Campos I.P., Gomes O.F., Di Mascio P., Medeiros M.H.G., Loureiro A.P.M.* 2'-Deoxyguanosine, 2'-deoxycytidine, and 2'-deoxyadenosine adducts resulting from the reaction of tetrahydrofuran with DNA bases // *Chem. Res. Toxicol.* 2006. V. 19, No 7. P. 927–936. <https://doi.org/10.1021/tx060033d>.
29. *Liu X., Li Y., Chen G.-J., Chen D.-Y., Sun B., Yin Z.* Coupling amino acid with THF for the synergistic promotion of CO₂ hydrate micro kinetics: Implication for hydrate-based CO₂ sequestration // *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2023. V. 11, No 15. P. 6057–6069. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.3c00593>.
30. *Kim S., Lee S.H., Kang Y.T.* Characteristics of CO₂ hydrate formation/dissociation in H₂O + THF aqueous solution and estimation of CO₂ emission reduction by district cooling application // *Energy*. 2017. V. 120. P. 362–373. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2016.11.086>.
31. *Delahaye A., Fournaison L., Marinhas S., Chatti I., Petitet J.-P., Dalmazzone D., Fürst W.* Effect of THF on equilibrium pressure and dissociation enthalpy of CO₂ hydrates applied to secondary refrigeration // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2006. V. 45, No 1. P. 391–397. <https://doi.org/10.1021/ie050356p>.
32. *Sun Q., Kang Y.T.* Experimental correlation for the formation rate of CO₂ hydrate with THF (tetrahydrofuran) for cooling application // *Energy*. 2015. V. 91. P. 712–719. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2015.08.089>.
33. *Liu X., Ren J., Chen D., Yin Z.* Comparison of SDS and L-methionine in promoting CO₂ hydrate kinetics: Implication for hydrate-based CO₂ storage // *Chem. Eng. J.* 2022. V. 438. Art. 135504. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135504>.
34. *Molokitina N.S., Nesterov A.N., Podenko L.S., Reshetnikov A.M.* Carbon dioxide hydrate formation with SDS: Further insights into mechanism of gas hydrate growth in the presence of surfactant // *Fuel*. 2019. V. 235. P. 1400–1411. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.08.126>.
35. *Deng X.-Y., Yang Y., Zhong D.-L., Li X.-Y., Ge B.-B., Yan J.* New insights into the kinetics and morphology of CO₂ hydrate formation in the presence of sodium dodecyl sulfate // *Energy Fuels*. 2021. V. 35, No 17. P. 13877–13888. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c01494>.
36. *Dashti H., Yew L.Z., Lou X.* Recent advances in gas hydrate-based CO₂ capture // *J. Nat. Gas Sci. Eng.* 2015. V. 23. P. 195–207. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2015.01.033>.
37. *Zhong Y., Rogers R.E.* Surfactant effects on gas hydrate formation // *Chem. Eng. Sci.* 2000. V. 55, No 19. P. 4175–4187. [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(00\)00072-5](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(00)00072-5).
38. *Farhadian A., Heydari A., Maddah M., Hosseini M.S., Sadeh E., Peyvandi K., Varaminian F.* Renewable biosurfactants for energy-efficient storage of methane: An experimental and computational investigation // *Chem. Eng. J.* 2022. V. 427. Art. 131723. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131723>.
39. *He Y., Sun M.-T., Chen C., Zhang G.-D., Chao K., Lin Y., Wang F.* Surfactant-based promotion to gas hydrate formation for energy storage // *J. Mater. Chem. A*. 2019. V. 7, No 38. P. 21634–21661. <https://doi.org/10.1039/C9TA07071K>.

40. Mohammadi A., Babakhanpour N., Javidani A.M., Ahmadi G. Corn's dextrin, a novel environmentally friendly promoter of methane hydrate formation // *J. Mol. Liq.* 2021. V. 336. Art. 116855. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116855>.
41. Veluswamy H.P., Bhattacharjee G., Liao J., Linga P. Macroscopic kinetic investigations on mixed natural gas hydrate formation for gas storage application // *Energy Fuels*. 2020. V. 34, No 12. P. 15257–15269. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c01862>.
42. Khandelwal H., Qureshi M.F., Zheng J., Venkataraman P., Barckholtz T.A., Mhadeshwar A.B., Linga P. Effect of L-tryptophan in promoting the kinetics of carbon dioxide hydrate formation // *Energy Fuels*. 2021. V. 35, No 1. P. 649–658. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c03709>.
43. Bhavya T., Sai Kiran B., Prasad P.S.R. The role of stirring and amino acid mixtures to surpass the sluggishness of CO₂ hydrates // *Energy Fuels*. 2021. V. 35, No 17. P. 13937–13944. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c01830>.
44. Bhattacharjee G., Linga P. Amino acids as kinetic promoters for gas hydrate applications: A mini review // *Energy Fuels*. 2021. V. 35, No 9. P. 7553–7571. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c00502>.
45. Sai Kiran B., Bhavya T., Prasad P.S.R. Collective impact of amino acids on clathrate hydrates of the CO₂ + CH₄ gas mixture // *Energy Fuels*. 2022. V. 36, No 18. P. 10618–10626. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.2c01329>.
46. Pandey J.S., Daas Y.J., Karcz A.P., von Solms N. Methane hydrate formation behavior in the presence of selected amino acids // *J. Phys.: Conf. Ser.* 2020. V. 1580, No 1. Art. 012003. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1580/1/012003>.
47. Li Y., Yin Z., Lu H., Xu C., Liu X., Huang H., Chen D., Linga P. Evaluation of amino acid L-leucine as a kinetic promoter for CO₂ sequestration as hydrate: A kinetic and morphological study // *J. Environ. Chem. Eng.* 2023. V. 11, No 6. Art. 111363. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111363>.
48. Srivastava S., Kollemparembil A.M., Zettel V., Claßen T., Gatternig B., Delgado A., Hitzmann B. Experimental investigation of CO₂ uptake in CO₂ hydrates formation with amino acids as kinetic promoters and its dissociation at high temperature // *Sci. Rep.* 2022. V. 12, No 1. Art. 8359. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12538-1>.
49. Prasad P.S.R., Sai Kiran B. Are the amino acids thermodynamic inhibitors or kinetic promoters for carbon dioxide hydrates? // *J. Nat. Gas Sci. Eng.* 2018. V. 52. P. 461–466. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2018.02.001>.
50. Pandey J.S., Daas Y.J., von Solms N. Screening of amino acids and surfactant as hydrate promoter for CO₂ capture from flue gas // *Processes*. 2020. V. 8, No 1. Art. 124. <https://doi.org/10.3390/pr8010124>.
51. Farhadian A., Varfolomeev M., Abdelhay Z., Emelianov D., Delaunay A., Dalmazzone D., Accelerated methane hydrate formation by ethylene diamine tetraacetamide as an efficient promoter for methane storage without foam formation // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2019. V. 58, No 19. P. 7752–7760. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b00803>.
52. Pavelyev R.S., Gainullin S.E., Semenov M.E., Zaripova Y.F., Yarkovoi V.V., Luneva A.I., Farhadian A., Varfolomeev M.A. Dual promotion-inhibition effects of novel ethylenediaminetetraacetic acid bisamides on methane hydrate formation for gas storage and flow assurance applications // *Energy Fuels*. 2022. V. 36, No 1. P. 290–297. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c03381>.
53. Gainullin S.E., Farhadian A., Kazakova P.Y., Semenov M.E., Chirkova Y.F., Heydari A., Pavelyev R.S., Varfolomeev M.A. Novel amino acid derivatives for efficient methane solidification storage via clathrate hydrates without foam formation // *Energy Fuels*. 2023. V. 37, No 4. P. 3208–3217. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.2c03923>.

54. Gainullin S.E., Kazakova P.Y., Pavelyev R.S., Chirkova Y.F., Semenov M.E., Varfolomeev M.A. Comparison of the promoting activity of amides of ethylenediaminetetraacetic acid and some amino acids in the nucleation and growth of hydrates of methane and carbon dioxide // Chem. Technol. Fuels Oils. 2023. V. 59, No 4. P. 726–731. <https://doi.org/10.1007/s10553-023-01576-8>.
55. Ballard A.L., Sloan E.D., Jr. The next generation of hydrate prediction: An overview // J. Supramol. Chem. 2002. V. 2, Nos 4–5. P. 385–392. [https://doi.org/10.1016/S1472-7862\(03\)00063-7](https://doi.org/10.1016/S1472-7862(03)00063-7).
56. Малышев В.Л., Мусеева Е.Ф., Калиновский Ю.В. Расчет коэффициента сверхсжимаемости основных компонент природного газа методом молекулярной динамики // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. 2019. Т. 330, № 11. С. 121–129. <https://doi.org/10.18799/24131830/2019/11/2356>.

Поступила в редакцию 08.08.2024

Принята к публикации 05.09.2024

Гайнуллин Шамиль Эдуардович, младший научный сотрудник НИЛ Гидратных технологий утилизации и хранения парниковых газов Института геологии и нефтегазовых технологий; аспирант кафедры «Органической химии имени академика А.Е. Арбузова» Института нефти, химии и нанотехнологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия

Казанский национальный исследовательский технологический университет
ул. Карла Маркса, д. 68, г. Казань, 420015, Россия
E-mail: gse.suns@gmail.com

Казакова Полина Юрьевна, лаборант-исследователь НИЛ Гидратных технологий утилизации и хранения парниковых газов Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: kpolina2288@gmail.com

Павельев Роман Сергеевич, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник НИЛ Гидратных технологий утилизации и хранения парниковых газов Института геологии и нефтегазовых технологий; доцент кафедры «Органической химии имени академика А.Е. Арбузова» Института нефти, химии и нанотехнологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия

Казанский национальный исследовательский технологический университет
ул. Карла Маркса, д. 68, г. Казань, 420015, Россия
E-mail: rpavelyev@gmail.com

Тавочкин Владимир Максимович, лаборант НИЛ Гидратных технологий утилизации и хранения парниковых газов Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: vova.tvachkin@yandex.ru

Варфоломеев Михаил Алексеевич, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник НИЛ Гидратных технологий утилизации и хранения парниковых газов, заведующий кафедрой разработки и эксплуатации месторождений трудноизвлекаемых углеводородов Института геологии и нефтегазовых технологий

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: mikhail.varfolomeev@kpfu.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.640-657

Promoters of Carbon Dioxide Hydrate Formation Derived from Citric and Amino Acids*S.E. Gainullin^{a,b*}, P.Yu. Kazakova^{a**}, R.S. Pavelyev^{a,b***}, V.M. Tavochkin^{a****},
M.A. Varfolomeev^{a*****}*^aKazan Federal University, Kazan, 420008 Russia^bKazan National Research Technological University, Kazan, 420015 RussiaE-mail: ^{*}*gse.suns@gmail.com*, ^{**}*kpolina2288@gmail.com*, ^{***}*rpavelyev@gmail.com*,
^{****}*vova.tvachkin@yandex.ru*, ^{*****}*mikhail.varfolomeev@kpfu.ru*

Received August 8, 2024; Accepted September 5, 2024

Abstract

Novel amides of some amino and citric acids were synthesized and studied for their ability to improve the kinetics of carbon dioxide hydrate formation. It was demonstrated that these compounds can be effective promoters of hydrate formation, even at low concentrations. The addition of citric acid and norleucine amide (CTR+Nle) increased the water-to-hydrate conversion and significantly reduced the induction time. At a concentration of 0.05 wt. %, the conversion rate reached 57 ± 3 %, which is 21 and 3.1 % higher than in water without additives and sodium dodecyl sulfate (SDS) solution, respectively. In the presence of CTR+Nle, the induction time decreased to 35 min, which is an 8.1-fold reduction compared to water without additives, as well as 5.8-fold less than with tryptophan solution known as a promoter of carbon dioxide hydrate formation.

Keywords: gas hydrates, carbon dioxide hydrates, greenhouse gas storage, hydrate formation promotion, amino acids, citric acid, kinetic promoters of hydrate formation, carbon dioxide capture

Acknowledgments. The research on the promoter activity of the obtained compounds was supported by the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program (PRIORITY-2030), and the synthesis of new compounds was funded by the subsidy allocated to Kazan Federal University for the state assignment in the sphere of scientific activities (project no. FZSM-2024-0003).

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Reaction scheme for the synthesis of hydrate formation promoters from citric and amino acid amides, where Leu – leucine, Met – methionine, Nle – norleucine, Asp – aspartic acid, Val – valine, Glu – glutamic acid, Nva – norvaline, Thr – threonine, Ala – alanine, 6-Ahx – 6-aminohexanoic acid, Asn – asparagine.

Fig. 2. Schematic diagram of the laboratory setup for assessing of the effectiveness of hydrate formation promoters: 1 – carbon dioxide cylinder, 2 – gas booster, 3 – pressure sensor, 4 – DC source, 5 – overhead stirrer, 6 – magnetic coupling, 7 – thermocouple, 8 – high-pressure autoclave cell, 9 – thermostat, 10 – switcher, 11 – precision signal converter, 12 – PC.

Fig. 3. Dependence of the water-to-hydrate conversion on time after the equilibrium curve of hydrate formation is exceeded for water without additives and 0.05 wt. % aqueous solutions of SDS, tryptophan, and CTR+AA.

References

1. Aminu M.D., Nabavi S.A., Rochelle C.A., Manovic V. A review of developments in carbon dioxide storage. *Appl. Energy*, 2017, vol. 208, pp. 1389–1419. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.09.015>.
2. Li L., Fan S., Chen Q., Yang G., Zhao J., Wei N., Wen Y. Experimental and modeling phase equilibria of gas hydrate systems for post-combustion CO₂ capture. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 2019, vol. 96, pp. 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.11.007>.
3. Babu P., Kumar R., Linga P. Pre-combustion capture of carbon dioxide in a fixed bed reactor using the clathrate hydrate process. *Energy*, 2013, vol. 50, pp. 364–373. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2012.10.046>.
4. House K.Z., Schrag D.P., Harvey C.F., Lackner K.S. Permanent carbon dioxide storage in deep-sea sediments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, vol. 103, no. 33, pp. 12291–12295. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605318103>.
5. Qureshi M.F., Atilhan M., Altamash T., Aparicio S., Aminnaji M., Tohidi B. High-pressure gas hydrate autoclave hydraulic experiments and scale-up modeling on the effect of stirring RPM effect. *J. Nat. Gas Sci. Eng.*, 2017, vol. 38, pp. 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2016.12.023>.
6. Chirkova Y.F., Varfolomeev M.A., Mirzakimov U.Zh., Gainullin S.E., Semenov M.E., Stoporev A.S., Pavelyev R.S. Influence of kinetic promoters with different surface-active properties on methane and natural gas hydrate formation in porous media. *Fuel*, 2024, vol. 369, art. 131727. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2024.131727>.
7. Partoon B., Sabil K.M., Lau K.K., Lal B., Nasrifar K. Production of gas hydrate in a semi-batch spray reactor process as a means for separation of carbon dioxide from methane. *Chem. Eng. Res. Des.*, 2018, vol. 138, pp. 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2018.08.024>.
8. Khlebnikov V.N., Antonov S.V., Mishin A.S., Liang M., Khamidullina I.V., Zobov P.M., Likhacheva N.V., Gushchin P.A. Major factors influencing the generation of natural gas hydrate in porous media. *Nat. Gas Ind. B*, 2017, vol. 4, no. 6, pp. 442–448. <https://doi.org/10.1016/j.ngib.2017.09.006>.
9. Stoporev A., Kadyrov R., Adamova T., Statsenko E., Nguyen T.H., Yarakhmedov M., Semenov A., Manakov, A. Three-dimensional-printed polymeric cores for methane hydrate enhanced growth. *Polymers*, 2023, vol. 15, no. 10, art. 2312. <https://doi.org/10.3390/polym15102312>.
10. Adeyemo A., Kumar R., Linga P., Ripmeester J., Englezos P. Capture of carbon dioxide from flue or fuel gas mixtures by clathrate crystallization in a silica gel column. *Int. J. Greenhouse Gas Control*, 2010, vol. 4, no. 3, pp. 478–485. <https://doi.org/10.1016/j.ijggc.2009.11.011>.
11. Seo Y., Kang S.-P. Enhancing CO₂ separation for pre-combustion capture with hydrate formation in silica gel pore structure. *Chem. Eng. J.*, 2010, vol. 161, nos. 1–2, pp. 308–312. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.04.032>.
12. ZareNezhad B., Montazeri V., Rahimi M. Experimental and theoretical investigations regarding the effect of chromium oxide nanoparticles on the CO₂ gas capture through gas hydrate process in petroleum industry. *Pet. Sci. Technol.*, 2019, vol. 37, no. 8, pp. 869–875. <https://doi.org/10.1080/10916466.2018.1517166>.
13. Li A., Luo D., Jiang L., Wang J., Zhou Y. Experimental study on CO₂ hydrate formation in the presence of TiO₂, SiO₂, MWNTs nanoparticles. *Sep. Sci. Technol.*, 2019, vol. 54, no. 15, pp. 2498–2506. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1548481>.
14. Nesterov A.N., Reshetnikov A.M. New combination of thermodynamic and kinetic promoters to enhance carbon dioxide hydrate formation under static conditions. *Chem. Eng. J.*, 2019, vol. 378, art. 122165. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122165>.
15. Hassan M.H.A., Sher F., Zarren G., Suleiman N., Tahir A.A., Snape C.E. Kinetic and thermodynamic evaluation of effective combined promoters for CO₂ hydrate formation. *J. Nat. Gas Sci. Eng.*, 2020, vol. 78, art. 103313. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2020.103313>.
16. Daraboina N., von Solms N. The combined effect of thermodynamic promoters tetrahydrofuran and cyclopentane on the kinetics of flue gas hydrate formation. *J. Chem. Eng. Data*, 2015, vol. 60, no. 2, pp. 247–251. <https://doi.org/10.1021/je500529w>.

17. Li S., Fan S., Wang J., Lang X., Wang Y. Clathrate hydrate capture of CO₂ from simulated flue gas with cyclopentane/water emulsion. *Chin. J. Chem. Eng.*, 2010, vol. 18, no. 2, pp. 202–206. [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(08\)60343-2](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(08)60343-2).
18. Zhong D.-L., Wang W.-C., Lu Y.-Y., Yan J. Using tetra-*n*-butyl ammonium chloride semiclathrate hydrate for methane separation from low-concentration coal mine gas. *Energy Procedia*, 2017, vol. 105, pp. 4854–4858. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.961>.
19. Kumar A., Veluswamy H.P., Kumar R., Linga P. Kinetic promotion of mixed methane–THF hydrate by additives: Opportune to energy storage. *Energy Procedia*, 2019, vol. 158, pp. 5287–5292. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.01.647>.
20. Veluswamy H.P., Premasinghe K.P., Linga P. CO₂ hydrates – effect of additives and operating conditions on the morphology and hydrate growth. *Energy Procedia*, 2017, vol. 105, pp. 5048–5054. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.1019>.
21. Torr  J.-P., Ricaurte M., Dicharry C., Broseta D. CO₂ enclathration in the presence of water–soluble hydrate promoters: Hydrate phase equilibria and kinetic studies in quiescent conditions. *Chem. Eng. Sci.*, 2012, vol. 82, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2012.07.025>.
22. Phan A., Schl sser H., Striolo A. Molecular mechanisms by which tetrahydrofuran affects CO₂ hydrate growth: Implications for carbon storage. *Chem. Eng. J.*, 2021, vol. 418, art. 129423. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.129423>.
23. Majid A.A.A., Worley J., Koh C.A. Thermodynamic and kinetic promoters for gas hydrate technological applications. *Energy Fuels*, 2021, vol. 35, no. 23, pp. 19288–19301. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c02786>.
25. Mech D., Gupta P., Sangwai J.S. Kinetics of methane hydrate formation in an aqueous solution of thermodynamic promoters (THF and TBAB) with and without kinetic promoter (SDS). *J. Nat. Gas Sci. Eng.*, 2016, vol. 35, pt. B, pp. 1519–1534. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2016.06.013>.
25. Partoon B., Javanmardi J. Effect of mixed thermodynamic and kinetic hydrate promoters on methane hydrate phase boundary and formation kinetics. *J. Chem. Eng. Data*, 2013, vol. 58, no. 3, pp. 501–509. <https://doi.org/10.1021/je301153t>.
26. Pahlavanzadeh H., Hassan H., Pourranjbar M. Hydrate dissociation conditions of CH₄ in the presence of TBANO₃ and cyclopentane promoter mixture: Thermodynamic modeling and experimental measurement. *J. Chem. Eng. Data*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 1927–1935. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.9b01108>.
27. Yao Y., Guan J., Tang P., Jiao H., Lin C., Wang J., Lu Z., Min H., Gao H. Assessment of toxicity of tetrahydrofuran on the microbial community in activated sludge. *Bioresour. Technol.*, 2010, vol. 101, no. 14, pp. 5213–5221. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.051>.
28. Hermida S.A.S., Possari E.P.M., Souza D.B., de Arruda Campos I.P., Gomes O.F., Di Mascio P., Medeiros M.H.G., Loureiro A.P.M. 2'-Deoxyguanosine, 2'-deoxycytidine, and 2'-deoxyadenosine adducts resulting from the reaction of tetrahydrofuran with DNA bases. *Chem. Res. Toxicol.*, 2006, vol. 19, no. 7, pp. 927–936. <https://doi.org/10.1021/tx060033d>.
29. Liu X., Li Y., Chen G.-J., Chen D.-Y., Sun B., Yin Z. Coupling amino acid with THF for the synergistic promotion of CO₂ hydrate micro kinetics: Implication for hydrate-based CO₂ sequestration. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2023, vol. 11, no. 15, pp. 6057–6069. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.3c00593>.
30. Kim S., Lee S.H., Kang Y.T. Characteristics of CO₂ hydrate formation/dissociation in H₂O + THF aqueous solution and estimation of CO₂ emission reduction by district cooling application. *Energy*, 2017, vol. 120, pp. 362–373. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2016.11.086>.
31. Delahaye A., Fournaison L., Marinhas S., Chatti I., Petitet J.-P., Dalmazzone D., Fürst W. Effect of THF on equilibrium pressure and dissociation enthalpy of CO₂ hydrates applied to secondary refrigeration. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2006, vol. 45, no. 1, pp. 391–397. <https://doi.org/10.1021/ie050356p>.
32. Sun Q., Kang Y.T. Experimental correlation for the formation rate of CO₂ hydrate with THF (tetrahydrofuran) for cooling application. *Energy*, 2015, vol. 91, pp. 712–719. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2015.08.089>.

33. Liu X., Ren J., Chen D., Yin Z. Comparison of SDS and L-methionine in promoting CO₂ hydrate kinetics: Implication for hydrate-based CO₂ storage. *Chem. Eng. J.*, 2022, vol. 438, art. 135504. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135504>.
34. Molokitina N.S., Nesterov A.N., Podenko L.S., Reshetnikov A.M. Carbon dioxide hydrate formation with SDS: Further insights into mechanism of gas hydrate growth in the presence of surfactant. *Fuel*, 2019, vol. 235, pp. 1400–1411. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.08.126>.
35. Deng X.-Y., Yang Y., Zhong D.-L., Li X.-Y., Ge B.-B., Yan J. New insights into the kinetics and morphology of CO₂ hydrate formation in the presence of sodium dodecyl sulfate. *Energy Fuels*, 2021, vol. 35, no. 17, pp. 13877–13888. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c01494>.
36. Dashti H., Yew L.Z., Lou X. Recent advances in gas hydrate-based CO₂ capture. *J. Nat. Gas Sci. Eng.*, 2015, vol. 23, pp. 195–207. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2015.01.033>.
37. Zhong Y., Rogers R.E. Surfactant effects on gas hydrate formation. *Chem. Eng. Sci.*, 2000, vol. 55, no. 19, pp. 4175–4187. [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(00\)00072-5](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(00)00072-5).
38. Farhadian A., Heydari A., Maddah M., Hosseini M.S., Sadeh E., Peyvandi K., Varaminian F. Renewable biosurfactants for energy-efficient storage of methane: An experimental and computational investigation. *Chem. Eng. J.*, 2022, vol. 427, art. 131723. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131723>.
39. He Y., Sun M.-T., Chen C., Zhang G.-D., Chao K., Lin Y., Wang F. Surfactant-based promotion to gas hydrate formation for energy storage. *J. Mater. Chem. A*, 2019, vol. 7, no. 38, pp. 21634–21661. <https://doi.org/10.1039/C9TA07071K>.
40. Mohammadi A., Babakhanpour N., Javidani A.M., Ahmadi G. Corn's dextrin, a novel environmentally friendly promoter of methane hydrate formation. *J. Mol. Liq.*, 2021, vol. 336, art. 116855. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116855>.
41. Veluswamy H.P., Bhattacharjee G., Liao J., Linga P. Macroscopic kinetic investigations on mixed natural gas hydrate formation for gas storage application. *Energy Fuels*, 2020, vol. 34, no. 12, pp. 15257–15269. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c01862>.
42. Khandelwal H., Qureshi M.F., Zheng J., Venkataraman P., Barckholtz T.A., Mhadeshwar A.B., Linga P. Effect of L-tryptophan in promoting the kinetics of carbon dioxide hydrate formation. *Energy Fuels*, 2021, vol. 35, no. 1, pp. 649–658. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c03709>.
43. Bhavya T., Sai Kiran B., Prasad P.S.R. The role of stirring and amino acid mixtures to surpass the sluggishness of CO₂ hydrates. *Energy Fuels*, 2021, vol. 35, no. 17, pp. 13937–13944. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c01830>.
44. Bhattacharjee G., Linga P. Amino acids as kinetic promoters for gas hydrate applications: A mini review. *Energy Fuels*, 2021, vol. 35, no. 9, pp. 7553–7571. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c00502>.
45. Sai Kiran B., Bhavya T., Prasad P.S.R. Collective impact of amino acids on clathrate hydrates of the CO₂ + CH₄ gas mixture. *Energy Fuels*, 2022, vol. 36, no. 18, pp. 10618–10626. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.2c01329>.
46. Pandey J.S., Daas Y.J., Karcz A.P., von Solms N. Methane hydrate formation behavior in the presence of selected amino acids. *J. Phys.: Conf. Ser.*, 2020, vol. 1580, no. 1, art. 012003. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1580/1/012003>.
47. Li Y., Yin Z., Lu H., Xu C., Liu X., Huang H., Chen D., Linga P. Evaluation of amino acid L-leucine as a kinetic promoter for CO₂ sequestration as hydrate: A kinetic and morphological study. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2023, vol. 11, no. 6, art. 111363. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111363>.
48. Srivastava S., Kollemparembil A.M., Zettel V., Claßen T., Gatternig B., Delgado A., Hitzmann B. Experimental investigation of CO₂ uptake in CO₂ hydrates formation with amino acids as kinetic promoters and its dissociation at high temperature. *Sci. Rep.*, 2022, vol. 12, no. 1, art. 8359. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12538-1>.
49. Prasad P.S.R., Sai Kiran B. Are the amino acids thermodynamic inhibitors or kinetic promoters for carbon dioxide hydrates? *J. Nat. Gas Sci. Eng.*, 2018, vol. 52, pp. 461–466. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2018.02.001>.
50. Pandey J.S., Daas Y.J., von Solms N. Screening of amino acids and surfactant as hydrate promoter for CO₂ capture from flue gas. *Processes*, 2020, vol. 8, no. 1, art. 124. <https://doi.org/10.3390/pr8010124>.

51. Farhadian A., Varfolomeev M., Abdelhay Z., Emelianov D., Delaunay A., Dalmazzone D., Accelerated methane hydrate formation by ethylene diamine tetraacetamide as an efficient promoter for methane storage without foam formation. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2019, vol. 58, no. 19, pp. 7752–7760. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b00803>.
52. Pavelyev R.S., Gainullin S.E., Semenov M.E., Zaripova Y.F., Yarkovoi V.V., Luneva A.I., Farhadian A., Varfolomeev M.A. Dual promotion-inhibition effects of novel ethylenediaminetetraacetic acid bisamides on methane hydrate formation for gas storage and flow assurance applications. *Energy Fuels*, 2022, vol. 36, no. 1, pp. 290–297. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c03381>.
53. Gainullin S.E., Farhadian A., Kazakova P.Y., Semenov M.E., Chirkova Y.F., Heydari A., Pavelyev R.S., Varfolomeev M.A. Novel amino acid derivatives for efficient methane solidification storage via clathrate hydrates without foam formation. *Energy Fuels*, 2023, vol. 37, no. 4, pp. 3208–3217. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.2c03923>.
54. Gainullin S.E., Kazakova P.Y., Pavelyev R.S., Chirkova Y.F., Semenov M.E., Varfolomeev M.A. Comparison of the promoting activity of amides of ethylenediaminetetraacetic acid and some amino acids in the nucleation and growth of hydrates of methane and carbon dioxide. *Chem. Technol. Fuels Oils*, 2023, vol. 59, no. 4, pp. 726–731. <https://doi.org/10.1007/s10553-023-01576-8>.
55. Ballard A.L., Sloan E.D., Jr. The next generation of hydrate prediction: An overview. *J. Supramol. Chem.*, 2002, vol. 2, nos. 4–5, pp. 385–392. [https://doi.org/10.1016/S1472-7862\(03\)00063-7](https://doi.org/10.1016/S1472-7862(03)00063-7).
56. Malyshev V.L., Moiseeva E.F., Kalinovskii Y.V. Calculating the compressibility factor of main natural gas components using molecular dynamics simulations. *Vestn. Tomsk. Politekh. Univ. Inzh. Georesur.*, 2019, vol. 330, no. 11, pp. 121–129. <https://doi.org/10.18799/24131830/2019/11/2356>. (In Russian)

⟨ **Для цитирования:** Гайнуллин Ш.Э., Казакова П.Ю., Павельев Р.С., Тавочкин В.М., Варфоломеев М.А. Промоторы образования гидрата углекислого газа на основе производных лимонной и аминокислот // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 4. С. 640–657. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.640-657>. ⟩

⟨ **For citation:** Gainullin S.E., Kazakova P.Yu., Pavelyev R.S., Tavochkin V.M., Varfolomeev M.A. Promoters of carbon dioxide hydrate formation derived from citric and amino acids. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 4, pp. 640–657. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.640-657>. (In Russian) ⟩

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 616.441+008.63

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.658-682

ОСОБЕННОСТИ АУТОФАГИИ В МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ ПАЦИЕНТОВ С АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ

*А.В. Бурцева¹, Э.В. Смирнова¹, С.Н. Абрамов¹, М.В. Тихомирова¹,
З.А. Афанасьева², З.И. Абрамова¹*

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

²Казанская государственная медицинская академия, г. Казань, 420012, Россия

Аннотация

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) – хроническое заболевание щитовидной железы, основную роль в патогенезе которого играют чрезмерно стимулированные CD4⁺Т-лимфоциты, провоцирующие активацию CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов, что приводит к Fas-зависимому апоптозу тиреоцитов и снижению гормональной активности щитовидной железы. По данным исследований важным процессом в патогенезе аутоиммунных заболеваний является аутофагия – клеточный процесс, в норме поддерживающий клеточный гомеостаз путем деградации поврежденных белков и органелл в аутолизосомах. Статья посвящена анализу аутофагии и экспрессии ключевых белков – регуляторов аутофагии (Vps34, p62 и LC3) – в мононуклеарах периферической крови пациентов с АИТ. Для оценки развития процесса по изменению количества аутофагосом в клетках использован метод проточной цитофлуориметрии. Уровень экспрессии белков-маркеров определен методом вестерн-блоттинга. Установлено достоверное повышение содержания маркеров аутофагии – Vps34, LC3-II и p62 – в лимфоцитах пациентов с АИТ. Высокий уровень аутофагосомного белка LC3-II коррелирует с высоким уровнем убиквитин-связывающего белка p62, что может свидетельствовать о нарушении терминального этапа аутофагии – слияния аутофагосом и лизосом. При невозможности полноценного протекания всех стадий аутофагии активация данного процесса приводит лишь к чрезмерному накоплению аутофагосом в цитоплазме клеток, что, в свою очередь, способствует активации апоптоза или последующей гибели клетки путем некроза. Таким образом, понимание механизма нарушения аутофагии в лимфоцитах может оказаться перспективным методическим подходом в решении проблемы повреждений, связанных с возникновением и развитием АИТ.

Ключевые слова: лимфоциты, аутофагия, аутоиммунный тиреоидит, проточная цитофлуориметрия.

Введение

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) – хроническое воспалительное аутоиммунное заболевание щитовидной железы, характеризующееся нарушением аутоотолерантности к тиреоидным антигенам, которое приводит к циркуляции аутоантител и лимфоидной инфильтрации. В результате этого на ранних этапах происходит замещение паренхимы и увеличение щитовидной железы [1–3]. Также установлено, что чрезмерно стимулированные CD4⁺-лимфоциты активи-

руют CD8⁺-цитотоксические и В-лимфоциты, что приводит к Fas-зависимому апоптозу тиреоцитов или высвобождению антител к тиреоглобулину и тиреоидной тиропероксидазе [4, 5].

В то же время АИТ – многофакторное заболевание, вызванное сложным взаимодействием генетических, гормональных и экологических факторов [6, 7]. Важным процессом в патогенезе аутоиммунных заболеваний является аутофагия [8, 9]. Аутофагия – это клеточный процесс, поддерживающий гомеостаз путем деградации не только поврежденных белков, но и органелл в аутолизосомах [10]. Аутофагия позволяет клеткам выживать во время стрессовых условий, например, при голодании или окислительном стрессе, перерабатывая содержимое аутофаголизосом для получения энергии [11]. При длительном воздействии повреждающих факторов аутофагия, как и апоптоз, может привести клетку к гибели [12].

Хотя связь между аутофагией и АИТ на сегодняшний день остается спорной, роль аутофагии в иммунной регуляции, наблюдаемой при таких аутоиммунных заболеваниях, как системная красная волчанка, ревматоидный артрит и рассеянный склероз, предполагает ее потенциальное участие в развитии и прогрессировании данных заболеваний [13, 14]. Например, исследование на мышцах показало, что нокаут белка ATG5 – инициатора аутофагии с помощью CRISPR/Cas9 приводит к снижению количества Т-клеток в центральной нервной системе и предотвращению воспаления. Это свидетельствует о важной роли белка ATG5 в развитии аутоиммунных заболеваний, при которых Т-клетки атакуют миелиновую оболочку нервных волокон через процессы аутофагии [15].

Недавние исследования в области АИТ преимущественно нацелены на модулирование иммунного ответа для уменьшения степени повреждения щитовидной железы [16, 17]. Следовательно, большой потенциал заключается в расширении набора фармакологических вмешательств, направленных на аутофагию, чтобы сбалансировать ее цитопротекторные эффекты против последствий нарушения самого процесса.

В связи с этим целью проводимого исследования стал анализ процесса аутофагии в мононуклеарных клетках периферической крови пациентов с АИТ и экспрессии его ключевых белков-регуляторов.

1. Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использованы мононуклеарные клетки периферической крови здоровых доноров и пациентов с АИТ. Забор образцов периферической крови проведен у 15 пациентов в состоянии эутиреоза (1 мужчина и 14 женщин в возрасте от 20 до 65 лет). Титры антител к тиропероксидазе составили от 100 до 4500 МЕ. Клинические данные, включая возраст, пол, длительность заболевания и результаты иммунологического анализа, были получены при опросе пациентов и изучении медицинской документации. Контрольную группу составили 12 условно здоровых доноров (2 мужчин и 10 женщин в возрасте от 20 до 69 лет).

Метод выделения мононуклеаров человека основан на отличиях в плавучей плотности различных форменных элементов крови. Фракцию, обогащенную лимфоцитами (В-клетки, Т-цитотоксические и Т-хелперные лимфоциты,

НК-клетки и моноциты), получали по стандартной методике на градиенте плотности фиколл-урографин (табл. 1).

Табл. 1

Используемые градиенты плотности при выделении клеток человека [18]

Тип клеток	Плотность градиента, г/см ³
Т-лимфоциты	1.077
В-лимфоциты	1.077
Моноциты	1.064
Гранулоциты	1.093
НК-лимфоциты	1.060
Эритроциты	1.115
Остеобласты	1.055

Для исследований *in vitro* клетки высевали в 6-луночный культуральный планшет, содержащий обедненную сывороточную среду RPMI-1640 Medium (Gibco, США) с добавлением 1%-ной термоинактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, США) и 1× раствора пенициллина-стрептомицина (ПанЭко, Россия). Затем клетки инкубировали в течение 72 ч во влажной атмосфере, содержащей 5 % CO₂, при 37 °С.

Для оценки процесса аутофагии в клетках использован набор Autophagy Assay Kit (кат. ab139484, Abcam, Великобритания). Клетки двукратно отмывали фосфатно-солевым буферным раствором, ресуспендировали в 250 мкл 1× Assay Buffer, затем добавляли 2.5 мкл зеленого красителя и инкубировали 30 мин в темноте при 37° С. Затем клетки промывали 1× Assay Buffer и ресуспендировали в 500 мкл 1× Assay Buffer. Конечная концентрация клеток в суспензии составляла 1×10⁶ клеток/мл. Образцы анализировали в зеленом (FL1) канале в течение 30 мин на проточном цитометре BD FACSCalibur™ (BD Biosciences, США) с применением программного обеспечения CellQuest. На каждый опыт обсчитывали не менее 10000 клеток. Мертвые клетки исключали на основании параметров прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния. Клетки, содержащие аутофагосомы, определяли с помощью негативного и положительного контроля. В качестве негативного контроля использовали неокрашенные клетки, а в качестве положительного – клетки после инкубирования в течение 4 ч в растворе, содержащем 20 мкМ хлорохина, и последующего гейтирования. Для анализа результатов использовали программное обеспечение FlowJo (BD Biosciences, США).

Для проведения вестерн-блоттинга осадок клеток лизировали в RIPA-буфере с добавлением ингибиторов протеаз и фосфатаз (Thermo Scientific, США) по стандартному протоколу. Определение концентрации белка в полученных лизатах проводили с использованием набора BCA Protein Assay (Thermo Scientific, США). Образцы загружали в 10%-ный полиакриламидный гель и после электрофореза переносили на поливинилиденфторидные мембраны (Invitrogen, США). Блокирование мембран проводили в 5%-ном бычьем сывороточном альбумине в течение 1 ч, затем мембраны инкубировали с первичными антителами в течение ночи при 4 °С. В работе использовали антитела к LC3 (кат. № 4108, Cell Signaling

Technology, США), p62/SQSTM1 (кат. № 5114, Cell Signaling Technology, США), Vsp34 (кат. № 38-2100, Invitrogen, США) в разведении 1 : 1000 и β -актин (кат. № MA1-140, Invitrogen, США) в разведении 1 : 3000. После промывания в течение 30 мин трис-буферным солевым раствором, содержащим Tween® 20, мембраны инкубировали со вторичными антителами в блокирующем растворе в течение 1 ч при комнатной температуре. Мембраны проявляли с помощью реагента усиления хемилюминесценции Clarity Western ECL Substrate (BioRad, США) и визуализировали с помощью системы гель-документирования ChemiDoc XRS+ (BioRad, США). Для количественной оценки сигнала относительной интенсивности каждого изображения использовали программное обеспечение Image Lab (BioRad, США) и ImageJ (National Institutes of Health, США).

Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, США). Результаты выражены как среднее значение величины $\pm$ стандартное отклонение. Данные обрабатывали с использованием однофакторного дисперсионного анализа и последующего попарного сравнения с поправкой на множественность Бонферрони (* – $p < 0.05$, ** – $p < 0.005$, *** – $p < 0.0005$, **** – $p < 0.0001$). Нормальность распределения количественной переменной и гомогенность дисперсий у нескольких распределений определяли с помощью тестов Шапиро–Уилка и Бартлетта соответственно.

2. Результаты и их обсуждение

Аутофагия и воспаление – два фундаментальных биологических процесса. Благодаря своей решающей роли в поддержании клеточного гомеостаза, аутофагия участвует в модуляции клеточного метаболизма, выживании клеток и защите. Дефектная аутофагия связана с такими патологическими состояниями, как аутоиммунные, онкологические и нейродегенеративные заболевания, старение [11].

В условиях «голодания» клетки гомеостаз внутри нее в первое время поддерживается аутофагией. Поэтому в эксперименте использована обедненная питательными веществами среда, что позволило оценить процесс аутофагии в мононуклеарах при АИТ и выяснить, какие изменения, связанные с этим процессом, происходят в иммунных клетках пациентов по сравнению с клетками группы здоровых доноров. Хотя распределение лимфоцитов и моноцитов во фракции мононуклеарных клеток у разных людей может варьироваться, лимфоциты обычно составляют от 70 до 90 % (70–85 % CD3⁺ Т-клеток, 5–10 % В-клеток) [19]. Поэтому дальнейшую очистку фракции лимфоцитов не проводили.

Для определения степени накопления аутофагосом в клетке оценено содержание липидированной формы белка LC3 (LC3-II) [20]. Для мониторинга стадий аутофагии и измерения активности аутофагического процесса мононуклеары обрабатывали хлорохином, который, благодаря изменению pH лизосом, ингибирует стадию терминации аутофагии, препятствуя тем самым слиянию аутофагосом с лизосомами, предотвращая формирование аутофаголизосом и, как следствие, распад их содержимого, что приводит к накоплению аутофагосом в клетках [21].

На основе данных проточной цитометрии установлено, что уровень аутофагосом в свежeweделенных мононуклеарах пациентов с АИТ (рис. 1, б3) достоверно выше по сравнению с контрольной группой (рис. 1, в). В процессе куль-

тивирования образцов в обедненной питательной среде в течение 72 ч в группе здоровых доноров наблюдался достоверный рост уровня клеток (рис. 1, в), содержащих аутофагосомы (рис. 1, б2). В группе пациентов с АИТ в процессе 72 ч культивирования (рис. 1, б4) наметились изменения в количестве клеток с аутофагосомами, но различие не достигло статистической значимости (рис. 1, в).

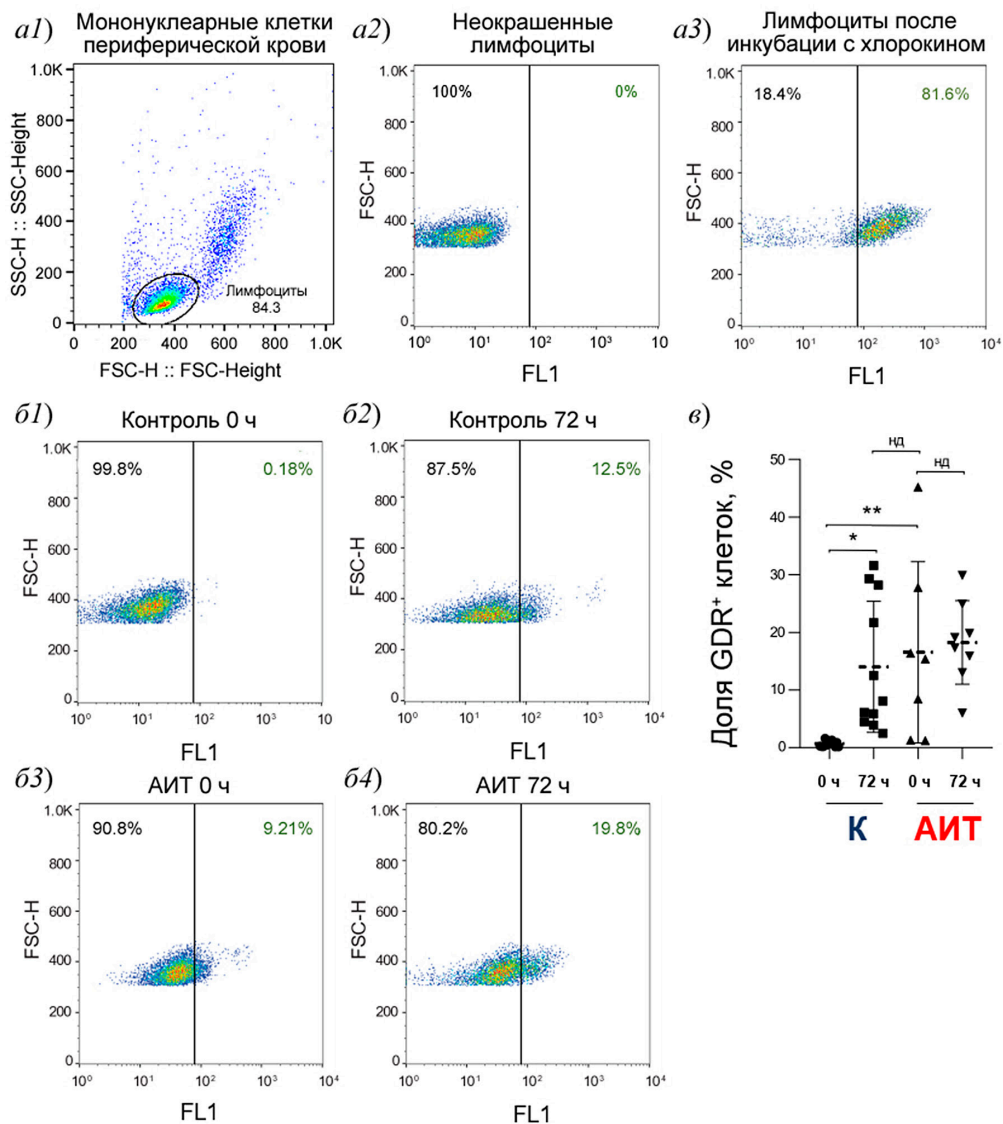


Рис. 1. Оценка относительного количества мононуклеаров, содержащих аутофагосомы, методом проточной цитометрии в процессе культивирования: а) стратегия гейтирования лимфоцитов пациентов с АИТ (а1), отрицательный (а2) и положительный (а3) контроль накопления аутофагосом; б) накопление клеток с аутофагосомами у здоровых доноров (б2) и пациентов с АИТ (б4) через 72 ч по сравнению со свежeweделенными образцами (б1 и б3 соответственно, зеленая флуоресценция); в) доля лимфоцитов с аутофагосомами, культивированных в течение 72 ч в условиях с низким содержанием сыворотки, у здоровых доноров (К) и пациентов с АИТ (АИТ) по результатам денситометрии (* – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, нд – недостоверное различие)

Процесс аутофагии делится на несколько стадий: инициацию, элонгацию, формирование аутофагосомы и – на выходе – формирование аутолизосомы. В работе М. D'Arcy [22] представлена общая схема процесса аутофагии и, в частности, образования аутолизосомы. Активация комплексов ULK1 и PI3K класса III стимулирует образование аутофагофора (рис. 2). Комплекс, состоящий из ATG5, ATG12 и ATG16L, вместе с LC3-II стимулирует удлинение двумембранного фагофора, который необходим для формирования аутофагосомы. Белок p62, взаимодействуя с LC3-II и белками, направляемыми на деградацию, поглощается аутофагосомой, которая затем сливается с лизосомой [10, 22].

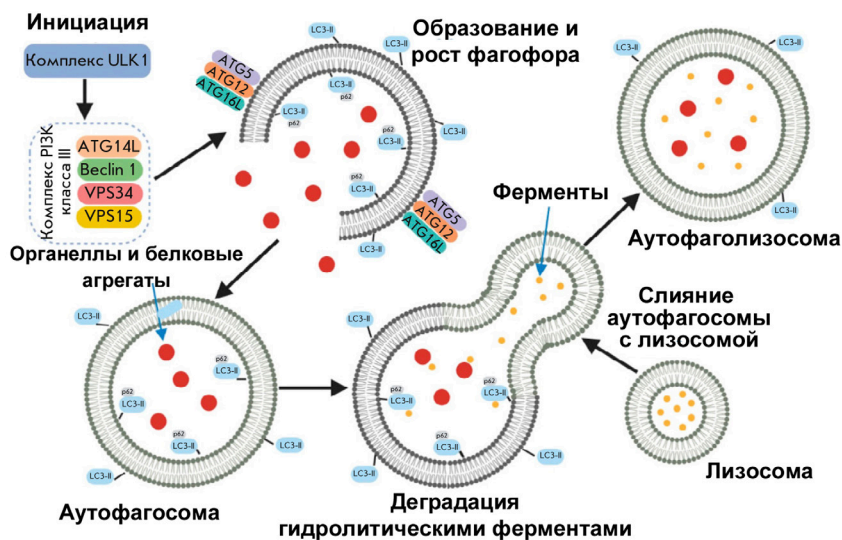


Рис. 2. Общая схема процесса аутофагии. Цит. по [10]

Как следует из данных рис. 3, иницирующий комплекс аутофагосомной мембраны состоит из Beclin-1, белков семейства Bcl-2, везикулярного белка Vps 34 (vacuolar protein sorting) и Atg14L [10, 23]. Поэтому сначала проведена оценка экспрессии везикулярного белка, который катализирует образование важного компонента аутофагосомы PI3P на этапе инициации аутофагии.

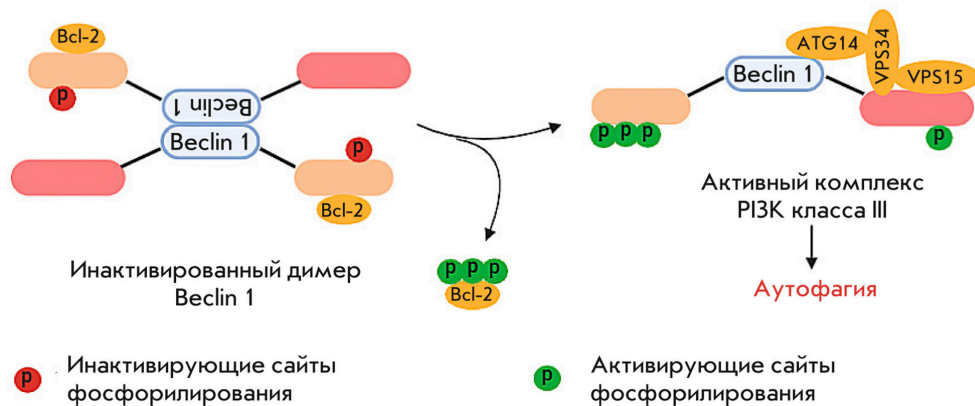


Рис. 3. Схема превращения инактивированного комплекса Bcl-2–Beclin-1 в активный PI3K-комплекс. Цит. по [10]

Проведенные исследования показали, что уровень киназы Vps34 в свежeweделенных клетках пациентов с АИТ достоверно выше по сравнению с контрольной группой (рис. 4, а). Голодание в течение 72 ч приводит к повышению уровня Vps34 в группе пациентов с АИТ, что указывает на активацию аутофагии (рис. 4, б).

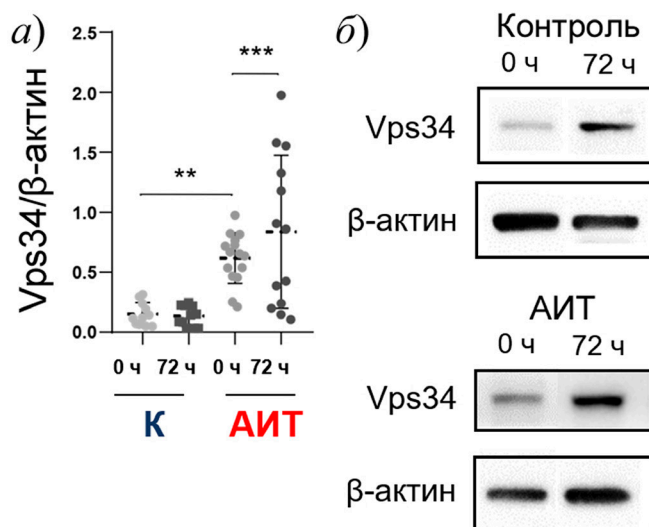


Рис. 4. Уровень белка-инициатора аутофагии Vps34 в мононуклеарных клетках здоровых доноров (К) и пациентов с АИТ (АИТ): а) нормализованная по β-актину интенсивность сигнала Vps34; б) оценка экспрессии белка Vps34 методом иммуноблоттинга (** – $p < 0.005$, *** – $p < 0.0005$)

На этапе элонгации аутофагии методом вестерн-блоттинга с помощью моноклональных антител и флуорохрома GFP выявляют превращение комплекса GFP-LC3-I в комплекс GFP-LC3-II [24]. В дополнение к LC3 при оценке этого процесса рекомендуется использовать в качестве белкового маркера SQSTM1/p62, который принимает участие в регуляции аутофагии и формировании аутофагосомы [25], находясь в тесном взаимодействии с митохондриальными белками и участвуя в индукции конститутивной митофагии.

Таким образом, для оценки инициации аутофагического процесса в мононуклеарах пациентов с АИТ определен уровень p62 методом иммуноблоттинга. Установлено, что в мононуклеарах пациентов с АИТ, культивируемых в течение 72 ч в обедненной питательной среде, достоверно увеличивается количество этого белка по сравнению с образцами свежeweделенных клеток пациентов (рис. 5).

В работе [26] показано, что p62 – это белок, который, обладая убиквитин-связывающим доменом, способен связываться с полиубиквитинированными белками. Доставляя такие белковые агрегаты в аутофагосомы, он связывается с мембранным липидированным белком LC3-II. В норме белок p62 активно диссоциирует в процессе аутофагии, и снижение уровня p62 связывают с активацией аутофагии [27]. Определение уровня p62 используют для мониторинга аутофагического процесса. В работе Бьерка с соавторами [28] на примере млекопитающих и дрозофилы установлено, что p62 может накапливаться в клетках при ингибировании макроаутофагии, и это подтверждает, что устойчивые уровни этого белка отражают аутофагический статус.

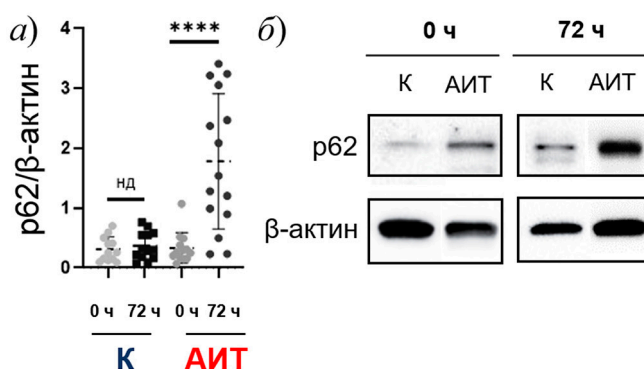


Рис. 5. Уровень белка-адаптера p62 (SQSTM1) в мононуклеарных клетках здоровых доноров (**К**) и пациентов с АИТ (**АИТ**): а) нормализованная по β-актину интенсивность экспрессии белка; б) репрезентативное изображение вестерн-блоттинга с использованием антител против SQSTM1 (**** – $p < 0.0001$, нд – недостоверное различие)

Таким образом, можно предположить, что повышенный уровень p62 в мононуклеарах пациентов с АИТ по данным вестерн-блоттинга может указывать или на ингибирование стадии слияния аутофагосомы и лизосомы, или на нарушение стадии деградации и, как следствие, накопление аутофагосом.

Белок LC3, также являющийся убиквитин-подобным белком, кодируется геном *Map11c3* (LC3) и представляет собой надежный маркер аутофагии, так как его содержание в исследуемом биологическом материале положительно коррелирует с количеством активных аутофагосом [29]. LC3 синтезируется на рибосоме в форме предшественника proLC3, который затем расщепляется под действием цистеиновой протеазы Atg4b, формируя цитоплазматическую форму LC3-I. Эта форма активируется Atg7, переносится с помощью Atg3 на мембрану растущей аутофагосомы, конъюгируется с фосфатидилэтаноламином мембраны с образованием липидированной формы LC3-II. Именно накопление LC3-II внутри клеток рассматривают как индикатор повышения интенсивности аутофагии или нарушения процесса аутофагического потока и деградации, проявляющийся в накоплении аутофагических структур.

Таким образом, мониторинг аутофагии основан на наблюдении, что в клетках LC3 существует в цитоплазматической и липидированной формах, т. е. в виде LC3-I и LC3-II. Их соотношение коррелирует с изменениями в процессе аутофагии и может дать более точную оценку аутофагического потока, чем соотношения, основанные на общем уровне липидированного белка LC3-II в составе аутофагосомы. Валидность этого метода ранее была показана путем сравнения аутофагического протеолитического потока в гепатоцитах крысы, клетках гепатомы и миоблестах [30]. Одним из преимуществ этого подхода является то, что он не требует присутствия аутофагических или лизосомальных ингибиторов для блокирования деградации LC3-II.

Поэтому на следующем этапе исследований оценен уровень белка LC3 в цитоплазматической (LC3-I) и липидированной (LC3-II) формах (рис. 6). Подобно паттерну экспрессии белков (рис. 5, а), уровень LC3-I, нормализованного по β-актину, в группе здоровых доноров не изменился даже через 72 ч культивиро-

вания (рис. 6, а). Уровень LC3-I у пациентов с АИТ (рис. 6, а) как в свежесодержимых клетках, так и в клетках после культивирования в течение 72 ч, достоверно выше, чем в группе здоровых доноров, что может свидетельствовать об увеличении активности процессов аутофагии при АИТ.

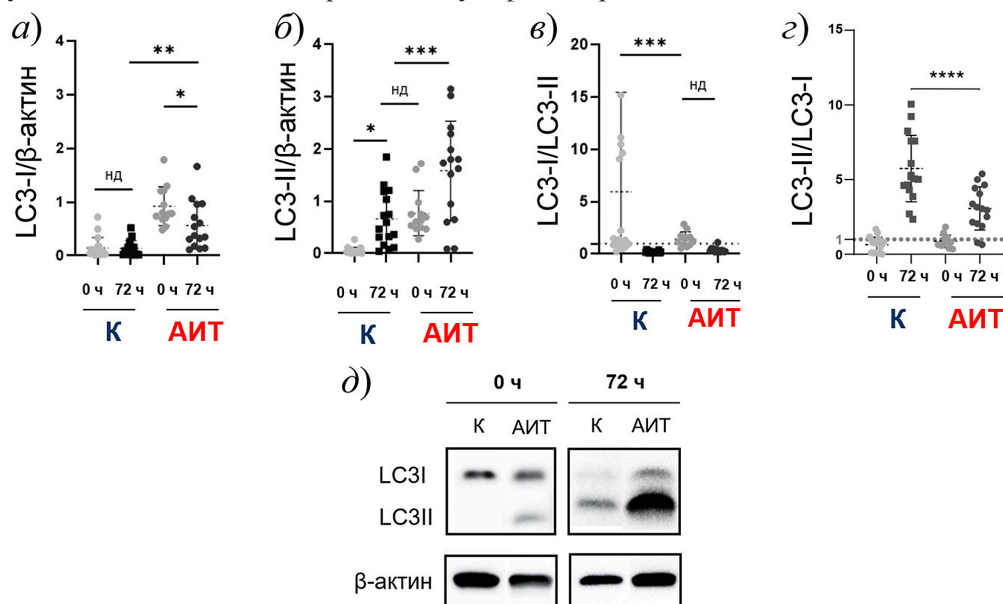


Рис. 6. Аутофагический поток в мононуклеарных клетках здоровых доноров (К) и пациентов с АИТ (АИТ) по уровню экспрессии цитоплазматического (LC3-I) и липидированного (LC3-II) белков: а) нормализованная по β-актину интенсивность сигнала белка LC3-I; б) нормализованная по β-актину интенсивность сигнала белка LC3-II; в) уровень инициации аутофагии по соотношению LC3-I/LC3-II; г) аутофагическая активность по соотношению LC3-II/LC3-I; д) репрезентативные изображения вестерн-блоттинга экспрессии LC3-I, LC3-II и β-актина в свежесодержимых или культивированных в течение 72 ч мононуклеарных клетках. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.005$, *** – $p < 0.0005$, **** – $p < 0.0001$, нд – недостоверное различие

Полученное соотношение LC3-I/LC3-II в свежесодержимых мононуклеарах здоровых доноров (рис. 6, в) свидетельствует о высоком уровне инициации процесса аутофагии и нормальном протекании дальнейших стадий этого процесса – везикулярного транспорта, слияния аутофагосом с лизосомами и протеолитической деградации содержимого аутолизосом. Снижение соотношения LC3-I/LC3-II (рис. 6, в) как в свежесодержимых мононуклеарах пациентов с АИТ, так и через 72 ч культивирования свидетельствует о снижении инициации аутофагии в этих клетках на фоне повышения уровня LC3-II (рис. 6, б).

Общее количество LC3-II (рис. 6, б) напрямую коррелирует с активностью аутофагии в клетках [20]. Увеличение соотношения LC3-II/LC3-I предполагает активацию аутофагии или накопление аутофагосом из-за нарушений на более поздних стадиях аутофагии (например, из-за лизосомальной деградации) [23]. Поэтому отношение LC3-II к LC3-I использовано как индикатор аутофагической активности (рис. 6, г). Показано, что соотношение LC3-II/LC3-I повышено как в группе здоровых доноров, так и в группе пациентов с АИТ, в том числе в клетках, культивированных в течение 72 ч в среде с низким содержанием сы-

воротки (рис. 6, з). Но если в случае здоровых доноров величина соотношения LC3-II/LC3-I через 72 ч культивирования (рис. 6, з) может свидетельствовать об активации аутофагии, что подтверждается высоким соотношением LC3-I/LC3-II в свежeweделенных мононуклеарных клетках здоровых доноров (рис. 6, в), то снижение соотношения LC3-II/LC3-I в группе пациентов с АИТ (рис. 6, з) может говорить о нарушении слияния аутофагосом и лизосом и, следовательно, о незавершенной аутофагии, приводящей к накоплению аутофагосом внутри клетки, как это было показано на рис. 1, б и в.

В работе Бартлетт с соавторами [30, 31] показано, что, в отличие от белка LC3, уровень p62 путем обратной связи также коррелирует с активностью аутофагии. При мутациях в генах *ATG* или при нарушении процесса связывания аутофагосомы и лизосомы происходит накопление p62-положительных агрегатов, что расценивается как признак снижения активности аутофагии [32]. Поэтому активность процесса аутофагии можно оценивать и по соотношению LC3-II/p62 [33].

По нашим данным, через 72 ч культивирования в мононуклеарах здоровых доноров выраженных изменений в уровне белка p62 не выявлено (рис. 7, а) на фоне достоверно повышенного уровня белка LC3-II (рис. 7, а). У пациентов с АИТ происходит достоверное накопление белка p62 на фоне высокого уровня LC3-II белка (рис. 7, б).

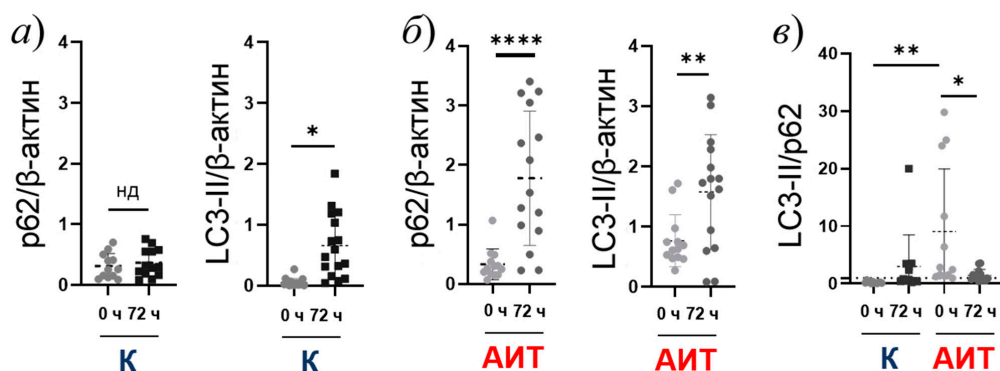


Рис. 7. Активность аутофагического потока в мононуклеарах здоровых доноров (К) и пациентов с АИТ (АИТ): а) нормализованная по β-актину интенсивность сигнала белков p62 и LC3-II в клетках здоровых доноров; б) нормализованная по β-актину интенсивность сигнала белков LC3-II и p62 в клетках пациентов с АИТ; в) активность аутофагического потока по соотношению LC3-II/p62 (* – $p < 0.05$, ** – $p < 0.005$, **** – $p < 0.0001$, нд – недостоверное различие)

Обычно при усилении аутофагического потока повышается соотношение LC3-II/LC3-I, а уровень p62 снижается. При оценке этого параметра в свежeweделенных мононуклеарах пациентов с АИТ выявлено достоверно повышенное соотношение LC3-II/p62 по сравнению с контрольной группой (рис. 7, в) и низкий уровень p62 (рис. 7, б), что говорит об активации аутофагии. Через 72 ч культивирования в обедненной среде соотношение LC3-II/p62 снижается (рис. 7, в), а уровень p62 остается высоким (рис. 7, б), что свидетельствует о нарушении слияния аутофагосом с лизосомами в мононуклеарах пациентов с АИТ [30].

Заключение

Таким образом, установлено, что мононуклеарные клетки, выделенные из периферической крови пациентов с АИТ, показывают, в отличие от клеток здоровых доноров, значительное накопление аутофагосом как на базальном уровне, так и после 72-часового культивирования с низким содержанием сыворотки. Мы предполагаем, что эти данные указывают на нарушения аутофагического процесса в мононуклеарах при АИТ. Накопление клеток с аутофагосомами, свидетельствующее об усилении активации процесса аутофагии, говорит о попытке клеток справиться со стрессом, что особенно заметно в клетках пациентов с АИТ в условиях пониженного содержания сыворотки. Наши наблюдения дополнили знания об аутофагии при АИТ: изучение белков-маркеров (Vps34, p62 и LC3) выявило значительные изменения их количества в мононуклеарах пациентов с АИТ. Белок Vps34 имеет критическое значение для формирования аутофагосом [34], и его повышенная экспрессия предполагает увеличение аутофагической активности у пациентов с АИТ, что соответствует усилению инициации аутофагии. Высокие уровни белка p62 в клетках при АИТ на фоне высокого уровня липидированного белка LC3-II, особенно после 72-часового культивирования, могут свидетельствовать о нарушении аутофагического процесса, в частности слиянии аутофагосом с лизосомами, и, как следствие, замедлении процессов деградации аутофагосом [35].

При невозможности полноценного протекания всех стадий аутофагии активация данного процесса приводит лишь к чрезмерному накоплению аутофагосом в цитоплазме мононуклеаров, что, в свою очередь, способствует активации апоптоза и последующей гибели клетки.

В будущих исследованиях предстоит выяснить, в какой субпопуляции лимфоцитов происходит нарушение аутофагии – в клетках-хелперах с маркером CD4⁺, в цитотоксических CD8⁺-Т-лимфоцитах или в В-лимфоцитах, участвующих в разрушении тироцитов при АИТ. «Правильная» аутофагия в этих клетках имеет решающее значение для поддержания иммунной толерантности и предотвращения чрезмерных иммунных реакций [36]. Другим примером является популяция CD4⁺CD25⁺ Т-клеток человека, которая гетерогенна по своим функциональным свойствам и фенотипическим признакам. Она включает в себя популяции пролиферирующих CD4⁺CD45RA⁺CD45RO⁺CD25^{low} Т-клеток и «регуляторных» (T_{reg}) CD4⁺CD45RO⁺CD25^{high} Т-лимфоцитов. Являясь реальными супрессорами, они играют ведущую роль во многих иммунологических процессах, например, регулируют Т-клеточный гомеостаз, предотвращают аутоиммунные заболевания, аллергии, гиперчувствительность [37].

Аутофагия T_{reg} необходима для контроля чрезмерных иммунных реакций и предотвращения аутоиммунитета [38]. Понимание того, как нарушение аутофагии в этих подтипах лимфоцитов может влиять на прогрессирование аутоиммунного тиреоидита, представляет большой интерес.

Восстановление нормальных механизмов клеточного клиренса может оказаться многообещающим методическим подходом в решении проблемы повреждений, связанных с возникновением и развитием аутоиммунного тиреоидита.

Заключение Комитета по этике. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации и одобрено ло-

кальным этическим комитетом Республиканской онкологической клинической больницы и Казанского (Приволжского) федерального университета (протокол № 8 от 13.02.2018).

Информированное согласие. Информированное согласие было получено от всех субъектов, участвовавших в исследовании.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-25-00443).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Трошина Е.А. Хронический аутоиммунный тиреоидит – «сигнальное заболевание» в составе мультиорганного аутоиммунного синдрома // Проблемы эндокринологии. 2023. Т. 69, № 4. С. 4–10. <https://doi.org/10.14341/probl13361>.
2. Лукьянчиков В.С. Аутоиммунный тиреоидит. Связь с тиреоидными и неэндокринными метаплазиями // РМЖ. 2013. Т. 21, № 12. С. 657–659.
3. Ragusa F., Fallahi P., Elia G., Gonnella D., Paparo S.R., Giusti C., Churilov L.P., Ferrari S.M., Antonelli A. Hashimoto's thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy // Best Pract. Res., Clin. Endocrinol. Metab. 2019. V. 33, No 6. Art. 101367. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101367>.
4. Radetti G. Clinical aspects of Hashimoto's thyroiditis // G. Szinnai (Ed.) Paediatric Thyroidology. Ser.: Endocrine Development. V. 26. Basel: S. Karger AG, 2014. P. 158–170. <https://doi.org/10.1159/000363162>.
5. Caturegli P., De Remigis A., Rose N.R. Hashimoto thyroiditis: Clinical and diagnostic criteria // Autoimmun. Rev. 2014. V. 13, Nos 4–5. P. 391–397. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.007>.
6. Pyzik A., Grywalska E., Matyjaszek-Matuszek B., Roliński J. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: What do we know so far? // J. Immunol. Res. 2015. V. 2015, No 1. Art. 979167. <https://doi.org/10.1155/2015/979167>.
7. Salmaso C., Bagnasco M., Pesce G., Montagna P., Brizzolara R., Altrinetti V., Richiusa P., Galluzzo A., Giordano C. Regulation of apoptosis in endocrine autoimmunity: Insights from Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2002. V. 996, No 1. P. 496–501. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb04253.x>.
8. Vukovic R., Zeljkovic A., Bufan B., Spasojevic-Kalimanovska V., Milenkovic T., Vekic J. Hashimoto thyroiditis and dyslipidemia in childhood: A review // Front. Endocrinol. 2019. V. 10. Art. 868. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00868>.
9. Yang Z., Goronzy J.J., Weyand C.M. Autophagy in autoimmune disease // J. Mol. Med. 2015. V. 93, No 7. P. 707–717. <https://doi.org/10.1007/s00109-015-1297-8>.
10. Шляпина В.Л., Юртаева С.В., Рубцова М.П., Донцова О.А. На распутье: механизмы апоптоза и аутофагии в жизни и смерти клетки // Acta Nat. 2021. Т. 13, № 2 (49). С. 106–115. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11208>.
11. Netea-Maier R.T., Plantinga T.S., van de Veerdonk F.L., Smit J.W., Netea M.G. Modulation of inflammation by autophagy: Consequences for human disease // Autophagy. 2016. V. 12, No 2. P. 245–260. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1071759>.
12. Denton D., Kumar S. Autophagy-dependent cell death // Cell Death Differ. 2019. V. 26, No 4. P. 605–616. <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0252-y>.

13. Wu Z.-Z., Zhang J.-J., Gao C.-C., Zhao M., Liu S.-Y., Gao G.-M., Zheng Z.-H. Expression of autophagy related genes mTOR, Becline-1, LC3 and p62 in the peripheral blood mononuclear cells of systemic lupus erythematosus // *Am. J. Clin. Exp. Immunol.* 2017. V. 6, No 1. P. 1–8.
14. Liang P., Le W. Role of autophagy in the pathogenesis of multiple sclerosis // *Neurosci. Bull.* 2015. V. 31, No 4. P. 435–444. <https://doi.org/10.1007/s12264-015-1545-5>.
15. Wua D.J., Adamopoulos I.E. Autophagy and autoimmunity // *Clin. Immunol.* 2017. V. 176. P. 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2017.01.007>.
16. Wang W., Zhang B.-T., Jiang Q.-L., Zhao H.-Q., Xu Q., Zeng Y., Xu J.-Y., Jiang J. Leptin receptor antagonist attenuates experimental autoimmune thyroiditis in mice by regulating Treg/Th17 cell differentiation // *Front. Endocrinol.* 2022. V. 13. Art. 1042511. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1042511>.
17. Jia X., Zhai T., Qu C., Ye J., Zhao J., Liu X., Zhang J.-a., Qian Q. Metformin reverses Hashimoto's thyroiditis by regulating key immune events // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. V. 9. Art. 685522. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.685522>.
18. Recktenwald D., Radbruch A. (Eds.) *Cell Separation Methods and Applications*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1998. 352 p. <https://doi.org/10.1201/9781482273649>.
19. Kleiveland C.R. Peripheral blood mononuclear cells // *Verhoeckx K., Cotter P., López-Expósito I., Kleiveland C., Lea T., Mackie A., Requena T., Swiatecka D., Wichers H.* (Eds.). *The Impact of Food Bioactives on Health: In Vitro and Ex Vivo Models*. Cham: Springer, 2015. P. 161–167. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16104-4_15.
20. Klionsky D.J., Abdalla F.C., Abeliovich H., Abaraham R.T., Acevedo-Arozena A., Adeli K., Agholme L., Agnello M., Agostinis P., Aguirre-Ghiso J.A., Ahn H.J., Ait-Mohamed O., Ait-Si-Ali S., Akematsu T., Akira S., Al-Younes H.M., Al-Zeer M.A., Albert M.L., Albin R.L., Alegre-Abarategui J., Aleo M.F., Alirezai M., Almasan A., Almonte-Becerril M., Amano A., Amaravadi R.K., Amarnath S., Amer A.O., Andrieu-Abadie N., Anantharam V., Ann D.K., Anoopkumar-Dukie S., Aoki H., Apostolova N., Arancia G., Aris J.P., Asanuma K., Asare N.Y.O., Ashida H., Askanas V., Askew D.S., Auberger P., Baba M., Backues S.K., Baehrecke E.H., Bahr B.A., Bai X.-Y., Bailly Y., Baiocchi R., Baldini G., Balduini W., Ballabio A., Bamber B.A., Bampton E.T.W., Juhász G., Bartholomew C.R., Bassham D.C., Bast R.C., Batoko H., Bay B.-H., Beau I., Béchet D.M., Begley T.J., Behl C., Behrends C., Bekri S., Bellaire B., Bendall L.J., Benetti L., Berliocchi L., Bernardi H., Bernassola F., Besteiro S., Bhatia-Kissova I., Bi X., Biard-Piechaczyk M., Blum J.S., Boise L.H., Bonaldo P., Boone D.L., Bornhauser B.C., Bortoluci K.R., Bossis I., Bost F., Bourquin J.-P., Boya P., Boyer-Guittaut M., Bozhkov P.V., Brady N.R., Brancolini C., Brech A., Brenman J.E., Brennand A., Bresnick E.H., Brest P., Bridges D., Bristol M.L., Brookes P.S., Brown E.J., Brumell J.H., Brunetti-Pierri N., Brunk U.T., Bulman D.E., Bultman S.J., Bultynck G., Burbulla L.F., Bursch W., Butchar J.P., Buzgariu W., Bydlowski S.P., Cadwell K., Cahová M., Cai D., Cai J., Cai Q., Calabretta B., Calvo-Garrido J., Camougrand N., Campanella M., Campos-Salinas J., Candi E., Cao L., Caplan A.B., Carding S.R., Cardoso S.M., Carew J.S., Carlin C.R., Carmignac V., Carneiro L.A.M., Carra S., Caruso R.A., Casari G., Casas C., Castino R., Cebollero E., Cecconi F., Celli J., Chaachouay H., Chae H.-J., Chai C.-Y., Chan D.C., Chan E.Y., Chang R.C.-C., Che C.-M., Chen C.-C., Chen G.-C., Chen G.-Q., Chen M., Chen Q., Chen S.S.-L., Chen W., Chen X., Chen X., Chen X., Chen Y.-G., Chen Y., Chen Y., Chen Y.-J., Chen Z., Cheng A., Cheng C.H.K., Cheng Y., Cheong H., Cheong J.-H., Cherry S., Chess-Williams R., Cheung Z.H., Chevet E., Chiang H.-L., Chiarelli R., Chiba T., Chin L.-S., Chiou S.-H., Chisari F.V., Cho C.H., Cho D.-H., Choi A.M.K., Choi D., Choi K.S., Choi M.E., Chouaib S., Choubey D., Choubey V., Chu C.T., Chuang T.-H., Chueh S.-H., Chun T., Chwae Y.-J., Chye M.-L., Ciarcia R., Ciriolo M.R., Clague M.J., Clark R.S.B.,

Clarke P.G.H., Clarke R., Codogno P., Collier H.A., Colombo M.I., Comincini S., Condello M., Condorelli F., Cookson M.R., Coombs G.H., Coppens I., Corbalan R., Cossart P., Costelli P., Costes S., Coto-Montes A., Couve E., Coxon F.P., Cregg J.M., Crespo J.L., Cronjé M.J., Cuervo A.M., Cullen J.J., Czaja M.J., D'Amelio M., Darfeuille-Michaud A., Davids L.M., Davies F.E., De Felici M., de Groot J.F., de Haan C.A.M., De Martino L., De Milito A., De Tata V., Debnath J., Degterev A., Dehay B., Delbridge L.M.D., Demarchi F., Deng Y.Z., Dengjel J., Dent P., Denton D., Deretic V., Desai S.D., Devenish R.J., Di Gioacchino M., Di Paolo G., Di Pietro C., Díaz-Araya G., Díaz-Laviada I., Diaz-Meco M.T., Diaz-Nido J., Dikic I., Dinesh-Kumar S.P., Ding W.-X., Distelhorst C.W., Diwan A., Djavaheri-Mergny M., Dokudovskaya S., Dong Z., Dorsey F.C., Dosenko V., Dowling J.J., Doxsey S., Dreux M., Drew M.E., Duan Q., Duchosal M.A., Duff K.E., Dugail I., Durbeej M., Duszenko M., Edelstein C.L., Edinger A.L., Egea G., Eichinger L., Eissa N.T., Ekmekcioglu S., El-Deiry W.S., Elazar Z., Elgendy M., Ellerby L.M., Eng K.E., Engelbrecht A.-M., Engelender S., Erenpreisa J., Escalante R., Esclatine A., Eskelinen E.-L., Espert L., Espina V., Fan H., Fan J., Fan Q.-W., Fan Z., Fang S., Fang Y., Fanto M., Fanzani A., Farkas T., Farre J.-C., Faure M., Fechheimer M., Feng C.G., Feng J., Feng Q., Feng Y., Fésüs L., Feuer R., Figueiredo-Pereira M.E., Fimia G.M., Fingar D.C., Finkbeiner S., Finkel T., Finley K.D., Fiorito F., Fisher E.A., Fisher P.B., Flajolet M., Florez-McClure M.L., Florio S., Fon E.A., Fornai F., Fortunato F., Fotedar R., Fowler D.H., Fox H.S., Franco R., Frankel L.B., Fransen M., Fuentes J.M., Fueyo J., Fujii J., Fujisaki K., Fujita E., Fukuda M., Furukawa R.H., Gaestel M., Gailly P., Gajewska M., Galliot B., Galy V., Ganesh S., Ganetzky B., Ganley I.G., Gao F.-B., Gao G.F., Gao J., Garcia L., Garcia-Manero G., Garcia-Marcos M., Garmyn M., Gartel A.L., Gatti E., Gautel M., Gawriluk T.R., Gegg M.E., Geng J., Germain M., Gestwicki J.E., Gewirtz D.A., Ghavami S., Ghosh P., Giammarioli A.M., Giatromanolaki A.N., Gibson S.B., Gilkerson R.W., Ginger M.L., Ginsberg H.N., Golab J., Goligorsky M.S., Golstein P., Gomez-Manzano C., Goncu E., Gongora C., Gonzalez C.D., Gonzalez R., González-Estévez C., González-Polo R.A., Gonzalez-Rey E., Gorbunov N.V., Gorski S., Goruppi S., Gottlieb R.A., Gozuacik D., Granato G.E., Grant G.D., Green K.N., Gregorc A., Gros F., Grunt T.W., Gual P., Guan J.-L., Guan K.-L., Guichard S.M., Gukovskaya A.S., Gukovsky I., Gunst J., Gustafsson Å.B., Halayko A.J., Hale A.N., Halonen S.K., Hamasaki M., Han F., Han T., Hancock M.K., Hansen M., Harada H., Harada M., Hardt S.E., Harper J.W., Harris A.L., Harris J., Harris S.D., Hashimoto M., Haspel J.A., Hayashi S.-i., Hazelhurst L.A., He C., He Y.-W., Hébert M.-J., Heidenreich K.A., Helfrich M.H., Helgason G.V., Henske E.P., Herman B., Herman P.K., Hetz C., Hilfiker S., Hill J.A., Hocking L.J., Hofman P., Hofmann T.G., Höhfeld J., Holyoake T.L., Hong M.-H., Hood D.A., Hotamisligil G.S., Houwerzijl E.J., Høyer-Hansen M., Hu B., Hu C.-a.A., Hu H.-M., Hua Y., Huang C., Huang J., Huang S., Huang W.-P., Huber T.B., Huh W.-K., Hung T.-H., Hupp T.R., Hur G.M., Hurley J.B., Hussain S.N.A., Hussey P.J., Hwang J.J., Hwang S., Ichihara A., Ilkhanizadeh S., Inoki K., Into T., Iovane V., Iovanna J.L., Ip N.Y., Isaka Y., Ishida H., Isidoro C., Isobe K.-i., Iwasaki A., Izquierdo M., Izumi Y., Jaakkola P.M., Jäättelä M., Jackson G.R., Jackson W.T., Janji B., Jendrach M., Jeon J.-H., Jeung E.-B., Jiang H., Jiang H., Jiang J.X., Jiang M., Jiang Q., Jiang X., Jiang X., Jiménez A., Jin M., Jin S.V., Joe C.O., Johansen T., Johnson D.E., Johnson G.V.W., Jones N.L., Joseph B., Joseph S.K., Joubert A.M., Juhász G., Juillerat-Jeanneret L., Jung C.H., Jung Y.-K., Kaarniranta K., Kaasik A., Kabuta T., Kadowaki M., Kågedal K., Kamada Y., Kaminsky V.O., Kampinga H.H., Kanamori H., Kang C., Kang K.B., Kang K.I., Kang R., Kang Y.-A., Kanki T., Kanneganti T.-D., Kanno H., Kanthasamy A.G., Kanthasamy A., Karantza V., Kaushal G.P., Kaushik S., Kawazoe Y., Ke P.-Y., Kehrl J.H., Kelekar A., Kerkhoff C., Kessel D.H., Khalil H., Kiel J.A.K.W., Kiger A.A., Kihara A., Kim D.R., Kim D.-H., Kim D.-H., Kim E.-K., Kim H.-R., Kim J.-S., Kim J.H., Kim J.C., Kim J.K., Kim P.K.,

Kim S.W., Kim Y.-S., Kim Y., Kimchi A., Kimmelman A.C., King J.S., Kinsella T.J., Kirkin V., Kirshenbaum L.A., Kitamoto K., Kitazato K., Klein L., Klimecki W.T., Klucken J., Knecht E., Ko B.C.B., Koch J.C., Koga H., Koh J.-Y., Koh Y.H., Koike M., Komatsu M., Kominami E., Kong H.J., Kong W.-J., Korolchuk V.I., Kotake Y., Koukourakis M.I., Kouri Flores J.B., Kovács A.L., Kraft C., Krainc D., Krämer H., Kretz-Remy C., Krichivsky A.M., Kroemer G., Krüger R., Krut O., Ktistakis N.T., Kuan C.-Y., Kucharczyk R., Kumar A., Kumar R., Kumar S., Kundu M., Kung H.-J., Kurz T., Kwon H.J., La Spada A.R., Lafont F., Lamark T., Landry J., Lane J.D., Lapaquette P., Laporte J.F., László L., Lavandero S., Lavoie J.N., Layfield R., Lazo P.A., Le W., Le Cam L., Ledbetter D.J., Lee A.J.X., Lee B.-W., Lee G.M., Lee J., Lee J.-h., Lee M., Lee M.-S., Lee S.H., Leeuwenburgh C., Legembre P., Legouis R., Lehmann M., Lei H.-Y., Lei Q.-Y., Leib D.A., Leiro J., Lemasters J.J., Lemoine A., Lesniak M.S., Lev D., Levenson V.V., Levine B., Levy E., Li F., Li J.-L., Li L., Li S., Li W., Li X.-J., Li Y.-B., Li Y.-P., Liang C., Liang Q., Liao Y.-F., Liberski P.P., Lieberman A., Lim H.J., Lim K.-L., Lim K., Lin C.-F., Lin F.-C., Lin J., Lin J.D., Lin K., Lin W.-W., Lin W.-C., Lin Y.-L., Linden R., Lingor P., Lippincott-Schwartz J., Lisanti M.P., Liton P.B., Liu B., Liu C.-F., Liu K., Liu L., Liu Q.A., Liu W., Liu Y.-C., Liu Y., Lockshin R.A., Lok C.-N., Lonial S., Loos B., Lopez-Berestein G., López-Otín C., Lossi L., Lotze M.T., Low P., Lu B., Lu B., Lu B., Lu Z., Luciano F., Lukacs N.W., Lund A.H., Lynch-Day M.A., Ma Y., Macian F., MacKeigan J.P., Macleod K.F., Madeo F., Maiuri L., Maiuri M.C., Malagoli D., Malicdan M.C.V., Malorni W., Man N., Mandelkow E.-M., Manon S., Manov I., Mao K., Mao X., Mao Z., Marambaud P., Marazziti D., Marcel Y.L., Marchbank K., Marchetti P., Marciniak S.J., Marcondes M., Mardi M., Marfe G., Mariño G., Markaki M., Marten M.R., Martin S.J., Martinand-Mari C., Martinet W., Martinez-Vicente M., Masini M., Matarrese P., Matsuo S., Matteoni R., Mayer A., Mazure N.M., McConkey D.J., McConnell M.J., McDermott C., McDonald C., McInerney G.M., McKenna S.L., McLaughlin B., McLean P.J., McMaster C.R., McQuibban G.A., Meijer A.J., Meisler M.H., Meléndez A., Melia T.J., Melino G., Mena M.A., Menendez J.A., Menna-Barreto R.F.S., Menon M.B., Menzies F.M., Mercer C.A., Merighi A., Merry D.E., Meschini S., Meyer C.G., Meyer T.F., Miao C.-Y., Miao J.-Y., Michels P.A.M., Michiels C., Mijaljica D., Milojkovic A., Minucci S., Miracco C., Miranti C.K., Mitroulis I., Miyazawa K., Mizushima N., Mograbi B., Mohseni S., Molero X., Mollereau B., Mollinedo F., Momoi T., Monastyrska I., Monick M.M., Monteiro M.J., Moore M.N., Mora R., Moreau K., Moreira P.I., Moriyasu Y., Moscat J., Mostowy S., Mottram J.C., Motyl T., Moussa C.E.-H., Müller S., Muller S., Münger K., Münz C., Murphy L.O., Murphy M.E., Musarò A., Mysorekar I., Nagata E., Nagata K., Nahimana A., Nair U., Nakagawa T., Nakahira K., Nakano H., Nakatogawa H., Nanjundan M., Naqvi N.I., Narendra D.P., Narita M., Navarro M., Nawrocki S.T., Nazarko T.Y., Nemchenko A., Netea M.G., Neufeld T.P., Ney P.A., Nezis I.P., Nguyen H.P., Nie D., Nishino I., Nislow C., Nixon R.A., Noda T., Noegel A.A., Nogalska A., Noguchi S., Notterpek L., Novak I., Nozaki T., Nukina N., Nürnberger T., Nyfeler B., Obara K., Oberley T.D., Oddo S., Ogawa M., Ohashi T., Okamoto K., Oleinick N.L., Oliver F.J., Olsen L.J., Olsson S., Opota O., Osborne T.F., Ostrander G.K., Otsu K., Ou J.-h.J., Ouimet M., Overholtzer M., Ozpolat B., Paganetti P., Pagnini U., Pallet N., Palmer G.E., Palumbo C., Pan T., Panaretakis T., Pandey U.B., Papackova Z., Papassideri I., Paris I., Park J., Park O.K., Parys J.B., Parzych K.R., Patschan S., Patterson C., Pattingre S., Pawelek J.M., Peng J., Perlmutter D.H., Perrotta I., Perry G., Pervaiz S., Peter M., Peters G.J., Petersen M., Petrovski G., Phang J.M., Piacentini M., Pierre P., Pierrefite-Carle V., Pierron G., Pinkas-Kramarski R., Piras A., Piri N., Platanias L.C., Pöggeler S., Poirot M., Poletti A., Poüs C., Pozuelo-Rubio M., Prætorius-Ibba M., Prasad A., Prescott M., Priault M., Produit-Zengaffinen N., Progulske-Fox A., Proikas-Cezanne T., Przedborski S., Przyklen K., Puertollano R., Puyal J., Qian S.-B., Qin L., Qin Z.-H., Quaggin S.E., Raben N., Rabinowich H., Rabkin S.W., Rahman I.,

Rami A., Ramm G., Randall G., Randow F., Rao V.A., Rathmell J.C., Ravikumar B., Ray S.K., Reed B.H., Reed J.C., Reggiori F., Régnier-Vigouroux A., Reichert A.S., Reiners J.J., Jr, Reiter R.J., Ren J., Revuelta J.L., Rhodes C.J., Ritis K., Rizzo E., Robbins J., Roberge M., Roca H., Roccheri M.C., Rocchi S., Rodemann H.P., Rodríguez de Córdoba S., Rohrer B., Roninson I.B., Rosen K., Rost-Roszkowska M.M., Rouis M., Rouschop K.M.A., Rovetta F., Rubin B.P., Rubinsztein D.C., Ruckdeschel K., Rucker E.B., Rudich A., Rudolf E., Ruiz-Opazo N., Russo R., Rusten T.E., Ryan K.M., Ryter S.W., Sabatini D.M., Sadoshima J., Saha T., Saitoh T., Sakagami H., Sakai Y., Salekdeh G.H., Salomoni P., Salvaterra P.M., Salvesen G., Salvioli R., Sanchez A.M.J., Sánchez-Alcázar J.A., Sánchez-Prieto R., Sandri M., Sankar U., Sansanwal P., Santambrogio L., Saran S., Sarkar S., Sarwal M., Sasakawa C., Sasnauskiene A., Sass M., Sato K., Sato M., Schapira A.H.V., Scharl M., Schätzl H.M., Scheper W., Schiaffino S., Schneider C., Schneider M.E., Schneider-Stock R., Schoenlein P.V., Schorderet D.F., Schüller C., Schwartz G.K., Scorrano L., Sealy L., Seglen P.O., Segura-Aguilar J., Seiliez I., Selevertov O., Sell C., Seo J.B., Separovic D., Setaluri V., Setoguchi T., Settembre C., Shacka J.J., Shanmugam M., Shapiro I.M., Shaulian E., Shaw R.J., Shelhamer J.H., Shen H.-M., Shen W.-C., Sheng Z.-H., Shi Y., Shibuya K., Shidoji Y., Shieh J.-J., Shih C.-M., Shimada Y., Shimizu S., Shintani T., Shirihaï O.S., Shore G.C., Sibirny A.A., Sidhu S.B., Sikorska B., Silva-Zacarin E.C.M., Simmons A., Simon A.K., Simon H.-U., Simone C., Simonsen A., Sinclair D.A., Singh R., Sinha D., Sinicrope F.A., Sirko A., Siu P.M., Sivridis E., Skop V., Skulachev V.P., Slack R.S., Smaili S.S., Smith D.R., Soengas M.S., Soldati T., Song X., Sood A.K., Soong T.W., Sotgia F., Spector S.A., Spies C.D., Springer W., Srinivasula S.M., Stefanis L., Steffan J.S., Stendel R., Stenmark H., Stephanou A., Stern S.T., Sternberg C., Stork B., Strålfors P., Subauste C.S., Sui X., Sulzer D., Sun J., Sun S.-Y., Sun Z.-J., Sung J.J.Y., Suzuki K., Suzuki T., Swanson M.S., Swanton C., Sweeney S.T., Sy L.-K., Szabadkai G., Tabas I., Taegtmeyer H., Tafani M., Takács-Vellai K., Takano Y., Takegawa K., Takemura G., Takeshita F., Talbot N.J., Tan K.S.W., Tanaka K., Tanaka K., Tang D., Tang D., Tanida I., Tannous B.A., Tavernarakis N., Taylor G.S., Taylor G.A., Taylor J.P., Terada L.S., Terman A., Tettamanti G., Thevissen K., Thompson C.B., Thorburn A., Thumm M., Tian F., Tian Y., Tocchini-Valentini G., Tolkovsky A.M., Tomino Y., Tönges L., Tooze S.A., Tournier C., Tower J., Towns R., Trajkovic V., Travassos L.H., Tsai T.-F., Tschan M.P., Tsubata T., Tsung A., Turk B., Turner L.S., Tyagi S.C., Uchiyama Y., Ueno T., Umekawa M., Umemiya-Shirafuji R., Unni V.K., Vaccaro M.L., Valente E.M., Van den Berghe G., van der Klei I.J., van Doorn W., van Dyk L.F., van Egmond M., van Grunsven L.A., Vandenabeele P., Vandenberghe W.P., Vanhorebeek I., Vaquero E.C., Velasco G., Vellai T., Vicencio J.M., Vierstra R.D., Vila M., Vindis C., Viola G., Viscomi M.T., Voitsekhovskaja O.V., von Haefen C., Votruba M., Wada K., Wade-Martins R., Walker C.L., Walsh C.M., Walter J., Wan X.-B., Wang A., Wang C., Wang D., Wang F., Wang F., Wang G., Wang H., Wang H.-G., Wang H.-D., Wang J., Wang K., Wang M., Wang R.C., Wang X., Wang X.J., Wang Y.-J., Wang Y., Wang Z.-B., Wang Z.C., Wang Z., Wansink D.G., Ward D.M., Watada H., Waters S.L., Webster P., Wei L., Wehl C.C., Weiss W.A., Welford S.M., Wen L.-P., Whitehouse C.A., Whittton J.L., Whitworth A.J., Wileman T., Wiley J.W., Wilkinson S., Willbold D., Williams R.L., Williamson P.R., Wouters B.G., Wu C., Wu D.-C., Wu W.K.K., Wyttenbach A., Xavier R.J., Xi Z., Xia P., Xiao G., Xie Z., Xie Z., Xu D.-z., Xu J., Xu L., Xu X., Yamamoto A., Yamamoto A., Yamashina S., Yamashita M., Yan X., Yanagida M., Yang D.-S., Yang E., Yang J.-M., Yang S.Y., Yang W., Yang W.Y., Yang Z., Yao M.-C., Yao T.-P., Yeganeh B., Yen W.-L., Yin J.-j., Yin X.-M., Yoo O.-J., Yoon G., Yoon S.-Y., Yorimitsu T., Yoshikawa Y., Yoshimori T., Yoshimoto K., You H.J., Youle R.J., Younes A., Yu L., Yu L., Yu S.-W., Yu W.H., Yuan Z.-M., Yue Z., Yun C.-H., Yuzaki M., Zabirnyk O., Silva-Zacarin E., Zacks D., Zacksenhaus E., Zaffaroni N., Zakeri Z., Zeh H.J., 3rd, Zeitlin S.O., Zhang H., Zhang H.-L., Zhang J., Zhang J.-P., Zhang L., Zhang L., Zhang M.-Y., Zhang X.D., Zhao M., Zhao Y.-F., Zhao Y., Zhao Z.J., Zheng X., Zhivotovsky B., Zhong Q., Zhou C.-Z., Zhu C., Zhu W.-G.,

- Zhu X.-F., Zhu X., Zhu Y., Zoladek T., Zong W.-X., Zorzano A., Zschocke J., Zuckerbraun B. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy // *Autophagy*. 2012. V. 8, No 4. P. 445–544. <https://doi.org/10.4161/auto.19496>.
21. Mauthe M., Orhon I., Rocchi C., Zhou X., Luhr M., Hijlkema K.-J., Coppes R.P., Engedal N., Mari M., Reggiori F. Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion // *Autophagy*. 2018. V. 14, No 8. P. 1435–1455. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1474314>.
 22. D'Arcy M.S. Cell death: A review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy // *Cell Biol. Int.* 2019. V. 43, No 6. P. 582–592. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>.
 23. Menon M.B., Dhamija S. Beclin 1 phosphorylation – at the center of autophagy regulation // *Front. Cell Dev. Biol.* 2018. V. 6. Art. 137. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00137>.
 24. Li W., He P., Huang Y., Li Y.-F., Lu J., Li M., Kurihara H., Luo Z., Meng T., Onishi M., Ma C., Jiang L., Hu Y., Gong Q., Zhu D., Xu Y., Liu R., Liu L., Yi C., Zhu Y., Ma N., Okamoto K., Xie Z., Liu J., He R.-R., Feng D. Selective autophagy of intracellular organelles: Recent research advances // *Theranostics*. 2021. V. 11, No 1. P. 222–226. <https://doi.org/10.7150/thno.49860>.
 25. Lamark T., Kirkin V., Dikic I., Johansen T. NBR1 and p62 as cargo receptors for selective autophagy of ubiquitinated targets // *Cell Cycle*. 2009. V. 8, No 13. P. 1986–1990. <https://doi.org/10.4161/cc.8.13.8892>.
 26. Nezis I.P., Simonsen A., Sagona A.P., Finley K., Gaumer S., Contamine D., Rusten T.E., Stenmark H., Brech A. Ref(2)P, the *Drosophila melanogaster* homologue of mammalian p62, is required for the formation of protein aggregates in adult brain // *J. Cell Biol.* 2008. V. 180, No 6. P. 1065–1071. <https://doi.org/10.1083/jcb.200711108>.
 27. Jara O., Mysliwiec H., Minogue P.J., Berthoud V.M., Beyer E.C. p62/Sequestosome 1 levels increase and phosphorylation is altered in Cx50D47A lenses, but deletion of p62/sequestosome 1 does not improve transparency // *Mol. Vision*. 2020. V. 26. P. 204–215.
 28. Bjørkøy G., Lamark T., Brech A., Outzen H., Perander M., Øvervatn A., Stenmark H., Johansen T. p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death // *J. Cell Biol.* 2005. V. 171, No 4. P. 603–614. <https://doi.org/10.1083/jcb.200507002>.
 29. Karim M.R., Kanazawa T., Daigaku Y., Fujimura S., Miotto G., Kadowaki M. Cytosolic LC3 ratio as a sensitive index of macroautophagy in isolated rat hepatocytes and H4-II-E cells // *Autophagy*. 2007. V. 3, No 6. P. 553–560. <https://doi.org/10.4161/auto.4615>.
 30. Bartlett B.J., Isakson P., Lewerenz J., Sanchez H., Kotzebue R.W., Cumming R.C., Harris G.L., Nezis I.P., Schubert D.R., Simonsen A., Finley K.D. p62, Ref(2)P and ubiquitinated proteins are conserved markers of neuronal aging, aggregate formation and progressive autophagic defects // *Autophagy*. 2011. V. 7, No 6. P. 572–583. <https://doi.org/10.4161/auto.7.6.14943>.
 31. Луговая А.В., Эмануэль В.С., Артемова А.В., Митрейкин В.Ф. Современные подходы к оценке биологических маркеров аутофагии и апоптоза при остром ишемическом инсульте // *Современные проблемы науки и образования*. 2020. № 4. С. 159–174. <https://doi.org/10.17513/spno.30017>.
 32. Kadowaki M., Karim M.R. Chapter 13 Cytosolic LC3 ratio as a quantitative index of macroautophagy. Ser.: *Methods in Enzymology*. V. 452: *Autophagy in mammalian systems, part B* / Klionsky D.J. (Ed.). San Diego, CA: Acad. Press, 2009. P. 199–213. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(08\)03613-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(08)03613-6).
 33. Jaber N., Zong W.-X. Class III PI3K Vps34: Essential roles in autophagy, endocytosis, and heart and liver function // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2013. V. 1280, No 1. P. 48–51. <https://doi.org/10.1111/nyas.12026>.

34. Kumar A.V., Mills J., Lapierre L.R. Selective autophagy receptor p62/SQSTM1, a pivotal player in stress and aging // *Front. Cell Dev. Biol.* 2022. V. 10. Art. 793328. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.793328>.
35. Bronietzki A.W., Schuster M., Schmitz I. Autophagy in T-cell development, activation and differentiation // *Immunol. Cell Biol.* 2015. V. 93, No 1. P. 25–34. <https://doi.org/10.1038/icb.2014.81>.
36. Shevyrev D., Tereshchenko V. Treg heterogeneity, function, and homeostasis // *Front. Immunol.* 2020. V. 10. Art. 3100. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03100>.
37. Kabat A.M., Harrison O.J., Riffelmacher T., Moghaddam A.E., Pearson C.F., Laing A., Abeler-Dörner L., Forman S.P., Grecis R.K., Sattentau Q., Simon A.K., Pott J., Maloy K.J. The autophagy gene *Atg16/1* differentially regulates T_{reg} and T_H2 cells to control intestinal inflammation // *eLife*. 2016. V. 5. Art. e12444. <https://doi.org/10.7554/eLife.12444>.
38. Zhang J., Chen L., Xiong F., Zhang S., Huang K., Zhang Z., Wang C.-Y. Autophagy in regulatory T cells: A double-edged sword in disease settings // *Mol. Immunol.* 2019. V. 109. P. 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.02.004>.

Поступила в редакцию 06.05.2024

Принята к публикации 28.06.2024

Бурцева Анастасия Владимировна, магистрант кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: renardtriste00@gmail.com

Смирнова Элина Владимировна, студент кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: smirnova.290331@gmail.com

Абрамов Сергей Николаевич, младший научный сотрудник НИЛ «OpenLab Генные и клеточные технологии» Научно-клинического центра прецизионной и регенеративной медицины Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: 007abramov@mail.ru

Тихомирова Мария Владимировна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: mary20011994@mail.ru

Афанасьева Зинаида Александровна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры онкологии, радиологии и паллиативной медицины

Казанская государственная медицинская академия
ул. Муштары, д. 11, г. Казань, 420012, Россия
E-mail: z-afanasieva@mail.ru

Абрамова Зинаида Ивановна, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: ziabramova@mail.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.658-682

Autophagy in Mononuclear Cells from Patients with Autoimmune Thyroiditis*A.V. Burtseva^{a*}, E.V. Smirnova^{a**}, S.N. Abramov^{a***}, M.V. Tikhomirova^{a****},
Z.A. Afanasyeva^{b*****}, Z.I. Abramova^{a*****}*^aKazan Federal University, Kazan, 420008 Russia^bKazan State Medical Academy, Kazan, 420012 RussiaE-mail: *renardtriste00@gmail.com, **smirnova.290331@gmail.com, ***007abramov@mail.ru,
****mary20011994@mail.ru, *****z-afanasieva@mail.ru, *****ziabramova@mail.ru

Received May 6, 2024; Accepted June 28, 2024

Abstract

Autoimmune thyroiditis (AIT) is a chronic thyroid disorder wherein overstimulated CD4⁺T lymphocytes activate CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes, thereby inducing Fas-mediated apoptosis of thyrocytes and reducing the hormonal activity of the thyroid gland. Recent studies suggest that autophagy, a process vital for maintaining cellular homeostasis through the degradation of damaged proteins and organelles in autolysosomes, is involved in the pathogenesis of autoimmune diseases. This article examines autophagy in peripheral blood mononuclear cells and the expression of key autophagy proteins (Vps34, p62, and LC3) in patients with AIT. The number of autophagosomes in the cells was tracked and assessed using flow cytometry. The expression of the protein markers was measured by western blotting. It was demonstrated that the levels of Vps34, LC3-II, and p62 increased significantly in the lymphocytes of all patients with AIT. The high level of the autophagosome protein LC3-II correlated with that of the ubiquitin-binding protein p62, which may indicate a disruption in the late stage of autophagy, i.e., in the fusion of autophagosomes with lysosomes. Impaired autophagy promotes excessive accumulation of autophagosomes in the cytoplasm, which, in turn, triggers apoptotic or necrotic cell death. Therefore, understanding the mechanisms of impaired autophagy in lymphocytes could be a promising avenue for slowing and limiting the damage associated with the onset and development of AIT.

Keywords: lymphocytes, autophagy, autoimmune thyroiditis, flow cytometry

Institutional Review Board Statement. The study was conducted in accordance with the WMA Declaration of Helsinki and approved by the Local Ethics Committee of Republican Clinical Oncological Dispensary and Kazan Federal University (protocol no. 8 dated February 13, 2018).

Informed Consent Statement. Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Acknowledgements. This study was supported by Russian Science Foundation (project no. 23-25-00443).

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Assessment of the relative number of mononuclear cells containing autophagosomes by flow cytometry during culturing: *a*) gating strategy for lymphocytes from patients with AIT (*a1*), as well as negative (*a2*) and positive controls (*a3*) for the accumulation of autophagosomes; *b*) accumulation of autophagosomes in cells from healthy donors (*b2*) and patients with AIT (*b4*) after 72 h, compared to freshly isolated samples (*b1* and *b3*, respectively; green fluorescence); *c*) percentage of lymphocytes with autophagosomes cultured for 72 h in low-serum conditions, from healthy donors (**C**) and patients with AIT (**AIT**), as shown by densitometry (* – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, ns – not significant).

Fig. 2. Schematic outline of autophagy, as cited in [10].

Fig. 3. Schematic conversion of the inactive Bcl-2–Beclin-1 complex into the active PI3K complex, as cited in [10].

Fig. 4. Levels of the autophagy initiator Vps34 in mononuclear cells from healthy donors (C) and patients with AIT (AIT): a) Vps34 signal intensity normalized to β -actin; b) Vps34 expression, as assessed by immunoblotting (** – $p < 0.005$, *** – $p < 0.0005$).

Fig. 5 Levels of the adaptor protein p62 (SQSTM1) in mononuclear cells from healthy donors (C) and patients with AIT (AIT): a) p62 expression intensity normalized to β -actin; b) representative western blotting with antibodies against SQSTM1 (**** – $p < 0.0001$, ns – not significant).

Fig. 6. Autophagic flux in mononuclear cells from healthy donors (C) and patients with AIT (AIT) based on the expression of cytoplasmic (LC3-I) and lipidated (LC3-II) proteins: a) LC3-I signal intensity normalized to β -actin; b) LC3-II signal intensity normalized to β -actin; c) autophagy initiation assessed by the ratio LC3-I/LC3-II; d) autophagic activity assessed by the ratio LC3-II/LC3-I; e) representative western blotting of LC3-I, LC3-II, and β -actin expression in mononuclear cells, either freshly isolated or cultured for 72 h. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.005$, *** – $p < 0.0005$, **** – $p < 0.0001$, ns – not significant.

Fig. 7. Autophagic flux activity in mononuclear cells from healthy donors (C) and patients with AIT (AIT): a) p62 and LC3-II signal intensity normalized to β -actin in the cells of healthy donors; b) p62 and LC3-II signal intensity normalized to β -actin in the cells of patients with AIT; c) autophagic flux activity assessed by the ratio LC3-II/p62 (* – $p < 0.05$, ** – $p < 0.005$, **** – $p < 0.0001$, ns – not significant).

References

1. Troshina E.A. Chronic autoimmune thyroiditis is a “signal disease” in the multiorgan autoimmune syndrome. *Probl. Endokrinol.*, 2023, vol. 69, no. 4, pp. 4–10. <https://doi.org/10.14341/probl13361>. (In Russian)
2. Luk'yanchikov V.S. Autoimmune thyroiditis. A correlation with thyroid and non-endocrine metaplasias. *RMZh*, 2013, vol. 21, no. 12, pp. 657–659. (In Russian)
3. Ragusa F., Fallahi P., Elia G., Gonnella D., Paparo S.R., Giusti C., Churilov L.P., Ferrari S.M., Antonelli A. Hashimotos' thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy. *Best Pract. Res., Clin. Endocrinol. Metab.*, 2019, vol. 33, no. 6, art. 101367. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101367>.
4. Radetti G. Clinical aspects of Hashimoto's thyroiditis. In: G. Szinnai (Ed.) *Paediatric Thyroidology*. Ser.: Endocrine Development. Vol. 26. Basel, S. Karger AG, 2014. pp. 158–170. <https://doi.org/10.1159/000363162>.
5. Caturegli P., De Remigis A., Rose N.R. Hashimoto thyroiditis: Clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun. Rev.*, 2014, vol. 13, nos. 4–5, pp. 391–397. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.007>.
6. Pyzik A., Grywalska E., Matyjaszek-Matuszek B., Roliński J. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: What do we know so far? *J. Immunol. Res.*, 2015, vol. 2015, no. 1, art. 979167. <https://doi.org/10.1155/2015/979167>.
7. Salmaso C., Bagnasco M., Pesce G., Montagna P., Brizzolara R., Altrinetti V., Richiusa P., Galluzzo A., Giordano C. Regulation of apoptosis in endocrine autoimmunity: Insights from Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2002, vol. 996, no. 1, pp. 496–501. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb04253.x>.
8. Vukovic R., Zeljkovic A., Bufan B., Spasojevic-Kalimanovska V., Milenkovic T., Vekic J. Hashimoto thyroiditis and dyslipidemia in childhood: A review. *Front. Endocrinol.*, 2019, vol. 10, art. 868. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00868>.
9. Yang Z., Goronzy J.J., Weyand C.M. Autophagy in autoimmune disease. *J. Mol. Med.*, 2015, vol. 93, no. 7, pp. 707–717. <https://doi.org/10.1007/s00109-015-1297-8>.
10. Shliapina V.L., Yurtaeva S.V., Rubtsova M.P., Dontsova O.A. At the crossroads: Mechanisms of apoptosis and autophagy in cell life and death. *Acta Nat.*, 2021, vol. 13, no. 2(49), pp. 106–115. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11208>.

11. Netea-Maier R.T., Plantinga T.S., van de Veerdonk F.L., Smit J.W., Netea M.G. Modulation of inflammation by autophagy: Consequences for human disease. *Autophagy*, 2016, vol. 12, no. 2, pp. 245–260. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1071759>.
12. Denton D., Kumar S. Autophagy-dependent cell death. *Cell Death Differ.*, 2019, vol. 26, no. 4, pp. 605–616. <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0252-y>.
13. Wu Z.-Z., Zhang J.-J., Gao C.-C., Zhao M., Liu S.-Y., Gao G.-M., Zheng Z.-H. Expression of autophagy related genes mTOR, Becline-1, LC3 and p62 in the peripheral blood mononuclear cells of systemic lupus erythematosus. *Am. J. Clin. Exp. Immunol.*, 2017, vol. 6, no. 1, pp. 1–8.
14. Liang P., Le W. Role of autophagy in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neurosci. Bull.*, 2015, vol. 31, no. 4, pp. 435–444. <https://doi.org/10.1007/s12264-015-1545-5>.
15. Wua D.J., Adamopoulos I.E. Autophagy and autoimmunity. *Clin. Immunol.*, 2017, vol. 176, pp. 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2017.01.007>.
16. Wang W., Zhang B.-T., Jiang Q.-L., Zhao H.-Q., Xu Q., Zeng Y., Xu J.-Y., Jiang J. Leptin receptor antagonist attenuates experimental autoimmune thyroiditis in mice by regulating Treg/Th17 cell differentiation. *Front. Endocrinol.*, 2022, vol. 13, art. 1042511. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1042511>.
17. Jia X., Zhai T., Qu C., Ye J., Zhao J., Liu X., Zhang J.-a., Qian Q. Metformin reverses Hashimoto's thyroiditis by regulating key immune events. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2021, vol. 9, art. 685522. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.685522>.
18. Recktenwald D., Radbruch A. (Eds.) *Cell Separation Methods and Applications*. Boca Raton, FL, CRC Press, 1998. 352 p. <https://doi.org/10.1201/9781482273649>.
19. Kleiveland C.R. Peripheral blood mononuclear cells. Verhoeckx K., Cotter P., López-Expósito I., Kleiveland C., Lea T., Mackie A., Requena T., Swiatecka D., Wichers H. (Eds.). *The Impact of Food Bioactives on Health: In Vitro and Ex Vivo Models*. Cham, Springer, 2015, pp. 161–167. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16104-4_15.
20. Klionsky D.J., Abdalla F.C., Abeliovich H., Abaraham R.T., Acevedo-Arozena A., Adeli K., Agholme L., Agnello M., Agostinis P., Aguirre-Ghiso J.A., Ahn H.J., Ait-Mohamed O., Ait-Si-Ali S., Akematsu T., Akira S., Al-Younes H.M., Al-Zeer M.A., Albert M.L., Albin R.L., Alegre-Abarrategui J., Aleo M.F., Alirezai M., Almasan A., Almonte-Becerril M., Amano A., Amaravadi R.K., Amarnath S., Amer A.O., Andrieu-Abadie N., Anantharam V., Ann D.K., Anoopkumar-Dukie S., Aoki H., Apostolova N., Arancia G., Aris J.P., Asanuma K., Asare N.Y.O., Ashida H., Askanas V., Askew D.S., Auberger P., Baba M., Backues S.K., Baehrecke E.H., Bahr B.A., Bai X.-Y., Bailly Y., Baiocchi R., Baldini G., Balduini W., Ballabio A., Bamber B.A., Bampton E.T.W., Juhász G., Bartholomew C.R., Basham D.C., Bast R.C., Batoko H., Bay B.-H., Beau I., Béchet D.M., Begley T.J., Behl C., Behrends C., Bekri S., Bellaire B., Bendall L.J., Benetti L., Berliocchi L., Bernardi H., Bernassola F., Besteiro S., Bhatia-Kissava I., Bi X., Biard-Piechaczyk M., Blum J.S., Boise L.H., Bonaldo P., Boone D.L., Bornhauser B.C., Bortoluci K.R., Bossis I., Bost F., Bourquin J.-P., Boya P., Boyer-Guittaut M., Bozhkov P.V., Brady N.R., Brancolini C., Brech A., Brenman J.E., Brennand A., Bresnick E.H., Brest P., Bridges D., Bristol M.L., Brookes P.S., Brown E.J., Brummell J.H., Brunetti-Pierri N., Brunk U.T., Bulman D.E., Bultman S.J., Bultynck G., Burbulla L.F., Bursch W., Butchar J.P., Buzgariu W., Bydlowski S.P., Cadwell K., Cahová M., Cai D., Cai J., Cai Q., Calabretta B., Calvo-Garrido J., Camougrand N., Campanella M., Campos-Salinas J., Candi E., Cao L., Caplan A.B., Carding S.R., Cardoso S.M., Carew J.S., Carlin C.R., Carmignac V., Carneiro L.A.M., Carra S., Caruso R.A., Casari G., Casas C., Castano R., Cebollero E., Cecconi F., Celli J., Chaachouay H., Chae H.-J., Chai C.-Y., Chan D.C., Chan E.Y., Chang R.C.-C., Che C.-M., Chen C.-C., Chen G.-C., Chen G.-Q., Chen M., Chen Q., Chen S.S.-L., Chen W., Chen X., Chen X., Chen X., Chen Y.-G., Chen Y., Chen Y., Chen Y.-J., Chen Z., Cheng A., Cheng C.H.K., Cheng Y., Cheong H., Cheong J.-H., Cherry S., Chess-Williams R., Cheung Z.H., Chevet E., Chiang H.-L., Chiarelli R., Chiba T., Chin L.-S., Chiou S.-H., Chisari F.V., Cho C.H., Cho D.-H., Choi A.M.K., Choi D., Choi K.S., Choi M.E., Chouaib S., Choubey D., Choubey V., Chu C.T., Chuang T.-H., Chueh S.-H., Chun T., Chwae Y.-J., Chye M.-L., Ciarica R., Ciriolo M.R., Clague M.J., Clark R.S.B., Clarke P.G.H., Clarke R., Codogno P., Collier H.A., Colombo M.I., Comincini S., Condello M., Condorelli F., Cookson M.R., Coombs G.H., Coppens I., Corbalan R., Cossart P., Costelli P., Costes S., Coto-Montes A., Couve E., Coxon F.P., Cregg J.M., Crespo J.L., Cronjé M.J., Cuervo A.M., Cullen J.J., Czaja M.J., D'Amelio M., Darfeuille-Michaud A., Davids L.M.,

Davies F.E., De Felici M., de Groot J.F., de Haan C.A.M., De Martino L., De Milito A., De Tata V., Debnath J., Degterev A., Dehay B., Delbridge L.M.D., Demarchi F., Deng Y.Z., Dengjel J., Dent P., Denton D., Deretic V., Desai S.D., Devenish R.J., Di Gioacchino M., Di Paolo G., Di Pietro C., Díaz-Araya G., Díaz-Laviada I., Díaz-Meco M.T., Díaz-Nido J., Dikic I., Dinesh-Kumar S.P., Ding W.-X., Distelhorst C.W., Diwan A., Djavaheri-Mergny M., Dokudovskaya S., Dong Z., Dorsey F.C., Dosenko V., Dowling J.J., Doxsey S., Dreux M., Drew M.E., Duan Q., Duchosal M.A., Duff K.E., Dugail I., Durbeek J., Duszenko M., Edelstein C.L., Edinger A.L., Egea G., Eichinger L., Eissa N.T., Ekmekcioglu S., El-Deiry W.S., Elazar Z., Elgendy M., Ellerby L.M., Eng K.E., Engelbrecht A.-M., Engelender S., Erenpreisa J., Escalante R., Esclatine A., Eskelinen E.-L., Espert L., Espina V., Fan H., Fan J., Fan Q.-W., Fan Z., Fang S., Fang Y., Fanto M., Fanzani A., Farkas T., Farre J.-C., Faure M., Fechheimer M., Feng C.G., Feng J., Feng Q., Feng Y., Fésüs L., Feuer R., Figueiredo-Pereira M.E., Fimia G.M., Fingar D.C., Finkbeiner S., Finkel T., Finley K.D., Fiorito F., Fisher E.A., Fisher P.B., Flajolet M., Florez-McClure M.L., Florio S., Fon E.A., Fornai F., Fortunato F., Fotadar R., Fowler D.H., Fox H.S., Franco R., Frankel L.B., Fransen M., Fuentes J.M., Fueyo J., Fujii J., Fujisaki K., Fujita E., Fukuda M., Furukawa R.H., Gaestel M., Gailly P., Gajewska M., Galliot B., Galy V., Ganesh S., Ganetzky B., Ganley I.G., Gao F.-B., Gao G.F., Gao J., Garcia L., Garcia-Manero G., Garcia-Marcos M., Garmyn M., Gartel A.L., Gatti E., Gautel M., Gawriluk T.R., Gegg M.E., Geng J., Germain M., Gestwicki J.E., Gewirtz D.A., Ghavami S., Ghosh P., Giammarioli A.M., Giatromanolaki A.N., Gibson S.B., Gilkerson R.W., Ginger M.L., Ginsberg H.N., Golab J., Goligorsky M.S., Golstein P., Gomez-Manzano C., Goncu E., Gongora C., Gonzalez C.D., Gonzalez R., González-Estévez C., González-Polo R.A., Gonzalez-Rey E., Gorbunov N.V., Gorski S., Goruppi S., Gottlieb R.A., Gozuacik D., Granato G.E., Grant G.D., Green K.N., Gregorc A., Gros F., Grose C., Grunt T.W., Gual P., Guan J.-L., Guan K.-L., Guichard S.M., Gukovskaya A.S., Gukovsky I., Gunst J., Gustafsson Å.B., Halayko A.J., Hale A.N., Halonen S.K., Hamasaki M., Han F., Han T., Hancock M.K., Hansen M., Harada H., Harada M., Hardt S.E., Harper J.W., Harris A.L., Harris J., Harris S.D., Hashimoto M., Haspel J.A., Hayashi S.-i., Hazelhurst L.A., He C., He Y.-W., Hébert M.-J., Heidenreich K.A., Helfrich M.H., Helgason G.V., Henske E.P., Herman B., Herman P.K., Hetz C., Hilfiker S., Hill J.A., Hocking L.J., Hofman P., Hofmann T.G., Höhfeld J., Holyoake T.L., Hong M.-H., Hood D.A., Hotamisligil G.S., Houwerzijl E.J., Høyer-Hansen M., Hu B., Hu C.-a.A., Hu H.-M., Hua Y., Huang C., Huang J., Huang S., Huang W.-P., Huber T.B., Huh W.-K., Hung T.-H., Hupp T.R., Hur G.M., Hurley J.B., Hussain S.N.A., Hussey P.J., Hwang J.J., Hwang S., Ichihara A., Ilkhanizadeh S., Inoki K., Into T., Iovane V., Iovanna J.L., Ip N.Y., Isaka Y., Ishida H., Isidoro C., Isobe K.-i., Iwasaki A., Izquierdo M., Izumi Y., Jaakkola P.M., Jäättelä M., Jackson G.R., Jackson W.T., Janji B., Jendrach M., Jeon J.-H., Jeung E.-B., Jiang H., Jiang H., Jiang J.X., Jiang M., Jiang Q., Jiang X., Jiang X., Jiménez A., Jin M., Jin S.V., Joe C.O., Johansen T., Johnson D.E., Johnson G.V.W., Jones N.L., Joseph B., Joseph S.K., Joubert A.M., Juhász G., Juillerat-Jeanneret L., Jung C.H., Jung Y.-K., Kaarniranta K., Kaasik A., Kabuta T., Kadowaki M., Kågedal K., Kamada Y., Kaminsky V.O., Kampinga H.H., Kanamori H., Kang C., Kang K.B., Kang K.I., Kang R., Kang Y.-A., Kanki T., Kanneganti T.-D., Kanno H., Kanthasamy A.G., Kanthasamy A., Karantza V., Kaushal G.P., Kaushik S., Kawazoe Y., Ke P.-Y., Kehrl J.H., Kelekar A., Kerkhoff C., Kessel D.H., Khalil H., Kiel J.A.K.W., Kiger A.A., Kihara A., Kim D.R., Kim D.-H., Kim D.-H., Kim E.-K., Kim H.-R., Kim J.-S., Kim J.H., Kim J.C., Kim J.K., Kim P.K., Kim S.W., Kim Y.-S., Kim Y., Kimchi A., Kimmelman A.C., King J.S., Kinsella T.J., Kirkin V., Kirshenbaum L.A., Kitamoto K., Kitazato K., Klein L., Klimecki W.T., Klucken J., Knecht E., Ko B.C.B., Koch J.C., Koga H., Koh J.-Y., Koh Y.H., Koike M., Komatsu M., Kominami E., Kong H.J., Kong W.-J., Korolchuk V.I., Kotake Y., Koukourakis M.I., Kouri Flores J.B., Kovács A.L., Kraft C., Krainc D., Krämer H., Kretz-Remy C., Krichevsky A.M., Kroemer G., Krüger R., Krut O., Ktistakis N.T., Kuan C.-Y., Kucharczyk R., Kumar A., Kumar R., Kumar S., Kundu M., Kung H.-J., Kurz T., Kwon H.J., La Spada A.R., Lafont F., Lamark T., Landry J., Lane J.D., Lapaquette P., Laporte J.F., László L., Lavandro S., Lavoie J.N., Layfield R., Lazo P.A., Le W., Le Cam L., Ledbetter D.J., Lee A.J.X., Lee B.-W., Lee G.M., Lee J., Lee J.-h., Lee M., Lee M.-S., Lee S.H., Leeuwenburgh C., Legembre P., Legouis R., Lehmann M., Lei H.-Y., Lei Q.-Y., Leib D.A., Leiro J., Lemasters J.J., Lemoine A., Lesniak M.S., Lev D., Levenson V.V., Levine B., Levy E., Li F., Li J.-L., Li L., Li S., Li W., Li X.-J., Li Y.-B., Li Y.-P., Liang C., Liang Q., Liao Y.-F., Liberski P.P., Lieberman A., Lim H.J., Lim K.-L., Lim K., Lin C.-F., Lin F.-C., Lin J., Lin J.D., Lin K., Lin W.-W., Lin W.-C., Lin Y.-L., Linden R., Lingor P., Lippincott-Schwartz J., Lisanti M.P., Liton P.B., Liu B., Liu C.-F., Liu K., Liu L., Liu Q.A., Liu W., Liu Y.-C., Liu Y.,

Lockshin R.A., Lok C.-N., Lonial S., Loos B., Lopez-Berestein G., López-Otín C., Lossi L., Lotze M.T., Low P., Lu B., Lu B., Lu B., Lu Z., Luciano F., Lukacs N.W., Lund A.H., Lynch-Day M.A., Ma Y., Macian F., MacKeigan J.P., Macleod K.F., Madeo F., Maiuri L., Maiuri M.C., Malagoli D., Malicdan M.C.V., Malorni W., Man N., Mandelkow E.-M., Manon S., Manov I., Mao K., Mao X., Mao Z., Marambaud P., Marazziti D., Marcel Y.L., Marchbank K., Marchetti P., Marciniak S.J., Marcondes M., Mardi M., Marfe G., Mariño G., Markaki M., Marten M.R., Martin S.J., Martinand-Mari C., Martinet W., Martinez-Vicente M., Masini M., Matarrese P., Matsuo S., Matteoni R., Mayer A., Mazure N.M., McConkey D.J., McConnell M.J., McDermott C., McDonald C., McInerney G.M., McKenna S.L., McLaughlin B., McLean P.J., McMaster C.R., McQuibban G.A., Meijer A.J., Meisler M.H., Meléndez A., Melia T.J., Melino G., Mena M.A., Menendez J.A., Menna-Barreto R.F.S., Menon M.B., Menzies F.M., Mercer C.A., Merighi A., Merry D.E., Meschini S., Meyer C.G., Meyer T.F., Miao C.-Y., Miao J.-Y., Michels P.A.M., Michiels C., Mijaljica D., Milojkovic A., Minucci S., Miracco C., Miranti C.K., Mitroulis I., Miyazawa K., Mizushima N., Mograbi B., Mohseni S., Molero X., Mollereau B., Mollinedo F., Momoi T., Monastyrska I., Monick M.M., Monteiro M.J., Moore M.N., Mora R., Moreau K., Moreira P.I., Moriyasu Y., Moscat J., Mostowy S., Mottram J.C., Motyl T., Moussa C.E.-H., Müller S., Muller S., Münger K., Münz C., Murphy L.O., Murphy M.E., Musarò A., Mysorekar I., Nagata E., Nagata K., Nahimana A., Nair U., Nakagawa T., Nakahira K., Nakano H., Nakatogawa H., Nanjundan M., Naqvi N.I., Narendra D.P., Narita M., Navarro M., Nawrocki S.T., Nazarko T.Y., Nemchenko A., Netea M.G., Neufeld T.P., Ney P.A., Nezis I.P., Nguyen H.P., Nie D., Nishino I., Nislow C., Nixon R.A., Noda T., Noegel A.A., Nogalska A., Noguchi S., Notterpek L., Novak I., Nozaki T., Nukina N., Nürnberger T., Nyfeler B., Obara K., Oberley T.D., Oddo S., Ogawa M., Ohashi T., Okamoto K., Oleinick N.L., Oliver F.J., Olsen L.J., Olsson S., Opota O., Osborne T.F., Ostrand G.K., Otsu K., Ou J.-h.J., Ouimet M., Overholtzer M., Ozpolat B., Paganetti P., Pagnini U., Pallet N., Palmer G.E., Palumbo C., Pan T., Panaretakis T., Pandey U.B., Papackova Z., Papassideri I., Paris I., Park J., Park O.K., Parys J.B., Parzych K.R., Patschan S., Patterson C., Pattingre S., Pawelek J.M., Peng J., Perlmutter D.H., Perrotta I., Perry G., Pervaiz S., Peter M., Peters G.J., Petersen M., Petrovski G., Phang J.M., Piacentini M., Pierre P., Pierrefitte-Carle V., Pierron G., Pinkas-Kramarski R., Piras A., Piri N., Plataniás L.C., Pöggeler S., Poirot M., Poletti A., Poüs C., Pozuelo-Rubio M., Prætorius-Ibba M., Prasad A., Prescott M., Priault M., Produit-Zengaffinen N., Progulsk-Fox A., Proikas-Cezanne T., Przedborski S., Przyklenk K., Puertollano R., Puyal J., Qian S.-B., Qin L., Qin Z.-H., Quaggin S.E., Raben N., Rabinowich H., Rabkin S.W., Rahman I., Rami A., Ramm G., Randall G., Randow F., Rao V.A., Rathmell J.C., Ravikumar B., Ray S.K., Reed B.H., Reed J.C., Reggiori F., Régnier-Vigouroux A., Reichert A.S., Reiners J.J., Jr, Reiter R.J., Ren J., Revuelta J.L., Rhodes C.J., Ritis K., Rizzo E., Robbins J., Roberge M., Roca H., Roccheri M.C., Rocchi S., Rodemann H.P., Rodríguez de Córdoba S., Rohrer B., Roninson I.B., Rosen K., Rost-Roszkowska M.M., Rouis M., Rouschop K.M.A., Rovetta F., Rubin B.P., Rubinstein D.C., Ruckdeschel K., Rucker E.B., Rudich A., Rudolf E., Ruiz-Opazo N., Russo R., Rusten T.E., Ryan K.M., Ryter S.W., Sabatini D.M., Sadoshima J., Saha T., Saitoh T., Sakagami H., Sakai Y., Salekdeh G.H., Salomoni P., Salvaterra P.M., Salvesen G., Salvioli R., Sanchez A.M.J., Sánchez-Alcázar J.A., Sánchez-Prieto R., Sandri M., Sankar U., Sansanwal P., Santambrogio L., Saran S., Sarkar S., Sarwal M., Sasakawa C., Sasnauskiene A., Sass M., Sato K., Sato M., Schapira A.H.V., Scharl M., Schätzl H.M., Schepel W., Schiaffino S., Schneider C., Schneider M.E., Schneider-Stock R., Schoenlein P.V., Schorderet D.F., Schüller C., Schwartz G.K., Scorrano L., Sealy L., Seglen P.O., Segura-Aguilar J., Seiliez I., Seleverstov O., Sell C., Seo J.B., Separovic D., Setaluri V., Setoguchi T., Settembre C., Shacka J.J., Shanmugam M., Shapiro I.M., Shaulian E., Shaw R.J., Shelhamer J.H., Shen H.-M., Shen W.-C., Sheng Z.-H., Shi Y., Shibuya K., Shidoji Y., Shieh J.-J., Shih C.-M., Shimada Y., Shimizu S., Shintani T., Shirihi O.S., Shore G.C., Sibirny A.A., Sidhu S.B., Sikorska B., Silva-Zacarin E.C.M., Simmons A., Simon A.K., Simon H.-U., Simone C., Simonsen A., Sinclair D.A., Singh R., Sinha D., Sinicrope F.A., Sirko A., Siu P.M., Sivridis E., Skop V., Skulachev V.P., Slack R.S., Smaili S.S., Smith D.R., Soengas M.S., Soldati T., Song X., Sood A.K., Soong T.W., Sotgia F., Spector S.A., Spies C.D., Springer W., Srinivasula S.M., Stefanis L., Steffan J.S., Stendel R., Stenmark H., Stephanou A., Stern S.T., Sternberg C., Stork B., Strålfors P., Subauste C.S., Sui X., Sulzer D., Sun J., Sun S.-Y., Sun Z.-J., Sung J.J.Y., Suzuki K., Suzuki T., Swanson M.S., Swanton C., Sweeney S.T., Sy L.-K., Szabadkai G., Tabas I., Taegtmeyer H., Tafani M., Takács-Vellai K., Takano Y., Takegawa K., Takemura G., Takeshita F., Talbot N.J., Tan K.S.W., Tanaka K., Tanaka K., Tang D., Tang D., Tanida I.,

- Tannous B.A., Tavernarakis N., Taylor G.S., Taylor G.A., Taylor J.P., Terada L.S., Terman A., Tettamanti G., Thevissen K., Thompson C.B., Thorburn A., Thumm M., Tian F., Tian Y., Tocchini-Valentini G., Tolkovsky A.M., Tomino Y., Tönges L., Tooze S.A., Tournier C., Tower J., Towns R., Trajkovic V., Travassos L.H., Tsai T.-F., Tschan M.P., Tsubata T., Tsung A., Turk B., Turner L.S., Tyagi S.C., Uchiyama Y., Ueno T., Umekawa M., Umemiya-Shirafuji R., Unni V.K., Vaccaro M.I., Valente E.M., Van den Berghe G., van der Klei I.J., van Doorn W., van Dyk L.F., van Egmond M., van Grunsven L.A., Vandenabeele P., Vandenbergh W.P., Vanhorebeek I., Vaquero E.C., Velasco G., Vellai T., Vicencio J.M., Vierstra R.D., Vila M., Vindis C., Viola G., Viscomi M.T., Voitsekhojskaja O.V., von Haefen C., Votruba M., Wada K., Wade-Martins R., Walker C.L., Walsh C.M., Walter J., Wan X.-B., Wang A., Wang C., Wang D., Wang F., Wang F., Wang G., Wang H., Wang H.-G., Wang H.-D., Wang J., Wang K., Wang M., Wang R.C., Wang X., Wang X.J., Wang Y.-J., Wang Y., Wang Z.-B., Wang Z.C., Wang Z., Wansink D.G., Ward D.M., Watada H., Waters S.L., Webster P., Wei L., Wehl C.C., Weiss W.A., Welford S.M., Wen L.-P., Whitehouse C.A., Whitton J.L., Whitworth A.J., Wileman T., Wiley J.W., Wilkinson S., Willbold D., Williams R.L., Williamson P.R., Wouters B.G., Wu C., Wu D.-C., Wu W.K.K., Wyttenbach A., Xavier R.J., Xi Z., Xia P., Xiao G., Xie Z., Xie Z., Xu D.-z., Xu J., Xu L., Xu X., Yamamoto A., Yamamoto A., Yamashina S., Yamashita M., Yan X., Yanagida M., Yang D.-S., Yang E., Yang J.-M., Yang S.Y., Yang W., Yang W.Y., Yang Z., Yao M.-C., Yao T.-P., Yeganeh B., Yen W.-L., Yin J.-j., Yin X.-M., Yoo O.-J., Yoon G., Yoon S.-Y., Yorimitsu T., Yoshikawa Y., Yoshimori T., Yoshimoto K., You H.J., Youle R.J., Younes A., Yu L., Yu L., Yu S.-W., Yu W.H., Yuan Z.-M., Yue Z., Yun C.-H., Yuzaki M., Zabirnyk O., Silva-Zacarin E., Zacks D., Zacksenhaus E., Zaffaroni N., Zakeri Z., Zeh H.J., 3rd, Zeitlin S.O., Zhang H., Zhang H.-L., Zhang J., Zhang J.-P., Zhang L., Zhang L., Zhang M.-Y., Zhang X.D., Zhao M., Zhao Y.-F., Zhao Y., Zhao Z.J., Zheng X., Zhivotovsky B., Zhong Q., Zhou C.-Z., Zhu C., Zhu W.-G., Zhu X.-F., Zhu X., Zhu Y., Zoladek T., Zong W.-X., Zorzano A., Zschocke J., Zuckerbraun B. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. *Autophagy*, 2012, vol. 8, no. 4, pp. 445–544. <https://doi.org/10.4161/auto.19496>.
21. Mauthe M., Orhon I., Rocchi C., Zhou X., Luhr M., Hijlkema K.-J., Coppes R.P., Engedal N., Mari M., Reggiori F. Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy*, 2018, vol. 14, no. 8, pp. 1435–1455. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1474314>.
 22. D'Arcy M.S. Cell death: A review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol. Int.*, 2019, vol. 43, no. 6, pp. 582–592. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>.
 23. Menon M.B., Dhamija S. Beclin 1 phosphorylation – at the center of autophagy regulation. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2018, vol. 6, art. 137. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00137>.
 24. Li W., He P., Huang Y., Li Y.-F., Lu J., Li M., Kurihara H., Luo Z., Meng T., Onishi M., Ma C., Jiang L., Hu Y., Gong Q., Zhu D., Xu Y., Liu R., Liu L., Yi C., Zhu Y., Ma N., Okamoto K., Xie Z., Liu J., He R.-R., Feng D. Selective autophagy of intracellular organelles: Recent research advances. *Theranostics*, 2021, vol. 11, no. 1, pp. 222–226. <https://doi.org/10.7150/thno.49860>.
 25. Lamark T., Kirkin V., Dikic I., Johansen T. NBR1 and p62 as cargo receptors for selective autophagy of ubiquitinated targets. *Cell Cycle*, 2009, vol. 8, no. 13, pp. 1986–1990. <https://doi.org/10.4161/cc.8.13.8892>.
 26. Nezis I.P., Simonsen A., Sagana A.P., Finley K., Gaumer S., Contamine D., Rusten T.E., Stenmark H., Brech A. Ref(2)P, the *Drosophila melanogaster* homologue of mammalian p62, is required for the formation of protein aggregates in adult brain. *J. Cell Biol.*, 2008, vol. 180, no. 6, pp. 1065–1071. <https://doi.org/10.1083/jcb.200711108>.
 27. Jara O., Mysliwiec H., Minogue P.J., Berthoud V.M., Beyer E.C. p62/Sequestosome 1 levels increase and phosphorylation is altered in Cx50D47A lenses, but deletion of p62/sequestosome 1 does not improve transparency. *Mol. Vision*, 2020, vol. 26, pp. 204–215.
 28. Bjørkøy G., Lamark T., Brech A., Outzen H., Perander M., Øvervatn A., Stenmark H., Johansen T. p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death. *J. Cell Biol.*, 2005, vol. 171, no. 4, pp. 603–614. <https://doi.org/10.1083/jcb.200507002>.

29. Karim M.R., Kanazawa T., Daigaku Y., Fujimura S., Miotto G., Kadowaki M. Cytosolic LC3 ratio as a sensitive index of macroautophagy in isolated rat hepatocytes and H4-II-E cells. *Autophagy*, 2007, vol. 3, no. 6, pp. 553–560. <https://doi.org/10.4161/auto.4615>.
30. Bartlett B.J., Isakson P., Lewerenz J., Sanchez H., Kotzebue R.W., Cumming R.C., Harris G.L., Nezis I.P., Schubert D.R., Simonsen A., Finley K.D. p62, Ref(2)P and ubiquitinated proteins are conserved markers of neuronal aging, aggregate formation and progressive autophagic defects. *Autophagy*, 2011, vol. 7, no. 6, pp. 572–583. <https://doi.org/10.4161/auto.7.6.14943>.
31. Lugovaya A.V., Emanuel V.S., Artemova A.V., Mitreikin V.F. Modern approaches to assessing biological markers of autophagy and apoptosis in acute ischemic stroke. *Sovrem. Probl. Nauki Obraz.*, 2020, no. 4, pp. 159–174. <https://doi.org/10.17513/spno.30017>. (In Russian)
32. Kadowaki M., Karim M.R. Chapter 13 Cytosolic LC3 ratio as a quantitative index of macroautophagy. Ser: Methods in Enzymology. Vol. 452: Autophagy in mammalian systems, part B. D.J. Klionsky (Ed.). San Diego, CA, Acad. Press, 2009, pp. 199–213. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(08\)03613-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(08)03613-6).
33. Jaber N., Zong W.-X. Class III PI3K Vps34: Essential roles in autophagy, endocytosis, and heart and liver function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2013, vol. 1280, no. 1, pp. 48–51. <https://doi.org/10.1111/nyas.12026>.
34. Kumar A.V., Mills J., Lapierre L.R. Selective autophagy receptor p62/SQSTM1, a pivotal player in stress and aging. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2022, vol. 10, art. 793328. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.793328>.
35. Bronietzki A.W., Schuster M., Schmitz I. Autophagy in T-cell development, activation and differentiation. *Immunol. Cell Biol.*, 2015, vol. 93, no. 1, pp. 25–34. <https://doi.org/10.1038/icb.2014.81>.
36. Shevryev D., Tereshchenko V. Treg heterogeneity, function, and homeostasis. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 10, art. 3100. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03100>.
37. Kabat A.M., Harrison O.J., Riffelmacher T., Moghaddam A.E., Pearson C.F., Laing A., Abeler-Dörner L., Forman S.P., Grecis R.K., Sattentau Q., Simon A.K., Pott J., Maloy K.J. The autophagy gene *Atg16/1* differentially regulates T_{reg} and T_{H2} cells to control intestinal inflammation. *eLife*, 2016, vol. 5, art. e12444. <https://doi.org/10.7554/eLife.12444>.
38. Zhang J., Chen L., Xiong F., Zhang S., Huang K., Zhang Z., Wang C.-Y. Autophagy in regulatory T cells: A double-edged sword in disease settings. *Mol. Immunol.*, 2019, vol. 109, pp. 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.02.004>.

Для цитирования: Бурцева А.В., Смирнова Э.В., Абрамов С.Н., Тихомирова М.В., Афанасьева З.А., Абрамова З.И. Особенности аутофагии в мононуклеарных клетках пациентов с аутоиммунным тиреоидитом // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 4. С. 658–682. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.658-682>.

For citation: Burtseva A.V., Smirnova E.V., Abramov S.N., Tikhomirova M.V., Afanasyeva Z.A., Abramova Z.I. Autophagy in mononuclear cells from patients with autoimmune thyroiditis. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 4, pp. 658–682. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.658-682>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 575.1

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.683-703

АНАЛИЗ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫХ ВИРУСОВ 9 И RH.10 СЕРОТИПОВ, КОДИРУЮЩИХ ГЕН АРИЛСУЛЬФАТАЗЫ А, ПОСЛЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ИММУНИЗАЦИИ СВИНЕЙ ВИРУСОМ 9 СЕРОТИПА

А.И. Муллагулова¹, А.А. Шаймарданова¹, Я.О. Мухамедшина^{1,2},
В.В. Соловьева¹, А. Ибрахим¹, А.А. Ризванов^{1,3}

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

²Республиканская клиническая больница, г. Казань, Россия, 420064, Россия

³Академия наук Республики Татарстан, г. Казань, 420111, Россия

Аннотация

Лизосомные болезни накопления представляют собой наследственные заболевания, связанные с нарушением функции лизосом, включая работу ферментов, важных для клеточного метаболизма, сигнальных путей и других биологических процессов. Метахроматическая лейкодистрофия (МЛД), входящая в группу лизосомных болезней накопления, вызвана дефицитом арилсульфатазы А (ARSA), что приводит к накоплению сульфатидов и разрушению миелиновых оболочек структур нервной системы. В статье обсуждается эффективность использования аденоассоциированных вирусов (AAB) при нейродегенеративных заболеваниях, включая МЛД. Показано биораспределение и безопасность векторов AAB9-ARSA и AABrh.10-ARSA после предварительной иммунизации свиней. Обсуждены иммунные аспекты, связанные с генной терапией на основе AAB, а также возможные ограничения в эффективности и долгосрочности такой терапии.

Ключевые слова: метахроматическая лейкодистрофия, арилсульфатаза, генная терапия, нейродегенеративное заболевание.

Введение

Лизосомные болезни накопления – это группа наследственных заболеваний, при которых нарушается функция лизосом, в частности из-за неправильной работы ферментов, участвующих в клеточном метаболизме, передаче сигналов, обработке субстратов, врожденном иммунитете, апоптозе и других сложных процессах рециркуляции клеток [1]. Метахроматическая лейкодистрофия (МЛД) входит в группу лизосомных болезней накопления и представляет собой аутосомно-рецессивную лейкодистрофию, которая вызвана дефектом метаболизма лизосомного фермента арилсульфатазы А (ARSA (англ. arylsulfatase A), OMIM: 250100) или белка-активатора сапозина В (SapB (англ. saposin B), OMIM: 249900). При МЛД происходит накопление сульфатидов, преимущественно в нейронах, вызывая дисфункции и разрушение миелиновой оболочки, покрывающей отростки многих нейронов центральной и периферической нервной системы [2]. Галакто-

зилцерамид и сульфатид являются двумя основными липидами миелиновой оболочки [3]. При МЛД вследствие недостаточной активности ARSA из-за мутаций гена *ARSA* не расщепляются сульфатированные гликолипиды, в основном галактозил-3-сульфатцерамиды [4]. Накопление сульфатидов приводит к дегенерации нейронов, дисфункции астроцитов, происходит демиелинизация, приводящая к нарушению двигательной функции, спастическому тетрапарезу, атаксии, спазмам, атрофии зрительного нерва и когнитивным нарушениям [5].

Выделяют три основных клинических типа МЛД: поздний инфантильный (возраст клинической манифестации до 30 месяцев), ювенильный (возраст клинической манифестации от 2.5 до 16 лет) и взрослый (возраст клинической манифестации после 16 лет) [5]. Уровень остаточной ферментативной активности ARSA коррелирует с типом и тяжестью симптомов МЛД [6]. Для деградации сульфатидов и поддержания нормальной жизнедеятельности человека достаточно 10–15 % ферментативной активности ARSA. Клиническая картина МЛД разнообразна и зависит от начала, скорости прогрессирования и наличия периферической невропатии [7].

Для лечения МЛД в основном используют симптоматическую терапию, направленную на устранение нейрокогнитивных и нейропсихиатрических нарушений. Существуют различные терапевтические подходы, такие как фермент-заместительная терапия, трансплантация костного мозга, трансплантация гемопоэтических клеток или пуповинной крови. Однако эффективность этих методов остается недостаточной для предотвращения усугубления неврологических нарушений у пациентов [8, 9]. В качестве альтернативы описан генно-клеточный препарат на основе аутологичных гемопоэтических стволовых клеток, трансдуцированных лентивирусным вектором, кодирующим комплементарную ДНК гена *ARSA* [10].

Нейродегенеративные заболевания относятся к наиболее сложным для лечения из-за ограниченного доступа к структурам головного мозга как на физическом, так и на физиологическом уровне. Генная и генно-клеточная терапии являются хорошей альтернативой и за последнее десятилетие привели к значительным успехам в лечении заболеваний, затрагивающих нервную систему [11]. Аденоассоциированные вирусы (AAB) являются предпочтительным вектором, различные их серотипы проявляют тропизм к отдельным тканям [12]. На сегодняшний день основными серотипами, которые используют в генной терапии, нацеленной на центральную нервную систему, являются 1, 5, 8, 9 и rh10. Многообещающие результаты получены с использованием AAB9-ARSA на мышах с моделью МЛД [13] и на крупных животных – мини-пигах [14], а также с применением AABrh.10-ARSA на мышах с моделью МЛД и на нечеловекообразных приматах [15, 16]. Сопоставление AAB9-ARSA и AABrh.10-ARSA показало, что последний более эффективно инфицирует клетки периферической нервной системы и снижает накопление сульфатидов в нервной системе мышей с моделью МЛД [17].

AAB обладают низкой иммуногенностью по сравнению с другими вирусами, но известно, что AAB дикого типа приводит к образованию иммунного ответа с развитием как гуморального, так и Т-клеточного иммунитета. Иммунизация представляет собой образование В-клетками специфичных антител, ко-

которые могут связываться с вирусным капсидом и блокировать его связывание с клеткой-мишенью, что снижает эффективность инфицирования вирусом. Также могут образовываться Т-лимфоциты, специфичные к антигенам ААВ [18, 19]. Несмотря на то, что с ААВ не ассоциировано на данный момент ни одного заболевания, большинство людей имеют антитела против ААВ из-за естественного носительства вирусов различных серотипов, что может ограничивать эффективность генной терапии на основе ААВ.

Считается, что генная терапия на основе ААВ приводит к длительной экспрессии трансгена. Однако на данный момент отсутствует достаточное количество медицинских данных пациентов, позволяющее установить эффективные сроки терапии. Кроме того, существует лимит безопасного количества вирусных частиц, которое можно ввести пациенту. Поэтому генная терапия на основе ААВ имеет ограничения. Длительный терапевтический эффект генной терапии может быть достигнут путем многократного введения вирусных векторов [20, 21]. Однако повторное введение характеризуется меньшей эффективностью, поскольку после первого введения вирусного вектора иммунная система пациента может начать вырабатывать противовирусный ответ, например, нейтрализующие антитела и Т-клетки. При местном или системном введении вирус будет восприниматься как чужеродный белок, поэтому иммунная система попытается его устранить [22, 23].

Таким образом, понимание иммунного ответа на ААВ и управление им являются важными факторами при разработке и внедрении генной терапии. Текущие исследования в этой области направлены на повышение эффективности и безопасности векторов ААВ путем разработки стратегий преодоления иммунных барьеров. В настоящей работе проведен сравнительный анализ биораспределения и безопасности ААВ9-ARSA и ААВrh.10-ARSA, содержащих кодон-оптимизированные нуклеотидные последовательности гена *ARSA*, при интратекальном введении после предварительной иммунизации свиней с помощью внутривенного введения ААВ9-ARSA.

1. Материалы и методы

1.1. Плазмидные конструкции, используемые для сборки ААВ. В работе использовали векторную плазмиду, содержащую кодон-оптимизированную последовательность кДНК гена *ARSA* человека, полученную ранее и описанную в работе [14].

Для наработки плазмид в препаративных количествах трансформировали штамм *Escherichia coli* TOP10 (Invitrogen, США). Клетки инкубировали в среде Лурия-Бертани в отсутствие антибиотика. Компетентные клетки получали с помощью CaCl_2 -метода. Генетическую трансформацию компетентных клеток проводили с помощью теплового шока, после чего трансформированные клетки инкубировали на селективной среде с ампициллином. Плазмидную ДНК (pAAB-ARSA, pAAB-RC и pHelper) выделяли из полученной бактериальной биомассы с использованием GeneJET Plasmid MaxiprepKit (кат. № K0482, Thermo Fisher Scientific Inc., США).

1.2. Получение и очистка рекомбинантного ААВ. ААВ получали с помощью стандартной ко-трансфекции тремя плазмидами в клетки ААВ293 (Agilent

Technologies, США) с использованием кальций-фосфатного метода. Клетки AAB293 культивировали при 37 °C во влажной атмосфере с 5%-ным содержанием CO₂ в полной среде DMEM (ПанЭко, Россия), которая содержала 10 % фетальной телячьей сыворотки, L-глутамин, 1 % антибиотиков (пенициллин и стрептомицин). Через 72 ч после трансфекции клетки центрифугировали, к осадку добавляли лизирующий буфер (NaCl, трис-HCl с pH 8.5, MgCl₂, dH₂O), ДНКазу (Benzonase® Nuclease, Sigma-Aldrich, США), 25 %-ный дезоксихолат натрия. Лизаты очищали с использованием ступенчатого градиента плотности йодиксанола (60, 40, 25 и 15 %). На последнем этапе очистки вируса использовали концентратор, подходящий для белков с размером 50 кДа (Vivaspin 20, membrane 50 kDa от Sartorius, Великобритания). Титр вируса определяли с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием специфичных праймеров (прямой 5'-3'-GGAACCCCTAGTGATGGAGTT, обратный 5'-3'-CGGCCTCAGTGAGCGA) и зонда на инвертированные концевые повторы (5'-3' (FAM) CACTCCCTCTCTGCGCGCTCG (BBQ)).

1.3. Животные. В работе использовали здоровых самок свиней возрастом 4 месяца и весом 9–12 кг. Общее количество подопытных свиней составляло 15 особей, которые были разделены на три группы. Для иммунизации свиньям внутривенно вводили AAB9-ARSA в количестве 1×10^{13} геномных копий/кг веса, кроме особей контрольной группы. Через 6 недель после первичной инъекции проводили интратекальное введение AAB9-ARSA и AABrh.10-ARSA в качестве второй точки эксперимента. Группы были разделены следующим образом: (1) интратекальное введение AAB9-ARSA в дозе 1×10^{12} геномных копий/кг ($n = 5$); (2) интратекальное введение AABrh.10-ARSA в дозе 1×10^{12} геномных копий/кг ($n = 5$); (3) контрольная группа без введения вируса ($n = 5$).

Свиней содержали в специализированных помещениях Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана (Россия, г. Казань) под наблюдением квалифицированного персонала. Эвтаназию животных проводили с использованием методов, которые соответствуют принципам, изложенным в Рекомендациях Европейской комиссии по эвтаназии подопытных животных.

1.4. Забор материала. До введения вируса отбирали спинномозговую жидкость (СМЖ) и кровь в качестве нулевой точки. На 42 сут после иммунизации у животных отбирали СМЖ и кровь и вводили AAB9-ARSA и AABrh.10-ARSA, после чего повторно проводили забор СМЖ и цельной крови на 49, 56, 63, 70 сут для оценки ферментативной активности ARSA в динамике. На 70 сут после введения вируса проводили эвтаназию подопытных свиней. Для определения уровня экспрессии ARSA проводили ПЦР-РВ, а также тест на определение ферментативной активности ARSA в гомогенатах различных отделов нервной системы.

У каждого животного проводили забор фрагментов следующих органов: мозжечок, затылочная доля головного мозга, шейный (С6-7), грудной (Th6-7) и поясничный (L2-3) отделы спинного мозга со спинальными корешками и ганглиями, скрытый нерв. Каждый из вышеперечисленных фрагментов помещали в 10%-ный раствор формалина. Через 48 ч от начала фиксации каждый фрагмент переносили последовательно в 15 и 30%-ную сахарозу. Полученные образцы

нервной ткани свиней в 30%-ной сахарозе помещали в среду для замораживания тканей Tissue-Tek O.C.T. Compound (Sakura Finetek, Нидерланды). На криостате Microm HM 560 (Thermo Fisher Scientific Inc., США) получали поперечные или сагитальные срезы исследуемых органов нервной системы толщиной 20 мкм и использовали для последующего иммунофлуоресцентного анализа.

1.5. Определение ферментативной активности ARSA проводили в плазме, СМЖ и гомогенатах органов. Плазму выделяли из цельной крови центрифугированием при 1900 об/мин в течение 20 мин. Фрагменты органов гомогенизировали в эппендорфах, содержащих 500 мкл натрий-ацетатного буферного раствора с добавлением стеклянных шариков, которые помещали в гомогенизатор и воздействовали частотой 5 Гц в течение 20 с. Полученный гомогенат центрифугировали в течение 5 мин при 10 тыс. об/мин. Надосадочную жидкость использовали для определения активности ARSA. Концентрацию общего белка в образцах определяли с помощью набора Pierce™ BCA Protein Assay Kit (кат. № 23227, Thermo Fisher Scientific Inc., США). Образцы нормализовали относительно концентрации общего белка. Для определения активности ARSA 50 мкл образца инкубировали в течение 1 ч при 37 °С с раствором субстрата, состоящим из 0.01 М *n*-нитрокатехола сульфата в виде двунатриевой соли (кат. № N7251, Sigma-Aldrich, США), 0.5 М ацетата натрия, 5×10^{-4} М $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, 10%-ного хлорида натрия, pH = 5. Реакцию останавливали добавлением 1 н гидроксида натрия. В качестве стандартов использовали разведения сульфатазы (кат. № S9626, Sigma-Aldrich, США). Оптическую плотность измеряли при длине волны 515 нм. Ферментативную активность ARSA (нмоль/ч/мг белка) рассчитывали по формуле:

$$\text{Активность ARSA} = \frac{(A_{\text{образца}} - A_{\text{бланка}}) \times 1 \times 0.25 \times 1000}{12.6 \times 0.05 \times c_{\text{общего белка}}},$$

где A – оптическая плотность, 1 – время инкубации (ч), 0.25 – общий объем реакции (мл), 12.6 – коэффициент поглощения *n*-нитрокатехола сульфата при 515 нм, 0.05 – объем образца (мл), 1000 – коэффициент пересчета, $c_{\text{общего белка}}$ – концентрация общего белка (мг/мл).

1.6. ПЦР-РВ. Общую рибонуклеиновую кислоту (РНК) выделяли из органов животных с использованием TRIzol Reagent (кат. № 15596026, Invitrogen, США) согласно инструкции, предлагаемой производителем. Праймеры (прямой 5'-3'-CAAGGTACATGGCATTCGCA, обратный 5'-3'-CTGTGGATAGTGGGTGTGGT) и зонд (5'-3' (6-FAM) CCTGCCGCTGTGCATCTGCCA (BHQ-1)), специфичные к нуклеотидной последовательности *ARSA*, разработаны с помощью GenScript Online Real-time PCR (TaqMan) Primer Design Tool (GenScript, США) и синтезированы компанией «Евроген» (Россия).

Выделенную РНК применяли в качестве матрицы для синтеза кДНК с использованием обратной транскриптазы (кат. № SK021, MMLV RT kit, Евроген) согласно инструкции производителя. ПЦР-РВ по технологии TaqMan проводили в 96-луночных планшетах MicroAmp (кат. № MSA5001, BioRad, США). Для этого готовили смесь праймеров и зонда: прямой праймер – 3 мкл, обратный праймер – 3 мкл, зонд – 1 мкл, вода – 63 мкл. Далее готовили реакционную смесь для ПЦР-РВ, содержащую на 1 реакцию 2 мкл 5х реакционного буфера

qPCRmix-HS (кат. № PK145L, Евроген, Россия), 1.4 мкл смеси праймеров и зонд, 5.6 мкл воды и 1 мкл кДНК. ПЦР-амплификацию проводили с помощью CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (BioRad, США) при следующих температурных условиях циклирования: предварительный нагрев при 95 °C в течение 3 мин, 45 циклов денатурации при 95 °C в течение 10 мин, отжиг при 55 °C в течение 30 с, элонгация при 72 °C в течение 30 с.

1.7. Оценка безопасности терапии. Для оценки безопасности проводили биохимический анализ крови. Для этого у животных отбирали цельную кровь в пробирки с гелем и активатором свертывания крови и центрифугировали в течение 20 мин при 1900 об/мин. В сыворотке крови определяли уровень аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), общего билирубина, креатинина с помощью биохимического анализатора ChemWell 2900 (Awareness Technology, США).

1.8. Иммунофлуоресцентный анализ. Криостатные поперечные или сагитальные срезы органов центральной и периферической нервной системы использовали для анализа экспрессии в ткани белка ARSA. Для иммунофлуоресцентного мечения срезы блокировали 5%-ной нормальной козьей сывороткой, далее окрашивали первичным антителом (кат. № PAA195Hu22, Cloud-Clone Corp., США), вторичными антителами (кат. № A32795, Invitrogen, США) и последовательно промывали натрий-фосфатным буферным раствором. Для визуализации ядер срезы окрашивали 10 мкг/мл 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI) (кат. № D9542, Sigma-Aldrich, США) в натрий-фосфатном буферном растворе. Срезы заключали в среду (кат. № sc-45086, ImmunoHistoMount, Santa Cruz Biotechnology, США) и изучали при помощи конфокального сканирующего микроскопа LSM 700 (Carl Zeiss, Германия).

1.9. Статистический анализ. Анализ полученных данных проводили при помощи программного обеспечения GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США) с использованием критерия Шапиро-Уилка и однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим post-hoc-тестом Тьюки. Результаты представлены в виде среднего значения $\pm S$. Статистически достоверные различия обозначали как * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, **** – $p < 0.0001$.

2. Результаты

2.1. Анализ ферментативной активности ARSA. Для проверки функциональности рекомбинантных вирусов AAB9-ARSA и AABrh.10-ARSA после предварительной иммунизации с помощью внутривенного введения AAB9-ARSA и последующего интратекального введения AAB9-ARSA и AABrh.10-ARSA в дозе 1×10^{12} гк/кг рассмотрена активность ARSA в плазме крови, СМЖ и различных структурах центральной нервной системы. Статистически значимая разница в величинах ферментативной активности ARSA в СМЖ животных разных групп не обнаружена (рис. 1, а). Ферментативная активность ARSA в плазме крови свиней увеличивается на 14 и 28 сут после интратекального введения AABrh.10-ARSA на 240 и 220 % соответственно (рис. 1, б).

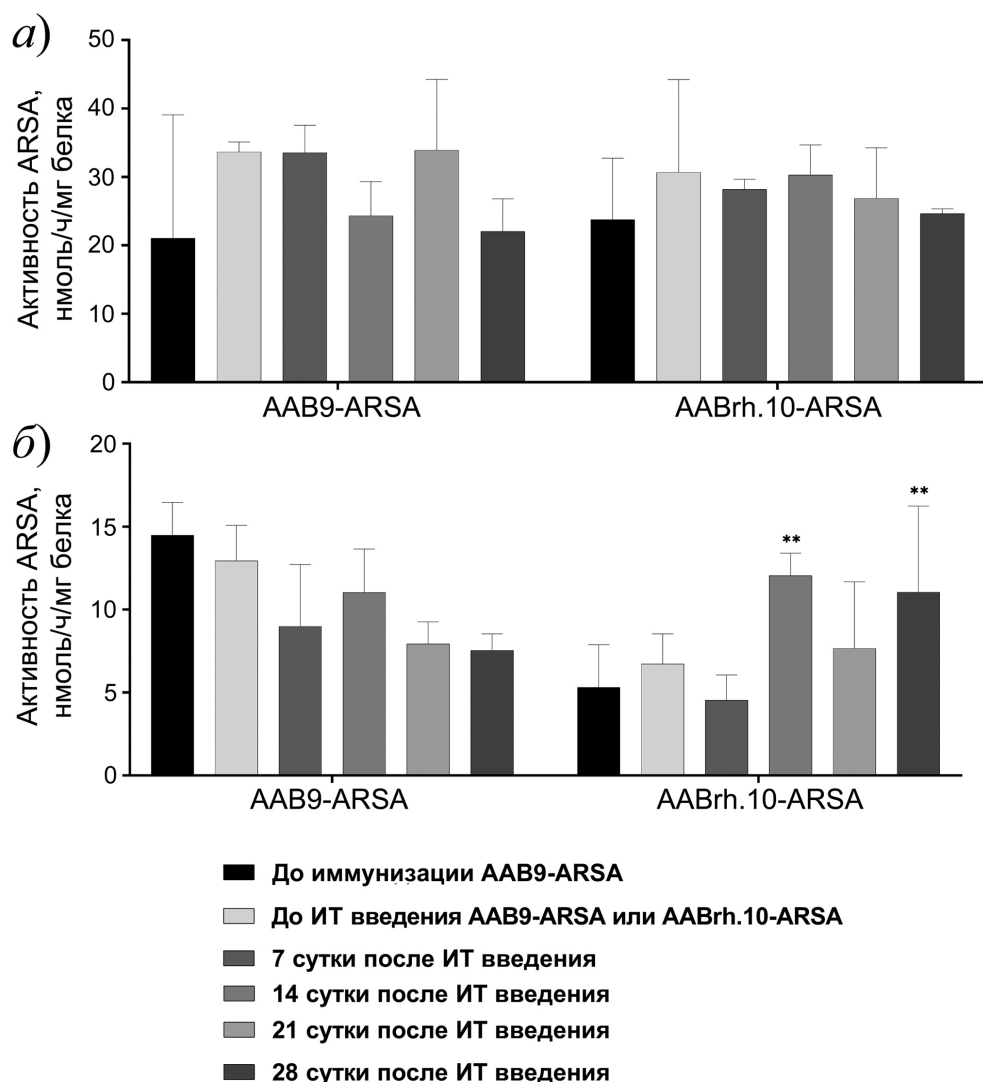


Рис. 1. Ферментативная активность ARSA в СМЖ (а) и плазме крови (б) после предварительной иммунизации AAB9-ARSA и последующего интратекального введения AAB9-ARSA (ИТ AAB9-ARSA) или AABrh.10-ARSA (ИТ AABrh.10-ARSA). ** – $p < 0.01$.

Установлено увеличение ферментативной активности ARSA в коре, мозжечке, поясничном отделе спинного мозга на 228, 228 и 121 % соответственно после введения AAB9-ARSA и на 232, 256 и 117 % соответственно после введения AABrh.10-ARSA по сравнению с результатами для контрольной группы животных (рис. 2).

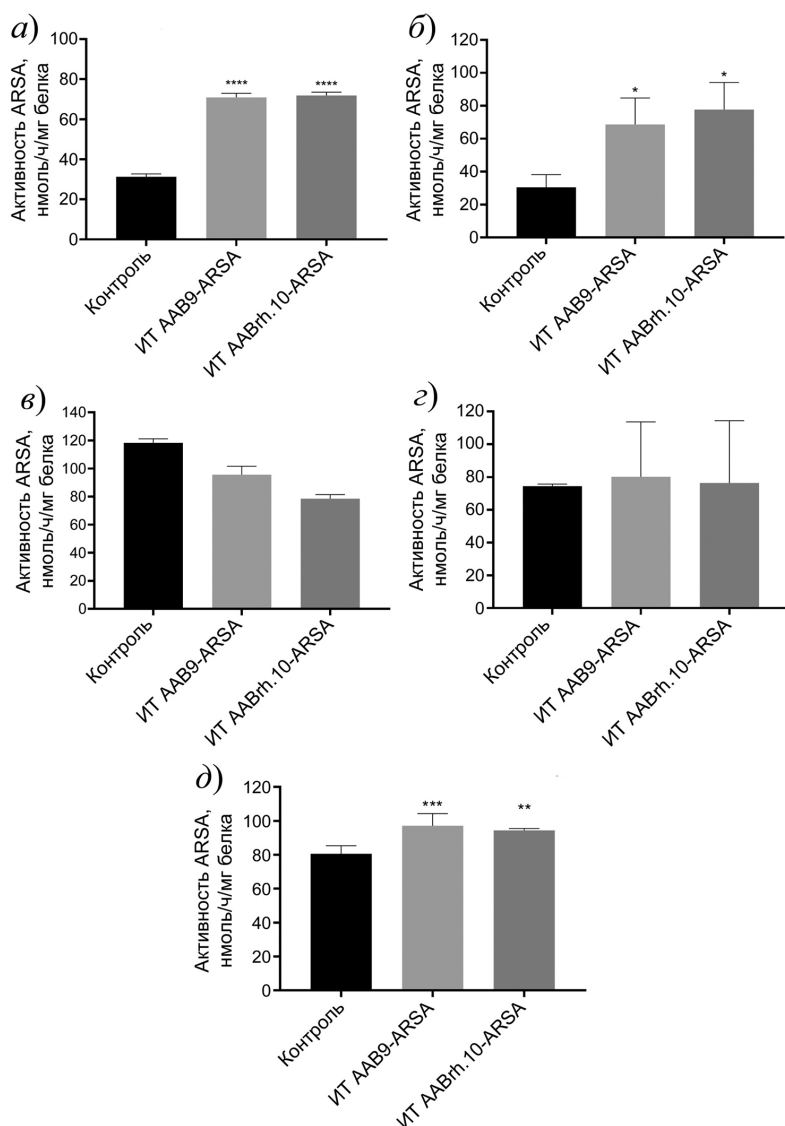


Рис. 2. Ферментативная активность ARSA в гомогенатах различных отделов нервной системы свиней после предварительной иммунизации AAB9-ARSA и последующего интратекального введения AAB9-ARSA (ИТ AAB9-ARSA) или AABrh.10-ARSA (ИТ AABrh.10-ARSA): *а* – кора затылочной доли головного мозга; *б* – мозжечок; *в* – шейный отдел спинного мозга; *г* – грудной отдел спинного мозга; *д* – поясничной отдел спинного мозга. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, **** – $p < 0.0001$. Контроль – контрольная группа животных

2.2. Анализ транскрипции мРНК ARSA в нервной ткани. Анализ с помощью ПЦР-РВ показал, что в первой группе животных после интратекального введения AAB9-ARSA в коре, мозжечке, шейном, грудном, поясничном отделах спинного мозга, ганглиях задних корешков шейного, грудного и поясничного отделов спинного мозга наблюдается транскрипция мРНК ARSA. Аналогичный эффект зарегистрирован и во второй группе животных, которым интратекально вводили AABrh.10-ARSA (рис. 3).

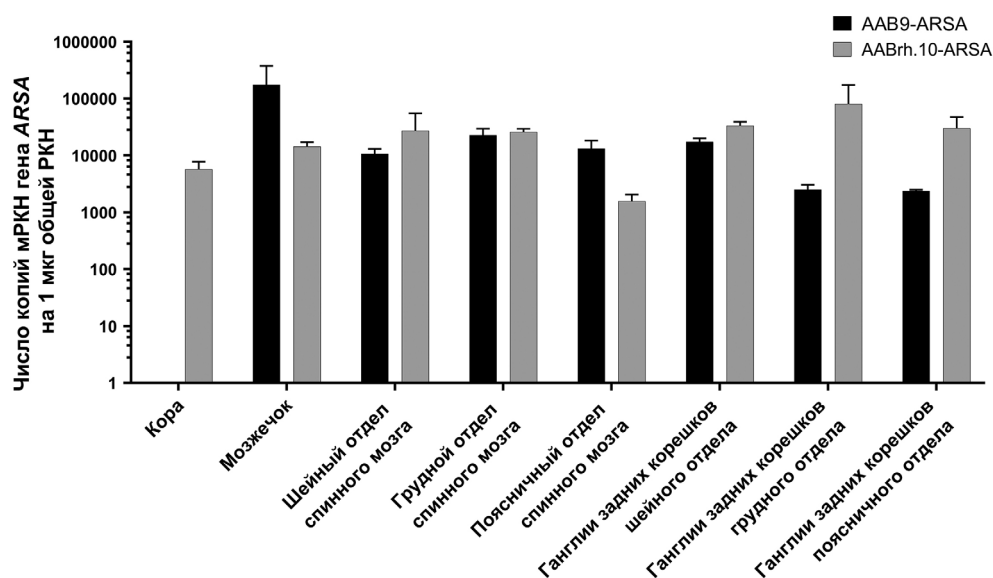


Рис. 3. Количество копий мРНК *ARSA* в различных отделах нервной системы свиней после предварительной иммунизации AAB9-ARSA и последующего интратекального введения AAB9-ARSA (AAB9-ARSA) и AABrh.10-ARSA (AABrh.10-ARSA) по данным ПЦР-РВ

2.3. Оценка безопасности терапии. Исследовано изменение биохимических показателей в сыворотке крови свиней до введения препарата, на 7 сут после иммунизации AAB9-ARSA, на 7 сут после последующего интратекального введения AAB9-ARSA или AABrh.10-ARSA, а также на 70 сут. Статистически значимых изменений в биохимических показателях (АЛТ, АСТ, креатинин, общий билирубин) после введения препаратов не обнаружено (рис. 4).

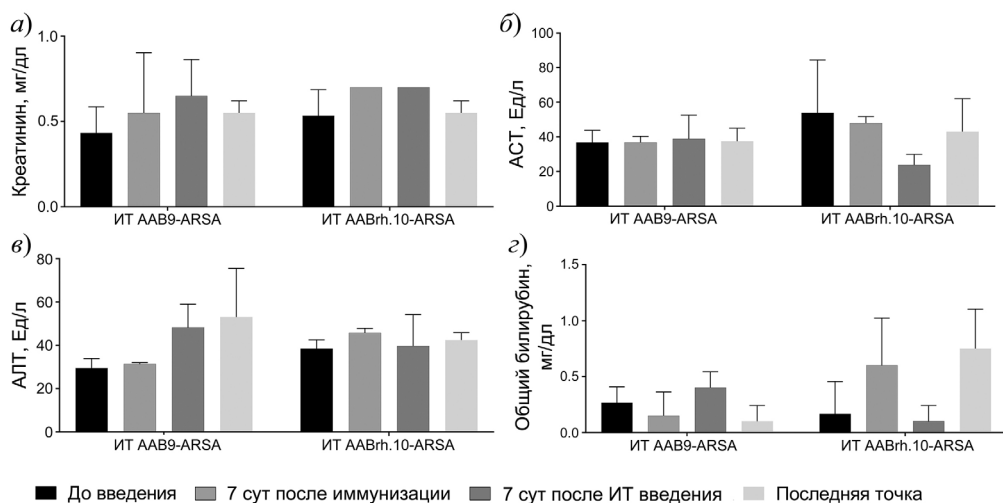


Рис. 4. Биохимические показатели сыворотки крови свиней после иммунизации AAB9-ARSA и последующего интратекального введения AAB9-ARSA (ИТ AAB9-ARSA) или AABrh.10-ARSA (ИТ AABrh.10-ARSA): а – креатинин; б – АСТ; в – АЛТ; г – общий билирубин. Данные получены с помощью иммуноферментного анализа

Также следует отметить, что после введения препаратов у животных не наблюдались признаки интоксикации, снижение массы тела, изменение походки и внешнего вида. При некропии не выявлены макроскопические изменения внутренних органов животных.

2.4. Оценка экспрессии *ARSA* в нервной системе. Иммунофлуоресцентный анализ показал, что в обеих экспериментальных группах животных в коре мозжечка присутствуют сверхэкспрессирующие *ARSA* нейроны Пуркинье. Однако в первой группе (AAB9-ARSA) количество указанных клеток больше ($p < 0.05$), чем во второй (AABrh.10-ARSA) (рис. 5, а–а3). Обнаруженные сверхэкспрессирующие *ARSA* нейроны Пуркинье у экспериментальных животных чаще всего локализованы группами в границах одной извилины. У интактных свиней сверхэкспрессия *ARSA* в мозжечке, в частности в нейронах Пуркинье, не обнаружена (рис. 5, а2).

Анализ затылочной доли головного мозга не показал значимого увеличения экспрессии *ARSA* как в субарахноидальном пространстве, так и в коре у всех опытных свиней. На поперечных срезах коры головного мозга у свиней контрольной и обеих опытных групп обнаружены *ARSA*⁺-клетки, специфическое свечение в которых локализовано на периферии цитоплазмы тела клетки и частично в отростках.

Анализ поперечных срезов шейного, грудного и поясничного отделов спинного мозга показал достоверные различия в экспрессии *ARSA* в сером веществе животных первой и второй групп. Количество сверхэкспрессирующих *ARSA* нейронов в сером веществе шейного отдела спинного мозга животных во второй группе (AABrh.10-ARSA) было больше, чем в первой группе (AAB9-ARSA), в которой только у одной особи был найден единичный сверхэкспрессирующий *ARSA* нейрон (рис. 5, б–б4). Однако количество сверхэкспрессирующих *ARSA* нейронов в сером веществе грудного и поясничного отделов спинного мозга в первой группе (AAB9-ARSA) было больше, чем во второй группе (AABrh.10-ARSA) (рис. 5, в–в3). В вентральных рогах указанных отделов интактного спинного мозга свиней сверхэкспрессирующие *ARSA* нейроны не обнаружены.

Исследование ганглий заднего корешка на уровне шейного, грудного и поясничного отделов спинного мозга выявило сверхэкспрессирующие *ARSA* нейроны у животных обеих опытных групп, за исключением ганглий задних корешков поясничного отдела особей первой группы (AAB9-ARSA) (рис. 5, д–д5). Количество сверхэкспрессирующих *ARSA* нейронов ганглий задних корешков шейного отдела животных во второй группе (AABrh.10-ARSA) было больше ($p < 0.05$), чем в первой группе (AAB9-ARSA). Наибольшее количество сверхэкспрессирующих *ARSA* нейронов обнаружено в спинномозговых ганглиях на уровне грудного отдела спинного мозга, но различия между опытными группами недостоверны. Анализ корешков спинномозговых нервов и скрытого нерва не выявил различий в экспрессии *ARSA* у животных опытных и интактной групп.

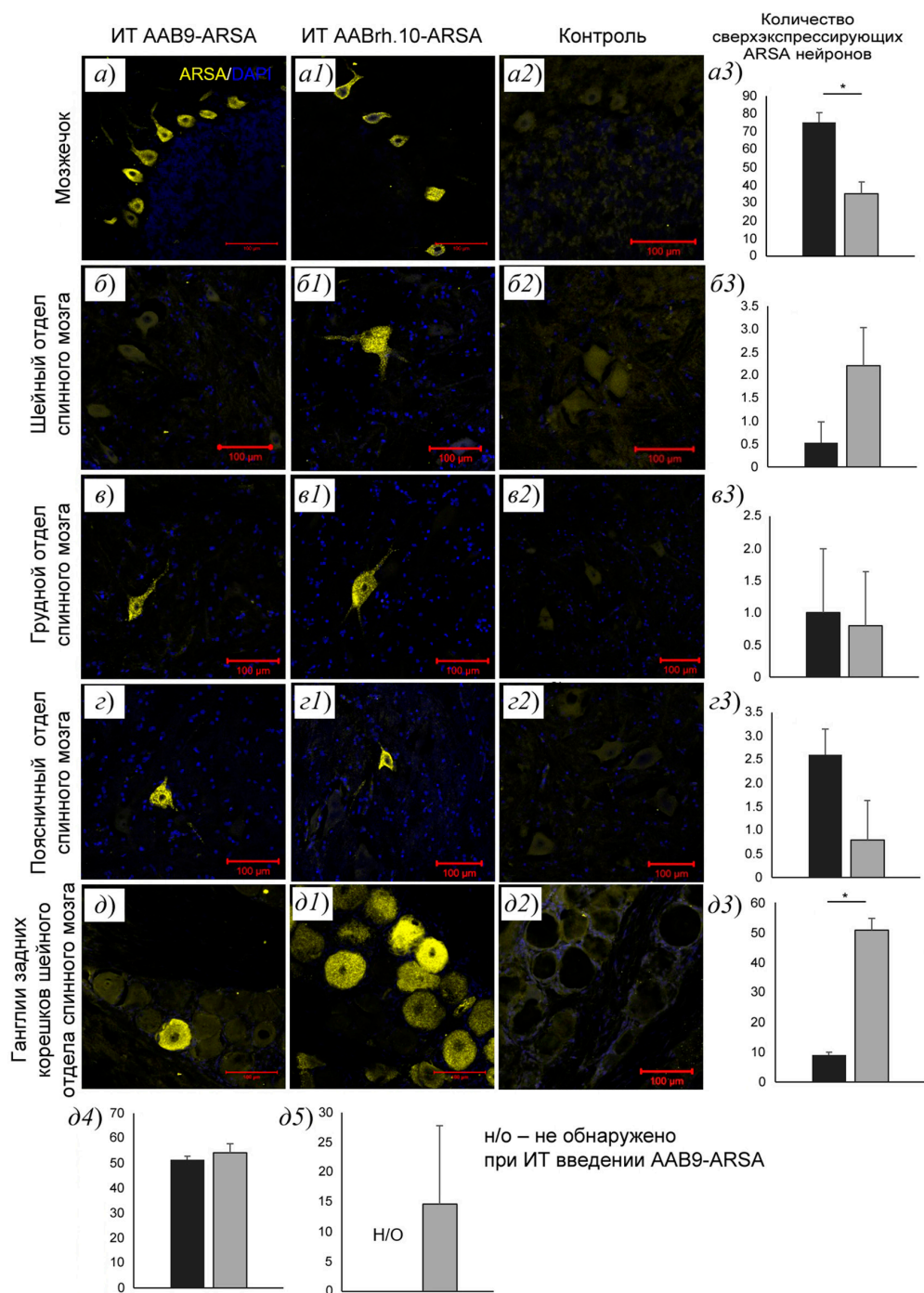


Рис. 5. Оценка экспрессии *ARSA* (желтое) в различных отделах нервной системы свиней после иммунизации AAB9-ARSA и последующего интратекального введения AAB9-ARSA (a–d) или AABrh.10-ARSA (a1–d1), а также в интактной группе животных (контроль a2–d2) методом конфокальной микроскопии (ядра окрашены DAPI (синее)). Шкала: 100 мкм. Количество сверхэкспрессирующих *ARSA* нейронов в области коры мозжечка (a3), шейного (b3), грудного (b3) и поясничного (c3) отделов спинного мозга, ганглий задних корешков шейного (d3), грудного (d4) и поясничного (d5) отделов спинного мозга. * – $p < 0.05$

Обсуждение

В настоящее время перспективными подходами для лечения МЛД являются генная и генно-клеточная терапии. При генно-клеточной терапии используют генетически модифицированные клетки, трансдуцированные с помощью ретро- и лентивирусов [24, 25]. В 2021 г. в Европейском союзе был одобрен генно-клеточный препарат под названием Libmeldy для трансплантации пациентам с предсимптоматической или очень ранней симптоматической стадиями МЛД, который содержит CD34⁺ гемопоэтические стволовые клетки, трансдуцированные лентивирусным вектором, кодирующим *ARSA*. Это приводит к ремиелинизации и нормализации двигательной активности пациентов. Тем не менее у пациентов, имевших симптомы заболевания на момент трансплантации, двигательная активность не улучшилась (NCT01560182, NCT03392987). Кроме того, применение лентивирусов потенциально может приводить к злокачественной трансформации генетически модифицированных клеток за счет вставочного мутагенеза, что также является лимитирующим фактором генно-клеточной терапии.

Векторы на основе AAB стали популярными системами доставки для терапевтического переноса генов и успешно используются в клинических исследованиях. За последние годы одобрены несколько препаратов, таких как Luxturna, Zolgensma, Hemgenix, и достигнуты долгосрочные терапевтические эффекты при других нейродегенеративных заболеваниях [5, 26]. Различные серотипы AAB отличаются эффективностью трансдукции нейронов. Тропизм и скорость трансдукции различных серотипов AAB зависят от тестируемых видов животных, областей мозга, путей введения и дозы вводимого препарата [27–29]. Эффективность AAB9 продемонстрирована на многочисленных доклинических моделях нарушений центральной нервной системы и в некоторых клинических исследованиях [14, 30]. На мышах с моделью МЛД показана эффективность внутривенного [13] и интратекального введения AAB9-ARSA [31]. Также на мышах с моделью МЛД показано, что внутривенное введение AABrh.10-ARSA приводит к широкой трансдукции клеток головного и спинного мозга [32]. Такая же эффективность достигнута при интрацеребральном введении AABrh.10 нечеловекообразным приматам [16].

Несмотря на быстрые темпы роста применения векторов AAB, их использование в определенных лечебных целях ограничено из-за недостатков, таких как ранее сформировавшийся гуморальный иммунитет к капсидам AAB, низкая эффективность трансдукции в определенных тканях, низкая органная специфичность и дозозависимая токсичность вектора у пациентов. Иммунный ответ пациента является основным препятствием для способности AAB вызывать эффективную и долгосрочную терапевтическую экспрессию генов. Иммунный ответ против капсида и/или трансгена AAB может вызывать сильный гуморальный иммунный ответ и выработать нейтрализующие антитела, препятствующие успешному повторному введению вектора [33]. Кроме того, капсид может запускать ответ цитотоксических Т-лимфоцитов, который приводит к потере экспрессии трансгена [34, 35]. Выполнен сравнительный анализ эффективности и безопасности AAB9-ARSA и AABrh.10-ARSA с использованием интратекального введения после предварительной иммунизации свиней с помощью AAB9.

В предыдущих исследованиях [14] показана эффективность трансфекции первичных человеческих эмбриональных клеток почки (HEK293) pAAB-ARSA на основе данных ферментативной активности ARSA и вестрен-блот-анализа. Установлено, что трансфекция приводит к 15-кратному увеличению ферментативной активности ARSA в полученных клетках по сравнению с нативными клетками. Также отмечено наличие белка, молекулярная масса которого составила примерно 33 кДа [14].

В настоящей работе оценена способность AAB9-ARSA и AABrh.10-ARSA синтезировать функционально активный фермент ARSA при интратекальном введении после иммунизации животных с помощью внутривенного введения AAB9-ARSA. Наблюдение в динамике за ферментативной активностью ARSA показало ее увеличение в плазме крови только при введении AABrh.10-ARSA. Отсутствие ферментативной активности в плазме крови после повторного введения AAB9-ARSA можно объяснить тем, что иммунная система, возможно, распознала вирус после введения первой дозы и вызвала иммунный ответ, что препятствует трансдукции после повторного введения. Введенный AAB может быть абсорбирован или поглощен клетками вблизи места инъекции, что приведет к минимальному количеству AAB в СМЖ. Это объясняет отсутствие ферментативной активности ARSA в СМЖ. Ферментативная активность ARSA в гомогенатах органов статистически значимо увеличивается в обеих группах животных, но в большей степени при введении AABrh.10-ARSA. Анализ транскрипции *ARSA* с помощью ПЦР-РВ также показал, что большая экспрессия наблюдается во второй группе животных при введении AABrh.10-ARSA. Кроме того, при введении AAB9-ARSA сверхэкспрессия наблюдается в мозжечке и поясничном отделе спинного мозга. Данные иммунофлуоресцентного анализа показывают, что AABrh.10-ARSA способен лучше трансдуцировать нейроны спинного мозга на уровне шейного и грудного утолщения. В свою очередь, повторное введение AAB9-ARSA приводит к наиболее эффективной трансдукции нейронов мозжечка (клетки Пуркинье) и серого вещества спинного мозга на уровне поясничного утолщения, что подтверждается и ПЦР-РВ. Установлено, что повторное введение AAB приводит к трансдукции клеток нервной системы. Эффективность генной терапии после повторного введения AAB людям описана в клиническом испытании (NCT00482027), в котором AAB использовали для получения иммунного ответа на вакцину против ВИЧ [36]. Также есть клинические исследования (NCT01208389) с введением AAB2 пациентам с дистрофией сетчатки, показавшие, что повторное введение приводит к улучшению функции сетчатки и зрения, а также функционального зрения [37]. Продemonстрировано преимущество в трансдукции областей мозга при низких дозах внутривенно вводимого вектора AABrh.10 новорожденным мышам по сравнению с AAB9, однако различия в эффектах AAB9 и AABrh.10 становятся менее очевидными при увеличении дозы вектора, что объясняется отличиями в механизмах трансдукции для рассматриваемых серотипов AAB [29].

Различные типы введения и серотипы AAB могут по-разному влиять на типы клеток нервной системы. Показана большая экспрессия при интратекальном введении AABrh.10 по сравнению с AAB9 после предварительной иммунизации животных с помощью AAB9.

Заключение Комитета по этике. Протокол исследования одобрен Комитетом по этике Казанского федерального университета (протокол № 23 от 30.06.2020.).

Благодарности. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект № FZSM-2023-0011), а также программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Platt F.M., d'Azzo A., Davidson B.L., Neufeld E.F., Tiffi C.J. Lysosomal storage diseases // Nat. Rev. Dis. Primers. 2018. V. 4, No 1. Art. 27. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0025-4>.
2. Шаймарданова А.А., Чулпанова Д.С., Соловьева В.В., Муллагулова А.И., Китаева К.В., Ризванов А.А. Новые терапевтические стратегии для лечения метакроматической лейкодистрофии // Гены и клетки. 2020. Т. 15, № 2. С. 41–50. <https://doi.org/10.23868/202004023>.
3. Marcus J., Honigbaum S., Shroff S., Honke K., Rosenbluth J., Dupree J.L. Sulfatide is essential for the maintenance of CNS myelin and axon structure // Glia. 2006. V. 53, No 4. P. 372–381. <https://doi.org/10.1002/glia.20292>.
4. Lamichhane A., Rocha Cabrero F. Metachromatic Leukodystrophy. Treasure Island, FL: StatPearls Publ., 2023.
5. Shaimardanova A.A., Chulpanova D.S., Solovyeva V.V., Mullagulova A.I., Kitaeva K.V., Allegrucci C., Rizvanov A.A. Metachromatic leukodystrophy: Diagnosis, modeling, and treatment approaches // Front. Med. 2020. V. 7. Art. 576221. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.576221>.
6. Van Rappard D.F., Boelens J.J., Wolf N.I. Metachromatic leukodystrophy: Disease spectrum and approaches for treatment // Best Pract. Res., Clin. Endocrinol. Metab. 2015. V. 29, No 2. P. 261–273. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2014.10.001>.
7. Beerepoot S., Nierkens S., Boelens J.J., Lindemans C., Bugiani M., Wolf N.I. Peripheral neuropathy in metachromatic leukodystrophy: Current status and future perspective // Orphanet J. Rare Dis. 2019. V. 14, No 1. Art. 240. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1220-4>.
8. Smith N.J., Marcus R.E., Sahakian B.J., Kapur N., Cox T.M. Haematopoietic stem cell transplantation does not retard disease progression in the psycho-cognitive variant of late-onset metachromatic leukodystrophy // J. Inherited Metab. Dis. 2010. V. 33, No S3. P. 471–475. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9240-1>.
9. Matthes F., Stroobants S., Gerlach D., Wohlenberg C., Wessig C., Fogh J., Gieselmann V., Eckhardt M., D'Hooge R., Matzner U. Efficacy of enzyme replacement therapy in an aggravated mouse model of metachromatic leukodystrophy declines with age // Hum. Mol. Genet. 2012. V. 21, No 11. P. 2599–2609. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds086>.
10. Fumagalli F., Calbi V., Natali Sora M. G., Sessa M., Baldoli C., Rancoita P.M.V., Ciotti F., Sarzana M., Frascini M., Zambon A.A., Acquati S., Redaelli D., Attanasio V., Miglietta S., De Mattia F., Barzaghi F., Ferrua F., Migliavacca M., Tucci F., Gallo V., Del Carro U., Canale S., Spiga I., Liorioli L., Recupero S., Fratini E.S., Morena F., Silvani P., Calvi M.R., Facchini M., Locatelli S., Corti A., Zancan S., Antonioli G., Farinelli G., Gabaldo M., Garcia-Segovia J., Schwab L.C., Downey G.F., Filippi M., Cicalese M.P., Martino S., Di Serio C., Ciceri F., Bernardo M.E., Naldini L., Biffi A., Aiuti A. Lentiviral haematopoietic

- stem-cell gene therapy for early-onset metachromatic leukodystrophy: Long-term results from a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial and expanded access // *Lancet*. 2022. V. 399, No 10322. P. 372–383. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02017-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02017-1).
11. *Hocquemiller M., Giersch L., Audrain M., Parker S., Cartier N.* Adeno-associated virus-based gene therapy for CNS diseases // *Hum. Gene Ther.* 2016. V. 27, No 7. P. 478–496. <https://doi.org/10.1089/hum.2016.087>.
 12. *Cearley C.N., Wolfe J.H.* Transduction characteristics of adeno-associated virus vectors expressing cap serotypes 7, 8, 9, and Rh10 in the mouse brain // *Mol. Ther.* 2006. V. 13, No 3. P. 528–537. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2005.11.015>.
 13. *Miyake N., Miyake K., Asakawa N., Yamamoto M., Shimada T.* Long-term correction of biochemical and neurological abnormalities in MLD mice model by neonatal systemic injection of an AAV serotype 9 vector // *Gene Ther.* 2014. V. 21, No 4. P. 427–433. <https://doi.org/10.1038/gt.2014.17>.
 14. *Mullagulova A., Shaimardanova A., Solovyeva V., Mukhamedshina Y., Chulpanova D., Kostennikov A., Issa S., Rizvanov A.* Safety and efficacy of intravenous and intrathecal delivery of AAV9-mediated ARSA in minipigs // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24, No 11. Art. 9204. <https://doi.org/10.3390/ijms24119204>.
 15. *Piguet F., Sondhi D., Piraud M., Fouquet F., Hackett N.R., Ahouansou O., Vanier M.-T., Bieche I., Aubourg P., Crystal R.G., Cartier N., Sevin C.* Correction of brain oligodendrocytes by AAVrh.10 intracerebral gene therapy in metachromatic leukodystrophy mice // *Hum. Gene Ther.* 2012. V. 23, No 8. P. 903–914. <https://doi.org/10.1089/hum.2012.015>.
 16. *Rosenberg J.B., Chen A., De B.P., Dyke J.P., Ballon D.J., Monette S., Ricart Arbona R.J., Kaminsky S.M., Crystal R.G., Sondhi D.* Safety of direct intraparenchymal AAVrh.10-mediated central nervous system gene therapy for metachromatic leukodystrophy // *Hum. Gene Ther.* 2021. V. 32, Nos 11–12. P. 563–580. <https://doi.org/10.1089/hum.2020.269>.
 17. *Newman S., Rupar T.* Viral vector therapy as a therapeutic option for peripheral nerve disease associated with metachromatic leukodystrophy // *Eur. J. Hum. Genet.* 2019. V. 27, No S2. P. 1134.
 18. *Whitehead M., Osborne A., Yu-Wai-Man P., Martin K.* Humoral immune responses to AAV gene therapy in the ocular compartment // *Biol. Rev.* 2021. V. 96, No 4. P. 1616–1644. <https://doi.org/10.1111/brv.12718>.
 19. *Nidetz N.F., McGee M.C., Tse L.V., Li C., Cong L., Li Y., Huang W.* Adeno-associated viral vector-mediated immune responses: Understanding barriers to gene delivery // *Pharmacol. Ther.* 2020. V. 207. Art. 107453. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107453>.
 20. *Rivière C., Danos O., Douar A.M.* Long-term expression and repeated administration of AAV type 1, 2 and 5 vectors in skeletal muscle of immunocompetent adult mice // *Gene Ther.* 2006. V. 13, No 17. P. 1300–1308. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3302766>.
 21. *Sinn P.L., Burnight E.R., McCray P.B., Jr.* Progress and prospects: Prospects of repeated pulmonary administration of viral vectors // *Gene Ther.* 2009. V. 16, No 9. P. 1059–1065. <https://doi.org/10.1038/gt.2009.87>.
 22. *Louis Jeune V., Joergensen J.A., Hajjar R.J., Weber T.* Pre-existing anti-adeno-associated virus antibodies as a challenge in AAV gene therapy // *Hum. Gene Ther. Methods.* 2013. V. 24, No 2. P. 59–67. <https://doi.org/10.1089/hgtb.2012.24>.
 23. *Kruzik A., Fetahagic D., Hartlieb B., Dorn S., Koppensteiner H., Horling F.M., Scheifflinger F., Reipert B.M., de la Rosa M.* Prevalence of anti-adeno-associated virus immune responses in international cohorts of healthy donors // *Mol. Ther. – Methods Clin. Dev.* 2019. V. 14. P. 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2019.05.014>.

24. Matzner U., Hartmann D., Lüllmann-Rauch R., Coenen R., Rothert F., Månsson J.-E., Fredman P., D'Hooge R., De Deyn P.P., Gieselmann V. Bone marrow stem cell-based gene transfer in a mouse model for metachromatic leukodystrophy: Effects on visceral and nervous system disease manifestations // *Gene Ther.* 2002. V. 9, No 1. P. 53–63. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301593>.
25. Biffi A., Capotondo A., Fasano S., del Carro U., Marchesini S., Azuma H., Malaguti M.C., Amadio S., Brambilla R., Grompe M., Bordignon C., Quattrini A., Naldini L. Gene therapy of metachromatic leukodystrophy reverses neurological damage and deficits in mice // *J. Clin. Invest.* 2006. V. 116, No 11. P. 3070–3082. <https://doi.org/10.1172/JCI28873>.
26. Pupo A., Fernández A., Low S.H., François A., Suárez-Amarán L., Samulski R.J. AAV vectors: The Rubik's cube of human gene therapy // *Mol. Ther.* 2022. V. 30, No 12. P. 3515–3541. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.09.015>.
27. Pillay S., Carette J.E. Host determinants of adeno-associated viral vector entry // *Curr. Opin. Virol.* 2017. V. 24. P. 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.06.003>.
28. Zhang H., Yang B., Mu X., Ahmed S.S., Su Q., He R., Wang H., Mueller C., Sena-Esteves M., Brown R., Xu Z., Gao G. Several rAAV vectors efficiently cross the blood-brain barrier and transduce neurons and astrocytes in the neonatal mouse central nervous system // *Mol. Ther.* 2011. V. 19, No 8. P. 1440–1448. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.98>.
29. Tanguy Y., Biferi M.G., Besse A., Astord S., Cohen-Tannoudji M., Marais T., Barkats M. Systemic AAVrh10 provides higher transgene expression than AAV9 in the brain and the spinal cord of neonatal mice // *Front. Mol. Neurosci.* 2015. V. 8. Art. 36. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2015.00036>.
30. Saraiva J., Nobre R.J., de Almeida L.P. Gene therapy for the CNS using AAVs: The impact of systemic delivery by AAV9 // *J. Controlled Release.* 2016. V. 241. P. 94–109. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.09.011>.
31. Miyake N., Miyake K., Sakai A., Yamamoto M., Suzuki H., Shimada T. Treatment of adult metachromatic leukodystrophy model mice using intrathecal administration of type 9 AAV vector encoding arylsulfatase A // *Sci. Rep.* 2021. V. 11, No 1. Art. 20513. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99979-2>.
32. Audouard E., Oger V., Meha B., Cartier N., Sevin C., Piguet F. Complete correction of brain and spinal cord pathology in metachromatic leukodystrophy mice // *Front. Mol. Neurosci.* 2021. V. 14. Art. 677895. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.677895>.
33. Petry H., Brooks A., Orme A., Wang P., Liu P., Xie J., Kretschmer P., Qian H.S., Hermiston T.W., Harkins R.N. Effect of viral dose on neutralizing antibody response and transgene expression after AAV1 vector re-administration in mice // *Gene Ther.* 2008. V. 15, No 1. P. 54–60. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3303037>.
34. Manno C.S., Pierce G.F., Arruda V.R., Glader B., Ragni M., Rasko J.J.E., Ozelo M.C., Hoots K., Blatt P., Konkle B., Dake M., Kaye R., Razavi M., Zajko A., Zehnder J., Rustagi P., Nakai H., Chew A., Leonard D., Wright J.F., Lessard R.R., Sommer J.M., Tigges M., Sabatino D., Luk A., Jiang H., Mingozzi F., Couto L., Ertl H.C., High K.A., Kay M.A. Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response // *Nat. Med.* 2006. V. 12, No 3. P. 342–347. <https://doi.org/10.1038/nm1358>.
35. Li C., Samulski R.J. Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy // *Nat. Rev. Genet.* 2020. V. 21, No 4. P. 255–272. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0205-4>.
36. Vardas E., Kaleebu P., Bekker L.-G., Hoosen A., Chomba E., Johnson P.R., Anklesaria P., Birungi J., Barin B., Boaz M., Cox J., Lehrman J., Stevens G., Gilmour J., Tarragona T., Hayes P., Lowenbein S., Kizito E., Fast P., Heald A.E., Schmidt C. A phase 2 study to evaluate the safety and immunogenicity of a recombinant HIV type 1 vaccine based on

adeno-associated virus // AIDS. Res. Hum. Retroviruses. 2010. V. 26, No 8. P. 933–942. <https://doi.org/10.1089/aid.2009.024>.

37. Bennett J., Wellman J., Marshall K.A., McCague S., Ashtari M., DiStefano-Pappas J., Elci O.U., Chung D.C., Sun J., Wright J.F., Cross D.R., Aravand P., Cyckowski L.L., Bennicelli J.L., Mingozzi F., Auricchio A., Pierce E.A., Ruggiero J., Leroy B.P., Simonelli F., High K.A., Maguire A.M. Safety and durability of effect of contralateral-eye administration of AAV2 gene therapy in patients with childhood-onset blindness caused by *RPE65* mutations: A follow-on phase 1 trial // Lancet. 2016. V. 388, No 10045. P. 661–672. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30371-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30371-3).

Поступила в редакцию 29.01.2024

Принята к публикации 23.05.2024

Муллагулова Айсылу Илдаровна, аспирант кафедры генетики Института фундаментальной медицины и биологии, младший научный сотрудник НИЛ OpenLab Генные и клеточные технологии Научно-клинического центра прецизионной и регенеративной медицины Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: aisilu.mullagulova@yandex.ru

Шаймарданова Алиса Алмазовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник НИЛ OpenLab Генные и клеточные технологии Научно-клинического центра прецизионной и регенеративной медицины Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: aliceshaimardanova@mail.ru

Мухамедшина Яна Олеговна, доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник НИЛ OpenLab Генные и клеточные технологии Научно-клинического центра прецизионной и регенеративной медицины Института фундаментальной медицины и биологии; главный научный сотрудник

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
Республиканская клиническая больница
Оренбургский тракт, д. 138., г. Казань, 420064, Россия
E-mail: yana.k-z-n@mail.ru

Соловьева Валерия Владимировна, кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник НИЛ OpenLab Генные и клеточные технологии Научно-клинического центра прецизионной и регенеративной медицины Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: solovyovavv@gmail.com

Ибрахим Ахмад, магистрант кафедры генетики Института фундаментальной медицины и биологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: ahmadibrahim4949@gmail.com

Ризванов Альберт Анатольевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник НИЛ OpenLab Генные и клеточные технологии Научно-клинического центра прецизионной и регенеративной медицины, профессор кафедры генетики Института фундаментальной медицины и биологии; академик-секретарь отделения медицинских и биологических наук

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
Академия наук Республики Татарстан
ул. Баумана, д. 20, г. Казань, 420111, Россия
E-mail: rizvanov@gmail.com

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.683-703

**Biodistribution Analysis of Adeno-Associated Viral Vectors of Serotypes 9 and rh.10
Encoding Arylsulfatase A Following Prior Immunization with Serotype 9 in Pigs***A.I. Mullagulova^{a*}, A.A. Shaimardanova^{a**}, Ya.O. Mukhamedshina^{a,b***},**V.V. Solovyeva^{a****}, A. Ibrahim^{a*****}, A.A. Rizvanov^{a,c*****}**^aKazan Federal University, Kazan, 420008 Russia**^bRepublican Clinical Hospital of Tatarstan, Kazan, 420064 Russia**^cTatarstan Academy of Sciences, Kazan, 420111 Russia*E-mail: **aisilu.mullagulova@yandex.ru, **aliceshaimardanova@mail.ru, ***yana.k-z-n@mail.ru,*
*****solovyovavv@gmail.com, *****ahmadibrahim4949@gmail.com, *****rizvanov@gmail.com*

Received January 29, 2024; Accepted May 23, 2024

Abstract

Lysosomal storage diseases are a group of inherited disorders caused by lysosomal dysfunction, impairing cellular metabolic enzymes, signaling pathways, and other biological processes. Among them is metachromatic leukodystrophy (MLD) associated with arylsulfatase A (ARSA) deficiency, which leads to the accumulation of sulfatides and the destruction of myelin sheaths in the nervous system. This study evaluates the therapeutic efficacy of adeno-associated viruses (AAVs) in treating neurodegenerative diseases such as MLD. The biodistribution and safety of AAV9-ARSA and AAVrh.10-ARSA vectors following prior immunization in pigs were shown. The immune aspects of AAV-based gene therapy were outlined. Its potential efficacy and durability limitations were discussed.

Keywords: metachromatic leukodystrophy, arylsulfatase, gene therapy, neurodegenerative disease

Institutional Review Board Statement. The research protocol was approved by the Local Ethics Committee of Kazan Federal University (protocol no. 23 dated June 30, 2020).

Acknowledgments. This study was funded by the subsidy allocated to Kazan Federal University for the state assignment in the sphere of scientific activities (project no. FZSM-2023-0011) and supported by the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. ARSA enzymatic activity in CSF (*a*) and blood plasma (*b*) following prior immunization with AAV9-ARSA and subsequent intrathecal injection of AAV9-ARSA (IT AAV9-ARSA) or AAVrh.10-ARSA (IT AAVrh.10-ARSA). ** – $p < 0.01$.

Fig. 2. ARSA enzymatic activity in the homogenates of various regions of the pig nervous system following prior immunization with AAV9-ARSA and subsequent intrathecal injection of AAV9-ARSA (IT AAV9-ARSA) or AAVrh.10-ARSA (IT AAVrh.10-ARSA): *a* – occipital cortex; *b* – cerebellum; *c* – cervical spinal cord; *d* – thoracic spinal cord; *e* – lumbar spinal cord. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$, **** – $p < 0.0001$. Control – the control group of animals.

Fig. 3. Number of ARSA mRNA copies in various regions of the pig nervous system following prior immunization with AAV9-ARSA and subsequent intrathecal injection of AAV9-ARSA (AAB9-ARSA) and AAVrh.10-ARSA (AABrh.10-ARSA) based on the qPCR data.

Fig. 4. Blood serum biochemical parameters in pigs following prior immunization with AAV9-ARSA and subsequent intrathecal injection of AAV9-ARSA (IT AAV9-ARSA) or AAVrh.10-ARSA (IT AAVrh.10-ARSA): *a* – creatinine; *b* – AST; *c* – ALT; *d* – total bilirubin. Data obtained by the enzyme immunoassay.

Fig. 5. Assessment of *ARSA* expression (yellow) in various regions of the pig nervous system following prior AAV9-ARSA immunization and subsequent intrathecal injection of AAV9-ARSA (*a–e*) or AAVrh.10-ARSA (*a1–e1*), compared to the control group (control, *a2–e2*). Confocal microscopy (cell nuclei stained with DAPI (blue)). Scale bar: 100 μ m. Number of *ARSA* overexpressing neurons in: cerebellar cortex (*a3*); cervical (*b3*), thoracic (*c3*), and lumbar (*d3*) spinal cord regions; posterior root ganglia of cervical (*d3*), thoracic (*d4*), and lumbar (*d5*) spinal cord regions. * – $p < 0.05$.

References

1. Platt F.M., d'Azzo A., Davidson B.L., Neufeld E.F., Tift C.J. Lysosomal storage diseases. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 2018, vol. 4, no. 1, art. 27. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0025-4>.
2. Shaimardanova A.A., Chulpanova D.S., Solovyeva V.V., Mullagulova A.I., Kitaeva K.V., Rizvanov A.A. New therapeutic strategies for the treatment of metachromatic leukodystrophy. *Genes & Cells*, 2020, vol. 15, no. 2, pp. 41–50. <https://doi.org/10.23868/202004023>. (In Russian)
3. Marcus J., Honigbaum S., Shroff S., Honke K., Rosenbluth J., Dupree J.L. Sulfatide is essential for the maintenance of CNS myelin and axon structure. *Glia*, 2006, vol. 53, no. 4, pp. 372–381. <https://doi.org/10.1002/glia.20292>.
4. Lamichhane A., Rocha Cabrero F. *Metachromatic Leukodystrophy*. Treasure Island, FL, StatPearls Publ., 2023.
5. Shaimardanova A.A., Chulpanova D.S., Solovyeva V.V., Mullagulova A.I., Kitaeva K.V., Allegrucci C., Rizvanov A.A. Metachromatic leukodystrophy: Diagnosis, modeling, and treatment approaches. *Front. Med.*, 2020, vol. 7, art. 576221. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.576221>.
6. Van Rappard D.F., Boelens J.J., Wolf N.I. Metachromatic leukodystrophy: Disease spectrum and approaches for treatment. *Best Pract. Res., Clin. Endocrinol. Metab.*, 2015, vol. 29, no. 2, pp. 261–273. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2014.10.001>.
7. Beerepoot S., Nierkens S., Boelens J.J., Lindemans C., Bugiani M., Wolf N.I. Peripheral neuropathy in metachromatic leukodystrophy: Current status and future perspective. *Orphanet J. Rare Dis.*, 2019, vol. 14, no. 1, art. 240. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1220-4>.
8. Smith N.J., Marcus R.E., Sahakian B.J., Kapur N., Cox T.M. Haematopoietic stem cell transplantation does not retard disease progression in the psycho-cognitive variant of late-onset metachromatic leukodystrophy. *J. Inherited Metab. Dis.*, 2010, vol. 33, no. S3, pp. 471–475. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9240-1>.
9. Matthes F., Stroobants S., Gerlach D., Wohlenberg C., Wessig C., Fogh J., Gieselmann V., Eckhardt M., D'Hooge R., Matzner U. Efficacy of enzyme replacement therapy in an aggravated mouse model of metachromatic leukodystrophy declines with age. *Hum. Mol. Genet.*, 2012, vol. 21, no. 11, pp. 2599–2609. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds086>.
10. Fumagalli F., Calbi V., Natali Sora M. G., Sessa M., Baldoli C., Rancoita P.M.V., Ciotti F., Sarzana M., Frascini M., Zambon A.A., Acquati S., Redaelli D., Attanasio V., Miglietta S., De Mattia F., Barzaghi F., Ferrua F., Migliavacca M., Tucci F., Gallo V., Del Carro U., Canale S., Spiga I., Liorioli L., Recupero S., Fratini E.S., Morena F., Silvani P., Calvi M.R., Facchini M., Locatelli S., Corti A., Zancan S., Antonioli G., Farinelli G., Gabaldo M., Garcia-Segovia J., Schwab L.C., Downey G.F., Filippi M., Cicalese M.P., Martino S., Di Serio C., Ciceri F., Bernardo M.E., Naldini L., Biffi A., Aiuti A. Lentiviral haematopoietic stem-cell gene therapy for early-onset metachromatic leukodystrophy: Long-term results from a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial and expanded access. *Lancet*, 2022, vol. 399, no. 10322, pp. 372–383. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02017-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02017-1).
11. Hocquemiller M., Giersch L., Audrain M., Parker S., Cartier N. Adeno-associated virus-based gene therapy for CNS diseases. *Hum. Gene Ther.*, 2016, vol. 27, no. 7, pp. 478–496. <https://doi.org/10.1089/hum.2016.087>.
12. Cearley C.N., Wolfe J.H. Transduction characteristics of adeno-associated virus vectors expressing cap serotypes 7, 8, 9, and Rh10 in the mouse brain. *Mol. Ther.*, 2006, vol. 13, no. 3, pp. 528–537. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2005.11.015>.

13. Miyake N., Miyake K., Asakawa N., Yamamoto M., Shimada T. Long-term correction of biochemical and neurological abnormalities in MLD mice model by neonatal systemic injection of an AAV serotype 9 vector. *Gene Ther.*, 2014, vol. 21, no. 4, pp. 427–433. <https://doi.org/10.1038/gt.2014.17>.
14. Mullagulova A., Shaimardanova A., Solovyeva V., Mukhamedshina Y., Chulpanova D., Kostennikov A., Issa S., Rizvanov A. Safety and efficacy of intravenous and intrathecal delivery of AAV9-mediated ARSA in minipigs. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, vol. 24, no. 11, art. 9204. <https://doi.org/10.3390/ijms24119204>.
15. Piguet F., Sondhi D., Piraud M., Fouquet F., Hackett N.R., Ahouansou O., Vanier M.-T., Bieche I., Aubourg P., Crystal R.G., Cartier N., Sevin C. Correction of brain oligodendrocytes by AAVrh.10 intracerebral gene therapy in metachromatic leukodystrophy mice. *Hum. Gene Ther.*, 2012, vol. 23, no. 8, pp. 903–914. <https://doi.org/10.1089/hum.2012.015>.
16. Rosenberg J.B., Chen A., De B.P., Dyke J.P., Ballon D.J., Monette S., Ricart Arbona R.J., Kaminsky S.M., Crystal R.G., Sondhi D. Safety of direct intraparenchymal AAVrh.10-mediated central nervous system gene therapy for metachromatic leukodystrophy. *Hum. Gene Ther.*, 2021, vol. 32, nos. 11–12, pp. 563–580. <https://doi.org/10.1089/hum.2020.269>.
17. Newman S., Rupar T. Viral vector therapy as a therapeutic option for peripheral nerve disease associated with metachromatic leukodystrophy. *Eur. J. Hum. Genet.*, 2019, vol. 27, no. S2, p. 1134.
18. Whitehead M., Osborne A., Yu-Wai-Man P., Martin K. Humoral immune responses to AAV gene therapy in the ocular compartment. *Biol. Rev.*, 2021, vol. 96, no. 4, pp. 1616–1644. <https://doi.org/10.1111/brv.12718>.
19. Nidetz N.F., McGee M.C., Tse L.V., Li C., Cong L., Li Y., Huang W. Adeno-associated viral vector-mediated immune responses: Understanding barriers to gene delivery. *Pharmacol. Ther.*, 2020, vol. 207, art. 107453. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107453>.
20. Rivière C., Danos O., Douar A.M. Long-term expression and repeated administration of AAV type 1, 2 and 5 vectors in skeletal muscle of immunocompetent adult mice. *Gene Ther.*, 2006, vol. 13, no. 17, pp. 1300–1308. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3302766>.
21. Sinn P.L., Burnight E.R., McCray P.B., Jr. Progress and prospects: Prospects of repeated pulmonary administration of viral vectors. *Gene Ther.*, 2009, vol. 16, no. 9, pp. 1059–1065. <https://doi.org/10.1038/gt.2009.87>.
22. Louis Jeune V., Joergensen J.A., Hajjar R.J., Weber T. Pre-existing anti-adeno-associated virus antibodies as a challenge in AAV gene therapy. *Hum. Gene Ther. Methods*, 2013, vol. 24, no. 2, pp. 59–67. <https://doi.org/10.1089/hgtb.2012.24>.
23. Kruzik A., Fetahagic D., Hartlieb B., Dorn S., Koppensteiner H., Horling F.M., Scheiflinger F., Reipert B.M., de la Rosa M. Prevalence of anti-adeno-associated virus immune responses in international cohorts of healthy donors. *Mol. Ther. – Methods Clin. Dev.*, 2019, vol. 14, pp. 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2019.05.014>.
24. Matzner U., Hartmann D., Lüllmann-Rauch R., Coenen R., Rothert F., Månsson J.-E., Fredman P., D’Hooge R., De Deyn P.P., Gieselmann V. Bone marrow stem cell-based gene transfer in a mouse model for metachromatic leukodystrophy: Effects on visceral and nervous system disease manifestations. *Gene Ther.*, 2002, vol. 9, no. 1, pp. 53–63. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301593>.
25. Biffi A., Capotondo A., Fasano S., del Carro U., Marchesini S., Azuma H., Malaguti M.C., Amadio S., Brambilla R., Grompe M., Bordignon C., Quattrini A., Naldini L. Gene therapy of metachromatic leukodystrophy reverses neurological damage and deficits in mice. *J. Clin. Invest.*, 2006, vol. 116, no. 11, pp. 3070–3082. <https://doi.org/10.1172/JCI28873>.
26. Pupo A., Fernández A., Low S.H., François A., Suárez-Amarán L., Samulski R.J. AAV vectors: The Rubik’s cube of human gene therapy. *Mol. Ther.*, 2022, vol. 30, no. 12, pp. 3515–3541. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.09.015>.
27. Pillay S., Carette J.E. Host determinants of adeno-associated viral vector entry. *Curr. Opin. Virol.*, 2017, vol. 24, pp. 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.06.003>.
28. Zhang H., Yang B., Mu X., Ahmed S.S., Su Q., He R., Wang H., Mueller C., Sena-Esteves M., Brown R., Xu Z., Gao G. Several rAAV vectors efficiently cross the blood-brain barrier and transduce neurons and astrocytes in the neonatal mouse central nervous system. *Mol. Ther.*, 2011, vol. 19, no. 8, pp. 1440–1448. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.98>.

29. Tanguy Y., Biferi M.G., Besse A., Astord S., Cohen-Tannoudji M., Marais T., Barkats M. Systemic AAVrh10 provides higher transgene expression than AAV9 in the brain and the spinal cord of neonatal mice. *Front. Mol. Neurosci.*, 2015, vol. 8, art. 36. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2015.00036>.
30. Saraiva J., Nobre R.J., de Almeida L.P. Gene therapy for the CNS using AAVs: The impact of systemic delivery by AAV9. *J. Controlled Release*, 2016, vol. 241, pp. 94–109. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.09.011>.
31. Miyake N., Miyake K., Sakai A., Yamamoto M., Suzuki H., Shimada T. Treatment of adult metachromatic leukodystrophy model mice using intrathecal administration of type 9 AAV vector encoding arylsulfatase A. *Sci. Rep.*, 2021, vol. 11, no. 1, art. 20513. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99979-2>.
32. Audouard E., Oger V., Meha B., Cartier N., Sevin C., Piguet F. Complete correction of brain and spinal cord pathology in metachromatic leukodystrophy mice. *Front. Mol. Neurosci.*, 2021, vol. 14, art. 677895. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.677895>.
33. Petry H., Brooks A., Orme A., Wang P., Liu P., Xie J., Kretschmer P., Qian H.S., Hermiston T.W., Harkins R.N. Effect of viral dose on neutralizing antibody response and transgene expression after AAV1 vector re-administration in mice. *Gene Ther.*, 2008, vol. 15, no. 1, pp. 54–60. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3303037>.
34. Manno C.S., Pierce G.F., Arruda V.R., Glader B., Ragni M., Rasko J.J.E., Ozelo M.C., Hoots K., Blatt P., Konkle B., Dake M., Kaye R., Razavi M., Zajko A., Zehnder J., Rustagi P., Nakai H., Chew A., Leonard D., Wright J.F., Lessard R.R., Sommer J.M., Tigges M., Sabatino D., Luk A., Jiang H., Mingozzi F., Couto L., Ertl H.C., High K.A., Kay M.A. Successful transduction of liver in hemophilia by AAV-Factor IX and limitations imposed by the host immune response. *Nat. Med.*, 2006, vol. 12, no. 3, pp. 342–347. <https://doi.org/10.1038/nm1358>.
35. Li C., Samulski R.J. Engineering adeno-associated virus vectors for gene therapy. *Nat. Rev. Genet.*, 2020, vol. 21, no. 4, pp. 255–272. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0205-4>.
36. Vardas E., Kaleebu P., Bekker L.-G., Hoosen A., Chomba E., Johnson P.R., Anklesaria P., Birungi J., Barin B., Boaz M., Cox J., Lehrman J., Stevens G., Gilmour J., Tarragona T., Hayes P., Lowenbein S., Kizito E., Fast P., Heald A.E., Schmidt C. A phase 2 study to evaluate the safety and immunogenicity of a recombinant HIV type 1 vaccine based on adeno-associated virus. *AIDS. Res. Hum. Retroviruses*, 2010, vol. 26, no. 8, pp. 933–942. <https://doi.org/10.1089/aid.2009.024>.
37. Bennett J., Wellman J., Marshall K.A., McCague S., Ashtari M., DiStefano-Pappas J., Elci O.U., Chung D.C., Sun J., Wright J.F., Cross D.R., Aravand P., Cyckowski L.L., Bennicelli J.L., Mingozzi F., Auricchio A., Pierce E.A., Ruggiero J., Leroy B.P., Simonelli F., High K.A., Maguire A.M. Safety and durability of effect of contralateral-eye administration of AAV2 gene therapy in patients with childhood-onset blindness caused by *RPE65* mutations: A follow-on phase 1 trial. *Lancet*, 2016, vol. 388, no. 10045, pp. 661–672. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30371-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30371-3).

Для цитирования: Муллагулова А.И., Шаймарданова А.А., Мухамедишина Я.О., Соловьева В.В., Ибрахим А., Ризванов А.А. Анализ биораспределения аденоассоциированных вирусов 9 и rh.10 серотипов, кодирующих ген арилсульфатазы А, после предварительной иммунизации свиней вирусом 9 серотипа // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 4. С. 683–703. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.683-703>.

For citation: Mullagulova A.I., Shaimardanova A.A., Mukhamedshina Ya.O., Solovyeva V.V., Ibrahim A., Rizvanov A.A. Biodistribution analysis of adeno-associated viral vectors of serotypes 9 and rh.10 encoding arylsulfatase A following prior immunization with serotype 9 in pigs. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 4, pp. 683–703. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.683-703>. (In Russian)

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 630*561+519.622

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.704-723

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ РАСЧЕТА ДИНАМИКИ ЗАПАСЕННОГО УГЛЕРОДА В ЛЕСНОМ СООБЩЕСТВЕ

Ш.Х. Зарипов, Д.А. Тарасова, М.В. Кожевникова, Е.А. Костерина
Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

На основе математической модели роста одиночного дерева JABOWA создана программа расчета запасенного углерода надземной биомассы в лесном сообществе из различных видов деревьев. В модель включены параметры видов, которые наиболее часто встречаются в лесах средней полосы России: Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.), Береза повислая (*Betula pendula* Roth), Тополь дрожащий (*Populus tremula* L.), Липа сердцевидная (*Tilia cordata* Mill.), Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), Ель обыкновенная (*Picea abies* (L.) Н. Karst.), Пихта (*Abies* Mill.). Решено дифференциальное уравнение для диаметра (D) дерева на высоте груди и проведено сравнение с таксационными данными. Проведена оценка запаса углерода надземной биомассы деревьев по методике Международной группы экспертов по изменению климата. Рассчитана динамика изменения объема ствола дерева и построена аналитическая формула, описывающая зависимость объема ствола дерева и запасенного углерода от возраста дерева. Показана хорошая согласованность аналитической и численной зависимостей запасенного углерода от возраста деревьев на лесном участке карбонового полигона Казанского федерального университета в пределах пробной площади с известным видовым составом и количеством деревьев каждого вида.

Ключевые слова: модель роста дерева, диаметр ствола, объем ствола дерева, углерод, аналитическая модель.

Введение

При анализе проблемы глобального изменения климата предполагается, что повышение концентраций парниковых газов, в первую очередь углекислого газа, в атмосфере приводит к процессам роста средней температуры. Лесные экосистемы в значительной степени регулируют содержание углекислого газа в составе атмосферного воздуха за счет его поглощения в процессе фотосинтеза и связывания на продолжительное время – десятилетия и столетия. Можно сказать, что леса играют важную роль в глобальном балансе углерода, являясь элементом, стабилизирующим климатическую систему Земли и обеспечивающим сток углерода в растительные экосистемы. Роль лесов отмечена различными известными международными соглашениями по сохранению глобального климата. Значительный вклад в стабилизацию климатической системы вносят леса России, площадь которых составляет около 21 % площади всех лесов земного шара [1]. Таким образом, прогнозирование глобального баланса углекислого газа в атмосфере должно включать в себя оценку вклада лесной растительности в этот процесс.

В настоящее время разработаны различные методики оценки углеродного бюджета лесов. В методике РОБУЛ Центра по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН для расчета запасов углерода в биомассе древостоя используются данные об объемных запасах древесины Государственного лесного реестра в лесничествах и субъектах РФ [2] и коэффициенты для перерасчета запаса древесины в надземную фитомассу, учитывающие плотность древесины и долю углерода в сухом веществе, которая принимается равной 0.5. Система РОБУЛ-М состоит из прогнозного блока динамики лесного фонда и блока расчета углеродных характеристик. Временной шаг для расчетов в РОБУЛ-М равен пяти годам, а прогноз строится на 50 лет [3].

Модель углеродного бюджета лесного сектора Канады CBM-CFS3 (Carbon Budget Model of the Canadian Forest Sector) разработана для учета углеродной динамики в лесных сообществах на территории этой страны [4]. Математическая модель 3D-CMCC FEM (Three Dimensional Forest Ecosystem Model of the Euro-Mediterranean Centre for Climate Change), описывающая годовую и многолетнюю динамику углерода лесных сообществ, представлена в работе [5].

В системе моделей лесных сообществ EFIMOD [6], разработанной в Институте физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, лесная экосистема определяется как совокупность слоя деревьев, слоя наземной растительности, запасов органического вещества и азота в почве. Деревья в данной пространственной модели расположены внутри участка на квадратной сетке с ячейками достаточно малого размера с одним деревом. Каждое дерево конкурирует с ближайшими деревьями за солнечный свет и доступный азот почвы. Модель описывает круговорот углерода в экосистеме, включая динамику органического вещества почвы.

Исследование [7] посвящено анализу 10-летнего эксперимента по посадке обладающего высокой скоростью роста Тополя дельтовидного (*Populus deltoides*) на деградированных сельскохозяйственных землях в долине Миссисипи, США. Проведена оценка динамики накопления углерода в тополиных сообществах с различной плотностью посадки и показано существенное расхождение значений суммарного запаса углерода в них. Авторы приходят к выводу, что плотность посадок с площадью отдельного дерева между значениями 2.1×0.8 м и 2.7×1.8 м будет способствовать максимальному накоплению надземного углерода на десятый год на выбранных участках.

Для изучения потенциала городских лесов в поглощении углерода в исследовании [8] представлена динамика запаса углерода шестью городскими монокультурными лесами Шанхая на основе инвентаризационных данных за 20 лет. Отмечается сильное различие в скорости накопления углерода для тополя (*Populus L.*) по сравнению с широколиственными видами смешанных лесов на ранних этапах развития. На поздних стадиях потенциальное накопление углерода биомассой деревьев в широколиственных смешанных лесах оказалось на 34 % выше, чем у *Populus L.* за весь цикл развития. Выявлено, что тип древостоя, возраст, плотность и форма собственности лесного участка существенно влияют на скорость накопления углерода. В работе [9] предложены аллометрические коэффициенты теоретической модели зависимости объема ствола от диаметра

для различных возрастных классов и видов деревьев (молодняки, средневозрастные, приспевающие, спелые, перестойные).

В области исследований, связанных с оценкой запасов фитомассы, динамики углерода и изучением углеродного цикла, следует отметить известные работы Д.Г. Замолотчикова, А.З. Швиденко, Д.Г. Щепаченко, В.А. Усольцева [1–3, 9–11]. Отдельно выделим работы [1] и [11], в которых приведены базы данных, содержащие сведения о структуре биомассы деревьев с различных лесных площадей. Базы данных создавались с целью обобщения и исследования географических закономерностей структуры фитомассы на уровне модельных деревьев. Популяционная организация растительного покрова лесных территорий (на примере широколиственных лесов европейской части СССР) представлена в работе [12].

Несмотря на развитие описанных выше математических моделей динамики лесных сообществ и расчетных методик оценки запаса углерода, в связи с необходимостью выбора эффективных схем секвестирования углерода сохраняется задача построения простых расчетных формул прогнозирования запаса углерода в лесах с учетом динамики роста деревьев. Цель настоящей работы заключается в создании простой прогнозной модели для расчета динамики запасенного углерода в надземной биомассе деревьев лесных сообществ. В качестве основы принята классическая модель роста одиночного дерева JABOWA [13], реализованная для видов деревьев, формирующих основной облик лесов средней полосы России: Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.), Береза повислая (*Betula pendula* Roth), Тополь дрожащий (*Populus tremula* L.), Липа сердцевидная (*Tilia cordata* Mill.), Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), Ель обыкновенная (*Picea abies* (L.) H. Karst.), Пихта (*Abies* Mill.). По результатам численной модели построена приближенная аналитическая формула для расчета запаса углерода в сообществе нескольких видов деревьев. Построены аналитические и численные кривые изменения запасенного углерода с возрастом для лесного калибровочного участка карбонового полигона Казанского федерального университета «Карбон-Поволжье».

1. Материалы и методы

1.1. Модель роста дерева JABOWA. Одна из наиболее известных моделей роста разновозрастных смешанных насаждений JABOWA (авторы – D.B. Botkin, J.F. Janak, J.R. Wallis) создана на основе данных с экспериментальных прямоугольных площадок размером 10×10 м, заложенных в процессе исследования лесной экосистемы Хаббард-Брук на севере Нью-Гэмпшира, США [13]. Согласно предположению, что деревья собирают такое количество солнечной энергии, которое примерно пропорционально площади их листовой поверхности LA , дифференциальное уравнение скорости изменения объема ствола дерева ($\sim D^2H$) (уравнение 1) записывается в виде:

$$\frac{d(D^2H)}{dt} = RLA \left(1 - \frac{DH}{D_{\max} H_{\max}} \right), \quad (1)$$

где D – диаметр дерева на высоте груди, H – высота дерева, $D_{\max}$ и $H_{\max}$ – максимальные значения диаметра и высоты дерева соответственно, R – параметр роста, определяемый скоростью фотосинтеза.

Согласно уравнению 1, скорость изменения объема ствола дерева с возрастом пропорциональна количеству солнечного света, получаемого деревом. Выражение в скобках учитывает уменьшение коэффициента прироста дерева, так что при достижении максимальных значений $D_{\max}$ и $H_{\max}$ рост остановится. Модель, описываемая уравнением 1, учитывает, что скорость прироста и максимальные значения высоты и диаметра зависят от вида дерева.

В литературе предложены различные аллометрические соотношения, связывающие геометрические характеристики деревьев. Авторы [14] сравнивают полиномиальное и экспоненциальное уравнения для аппроксимации зависимости высоты от диаметра дерева для сосновых насаждений Караульного участкового лесничества, Красноярский край (уравнения 2 и 3 соответственно):

$$H = a + bD + cD^2; \quad (2)$$

$$H = a(1 - e^{-bD}), \quad (3)$$

где a , b , c – аппроксимационные коэффициенты.

В работе [15] получена зависимость величины среднего диаметра дерева от высоты для сосны в различных типах леса Марийского Заволжья (уравнение 4):

$$D = \frac{2.219H^{0.940}}{(1 + N)^{0.335}}, \quad (4)$$

где N , тыс. экз./га – исходная густота насаждений.

В этой же работе для описания хода роста сосны по высоте использована асимптотическая формула (уравнение 5):

$$H = H_{\max} \left(1 - e^{-\frac{at}{100}}\right). \quad (5)$$

В исследовании [16] для описания соотношения высоты H и диаметра ствола D предложена квадратичная зависимость (уравнение 6):

$$H = b_1 + b_2D - b_3D^2, \quad (6)$$

где $b_1 = 137$ см – высота дерева на уровне груди.

Коэффициенты b_2 и b_3 определяются для каждого вида дерева по уравнениям 7 и 8 соответственно:

$$b_2 = \frac{2(H_{\max} - 137)}{D_{\max}}; \quad (7)$$

$$b_3 = \frac{H_{\max} - 137}{D_{\max}^2}. \quad (8)$$

В дальнейшем остановимся на уравнении 6, с учетом которого уравнение 1 преобразовывается в уравнение 9:

$$\frac{dD}{dt} = \frac{RLA \left(1 - \frac{DH}{D_{\max} H_{\max}}\right)}{D(274 + 3b_2D - 4b_3D^2)}. \quad (9)$$

Учитывая предположение о пропорциональности площади листа его весу [1], уравнение 9 приобретает следующий вид (уравнение 10):

$$\frac{dD}{dt} = \frac{GD \left(1 - \frac{D(b_1 + b_2 D - b_3 D^2)}{D_{\max} H_{\max}} \right)}{274 + 3b_2 D - 4b_3 D^2}, \quad (10)$$

где $G = RC_i$ (C_i – константа листового индекса). Таким образом, модель JABOWA (уравнение 10) является обыкновенным дифференциальным уравнением для диаметра $D = D(t)$ деревьев как функции возраста (диаметр измеряется на высоте груди). Приведенные в уравнении 10 параметры G , $D_{\max}$, $H_{\max}$, b_2 и b_3 характеризуют отдельные виды деревьев. Для рассматриваемых видов деревьев величины максимальных диаметра и высоты получены из данных таксационных измерений в работе [11] и приведены в табл. 1. Сборник таблиц хода роста деревьев составлен на основе информации о росте и развитии древостоев Северной Евразии в области 40° северной широты (для случаев недостаточности информации по лесам России были использованы данные о лесах прилегающих территорий, в частности Белоруссии, Украины, Казахстана, балтийских стран). Данные табл. 1 соответствуют бонитету I условий роста деревьев. Поскольку значения высот и диаметров существенно отличаются для различных условий произрастания, особенно первого и последнего бонитета, в табл. 2 для сравнения приведены данные по бонитету V для рассматриваемых видов деревьев (для липы – бонитет IV). Для определения неизвестного параметра G методом наименьших квадратов решается задача минимизации функционала согласно уравнению 11:

$$J = \sum_{i=1}^N (D(t_i) - D^T(t_i))^2, \quad (11)$$

где t_i – время таксационной оценки характеристик деревьев (табл. 1 и 2). Рассчитанные значения G и величины $D_{\max}$, $H_{\max}$, b_2 и b_3 приведены в табл. 3. При заданном значении начального диаметра дерева дифференциальное уравнение 10 решается численно с помощью процедуры `odeint` в среде Python.

Полученные на основе модели роста дерева JABOWA кривые зависимости диаметра дерева от возраста представлены на рис. 1. Для сравнения приведены таксационные данные из табл. 1 [11], соответствующие бонитету I. Наблюдается хорошее согласие расчетных и таксационных данных. Строго говоря, параметры G , $D_{\max}$ и $H_{\max}$ следует определять для каждого бонитета отдельно.

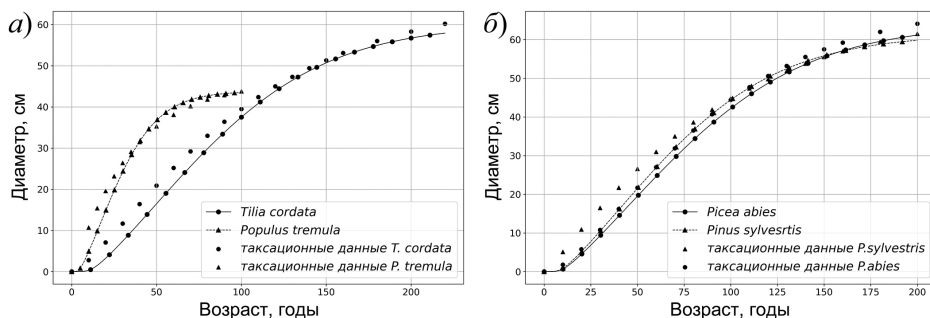


Рис. 1. Сравнение полученной из численной модели зависимости диаметра дерева от возраста с таксационными данными

В табл. 4 даны значения параметра G для Сосны обыкновенной, найденные для различных бонитетов.

Табл. 1

Таксационные данные из работы [11] (бонитет I)

Дуб черешчатый (<i>Quercus robur</i> L.)			Береза повислая (<i>Betula pendula</i> Roth)			Липа сердцевидная (<i>Tilia cordata</i> Mill.)			Сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvest- ris</i> L.)			Ель обыкновенная (<i>Picea abies</i> (L.) H. Karst.)			Тополь дрожащий (<i>Populus tremula</i> L.)			Пихта (<i>Abies</i> Mill.)		
<i>t</i> , годы	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>t</i> , годы	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>t</i> , годы	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см
10	5.6	4.1	9.7	5.0	3.2	2.8	5.5	5.1	3.0	1.8	7.9	10.7	20	5.6	6.0					
20	11.4	8.7	16.0	11.1	7.9	7.1	11.6	10.9	8.1	5.8	15	15.4	30	9.6	10.9					
30	16.5	13.4	20.7	16.7	12.6	11.7	16.9	16.5	13.3	10.8	20	19.6	40	13.5	15.8					
40	20.9	18.1	24.2	21.5	16.9	16.4	21.6	21.7	18.3	16.2	25	23.2	50	17.1	20.4					
50	24.7	22.7	26.9	25.5	20.7	20.9	25.4	26.6	22.8	21.7	30	26.4	60	20.2	24.6					
60	27.8	27.2	28.9	28.7	24.0	25.2	28.6	31.0	26.6	27.0	35	29.1	70	22.9	28.2					
70	30.4	31.7	30.5	31.3	26.7	29.2	31.3	35.0	29.9	31.9	40	31.5	80	25.2	31.3					
80	32.6	36.0	31.7	33.4	28.9	33.0	33.4	38.6	32.7	36.5	50	35.3	90	27.2	34.0					
90	34.4	40.2	32.7	35.0	30.8	36.4	35.2	41.9	34.9	40.7	60	38.1	100	28.8	36.2					
100	35.9	44.3	33.4	36.3	32.3	39.5	36.6	44.8	36.8	44.4	70	40.2	120	31.3	39.6					
110	37.2	48.2	34.0	37.3	33.6	42.4	37.8	47.4	38.3	47.7	80	41.8	140	32.9	41.9					
120	38.2	52.0	—	—	34.6	45.0	38.7	49.8	39.6	50.6	90	42.9	160	34.1	43.4					
130	39.0	55.7	—	—	35.4	47.3	39.5	51.9	40.6	53.2	100	43.8	180	34.8	44.4					
140	39.7	59.3	—	—	36.1	49.4	40.1	53.8	41.4	55.5	—	—	—	—	—					
150	40.3	62.8	—	—	36.6	51.3	40.6	55.5	42.1	57.5	—	—	—	—	—					
160	40.8	66.1	—	—	37.1	53.1	41.0	57.0	42.7	59.2	—	—	—	—	—					
180	41.5	72.4	—	—	37.7	56.0	41.6	59.5	43.5	62.0	—	—	—	—	—					
200	42.0	78.2	—	—	38.1	58.3	42.0	61.5	44.0	64.1	—	—	—	—	—					
220	—	—	—	—	38.4	60.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—					

Табл. 3

Основные параметры в уравнениях 10, 12 и 13 для ряда видов деревьев РФ (бонитет I)

Вид	Бонитет I				Бонитет V				a	b	ρ, т/м ³
	G	D _{max} , см	H _{max} , м	b ₂	b ₃	G	D _{max} , см	H _{max} , м	b ₂	b ₃	
Дуб черешчатый (<i>Quercus robur</i> L.)	161	78.2	42	103.913	0.664	84	29.5	15.5	95.977	1.624	0.809
Береза повислая (<i>Betula pendula</i> Roth)	310	38.1	34.4	173.386	2.275	115	14.2	14.7	187.746	6.611	0.967
Тополь дрожащий (<i>Populus tremula</i> L.)	433	43.8	32.5	142.146	1.623	154	13.1	14	192.824	7.36	1.036
Липа сердцевидная (<i>Tilia cordata</i> Mill.)	170	60.2	38.4	123.023	1.022	92	32.8	21	119.695	1.825	0.43
Сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i> L.)	218	61.5	42	132.13	1.074	37	13	7.5	94.307	3.627	0.868
Ель обыкновенная (<i>Picea abies</i> (L.) H. Karst.)	203	64.1	44	133.011	1.038	60	18	13.3	132.5	3.68	0.992
Пихта (<i>Abies</i> Mill.)	207	44.4	34.8	150.585	1.696	88	23.7	17.6	136.962	2.889	0.943

Табл. 4

Таксационные данные из работы [11] и рассчитанные параметры G для Сосны обыкновенной

Бонитет																	
Ia		Ib		I		II		III		IV		V		Va		Vb	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см	<i>H</i> , м	<i>D</i> , см
5.5	5.1	4.9	4.3	4.1	3.5	3.3	2.8	2.5	2.2	1.7	1.6	1.1	—	0.7	—	—	—
11.6	10.9	10.2	9.3	8.7	7.7	7.1	6.3	5.5	5.1	4.0	3.9	2.8	2.9	1.7	2.0	0.8	—
16.9	16.5	14.9	14.1	12.8	12.0	10.6	9.9	8.4	8.1	6.4	6.4	4.6	4.9	3.0	3.5	1.6	2.4

Продолжение табл. 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
21.6	21.7	19.0	18.8	16.4	16.0	13.7	13.4	11.1	11.0	8.6	8.8	6.3	6.8	4.2	5.0	2.4	3.5
25.4	26.6	22.5	23.1	19.5	19.8	16.4	16.7	13.4	13.9	10.6	11.2	7.9	8.7	5.4	6.4	3.1	4.5
28.6	31.0	25.4	27.0	22.1	23.3	18.8	19.8	15.5	16.5	12.3	13.5	9.3	10.6	6.5	7.8	3.8	5.5
31.3	35.0	27.8	30.6	24.3	26.5	20.7	22.7	17.2	19.0	13.8	15.6	10.5	12.3	7.4	9.1	4.4	6.4
33.4	38.6	29.8	33.9	26.1	29.5	22.4	25.3	18.7	21.3	15.1	17.5	11.6	13.9	8.2	10.4	4.9	7.3
35.2	41.9	31.4	36.9	27.6	32.2	23.8	27.7	20.0	23.4	16.2	19.3	12.5	15.4	8.9	11.5	5.4	8.1
36.6	44.8	32.8	39.6	28.9	34.6	25.0	29.9	21.1	25.3	17.2	21.0	13.3	16.7	9.6	12.6	5.8	8.8
37.8	47.4	33.9	42.0	30.0	36.8	26.0	31.8	22.0	27.1	18.0	22.5	14.0	18.0	10.1	13.5	6.1	9.5
38.7	49.8	34.8	44.2	30.8	38.8	26.8	33.6	22.7	28.7	18.7	23.8	14.6	19.1	10.5	14.4	6.4	10.1
39.5	51.9	35.6	46.2	31.6	40.6	27.5	35.3	23.4	30.1	19.2	25.1	15.1	20.1	10.9	15.2	6.7	10.6
40.1	53.8	36.2	47.9	32.2	42.2	28.1	36.8	23.9	31.4	19.7	26.2	15.5	21.1	11.2	15.9	6.9	11.1
40.6	55.5	36.7	49.5	32.7	43.7	28.5	38.1	24.4	32.6	20.1	27.2	15.8	21.9	11.5	16.6	7.0	11.5
41.0	57.0	37.1	50.9	33.1	45.0	28.9	39.3	24.7	33.7	20.5	28.2	16.1	22.7	11.7	17.2	7.2	11.9
41.6	59.5	37.7	53.3	33.7	47.3	29.5	41.3	25.3	35.5	21.0	29.7	16.6	24.0	12.0	18.2	7.4	12.5
42.0	61.5	38.1	55.3	34.1	49.1	30.0	43.0	25.7	37.0	21.3	31.0	16.9	25.0	12.3	19.0	7.5	13.0
G = 218		G = 179		G = 147		G = 122		G = 101		G = 83		G = 67		G = 52		G = 39	

Соответствующие зависимости высоты дерева от возраста показаны на рис. 2. Для сравнения приведены кривые $H(t)$ из работы [1]. Заметно, что рост дерева в значительной степени определяется бонитетом условий его обитания. Зависимость, построенная в работе [15] для сосняков двух типов (лишайниково-вересковый и брусничниковый), лучше всего соотносится с кривой роста, полученной по модели, описываемой уравнением 10, на основе данных по бонитету II.

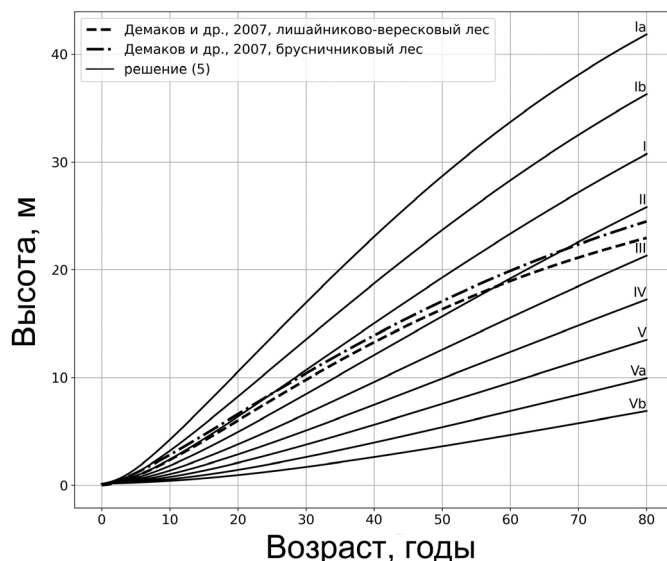


Рис. 2. Кривые роста Сосны обыкновенной для различных бонитетов

1.2. Формула для расчета запаса углерода. Найденная из решения уравнения 10 зависимость диаметра дерева от возраста $D(t)$ позволяет с учетом уравнения 6 рассчитать зависимость высоты дерева от времени $H(t)$. Для оценки запасенного углерода следует определить объем или биомассу всего дерева, включая различные его фракции. В литературе приведены различные аллометрические зависимости объема дерева от его диаметра и высоты [17, 18]. Строго говоря, анализ запасенного углерода должен касаться всех фракций дерева, включая ствол, ветви, корни, листву и кору. Вместе с тем известно, что основная биомасса деревьев сосредоточена в его стволе, поэтому в настоящей статье ограничимся анализом стволовой биомассы. В работе [19] приведена формула для расчета объема ствола дерева (V) как функции его диаметра и высоты:

$$V = a \times 10^{-5} \times H^b (D+1)^2, \quad (12)$$

где a и b — известные параметры для различных видов деревьев (табл. 3). Таким образом, из решения уравнений 10 и 12 можно рассчитать зависимость объема ствола дерева или биомассы $V(t)$ от его возраста, знание которой позволяет прогнозировать динамику запасенного углерода различными видами деревьев.

Для оценки углеродного бюджета лесов обычно используют рекомендованную Межправительственной группой экспертов по изменению климата формулу расчета запаса углерода C [20] (уравнение 13):

$$C = (1 + R) \times CF \times \rho \times BEF \times V, \quad (13)$$

где V – товарный запас древесины, м^3 , ρ – плотность абсолютно сухой древесины, т сухого вещества/ м^3 , BEF – коэффициент разрастания фитомассы для преобразования товарного запаса древесины в надземную фитомассу деревьев (по умолчанию 1.4), R – соотношение массы корней и побегов (по умолчанию 0.5), CF – доля углерода в сухом веществе (по умолчанию 0.5), т С/т сухого вещества. Плотности абсолютно сухой стволовой древесины (ρ) представлены в табл. 3 [20].

Оценку запаса углерода можно проводить как для каждого отдельного дерева, так и для набора деревьев исследуемой площади. В последнем случае полученное значение запаса углерода умножается на количество деревьев данного вида и суммируется со значениями, полученными для других видов.

Построим аппроксимацию численных кривых роста деревьев, полученных по модели JABOWA (уравнение 10). В качестве аппроксимационной функции выберем аналитическое решение уравнения динамики одиночной популяции Ферхюльста–Пирла, записанное для переменной – объема дерева $V(t)$ (уравнение 14):

$$V = \frac{V_{\max} V_0}{V_0 + e^{-r_m t} (V_{\max} - V_0)}. \tag{14}$$

Используя это уравнение и введя параметры – количество деревьев i -го вида (N_i) и площадь участка леса (S), запишем формулу для оценки запаса углерода в сообществе различных видов деревьев на конкретном участке (уравнение 15):

$$C(t) = (1 + R) \times CF \times BEF \times S^{-1} \sum_{i=1}^n \frac{N_i \rho_i V_{\max_i} V_{0_i}}{V_{0_i} + e^{-r_{m_i} t} (V_{\max_i} - V_{0_i})}. \tag{15}$$

Параметры V_0 , $V_{\max}$, r_m аналитической модели для каждого вида дерева, найденные методом наименьших квадратов, приведены в табл. 5. Для проверки точности аппроксимации параметры V_0 , $V_{\max}$ находили для различного количества точек значений $V(t)$, определяемых из численной модели. Расчеты показали, что полученные значения практически не отличаются.

Табл. 5

Параметры V_0 , $V_{\max}$, r_m аналитической модели (уравнение 14) для бонитета I

Вид	Бонитет I			Бонитет V		
	r_m	$V_{\max}$	V_0	r_m	$V_{\max}$	V_0
Дуб черешчатый (<i>Quercus robur</i> L.)	0.036	7.445	0.104	0.038	0.579	0.015
Береза повислая (<i>Betula pendula</i> Roth)	0.073	1.559	0.029	0.071	0.096	0.002
Тополь дрожащий (<i>Populus tremula</i> L.)	0.104	2.071	0.041	0.087	0.087	0.002
Липа сердцевидная (<i>Tilia cordata</i> Mill.)	0.037	4.358	0.075	0.032	0.824	0.02
Сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i> L.)	0.043	4.78	0.090	0.036	0.057	0.001
Ель обыкновенная (<i>Picea abies</i> (L.) H. Karst.)	0.039	5.88	0.095	0.034	0.163	0.004
Пихта (<i>Abies</i> Mill.)	0.044	2.227	0.052	0.037	0.344	0.008

2. Результаты и их обсуждение

На рис. 3 представлены кривые зависимости объема ствола дерева от возраста, найденные по численной модели (уравнение 10) и аналитической формуле (уравнение 12). Из рисунка видно, что изменение объема ствола дерева во времени имеет *S*-образный характер. Наблюдается значительное отличие в величине изменения объема для различных видов деревьев. Так, для дуба характерно самое стремительное возрастание объема до значений около 7 м^3 к возрасту 200 лет. Наименьший рост объема ствола в течение жизненного цикла (около $1.5\text{--}2 \text{ м}^3$) у тополя, березы и пихты. Кривая изменения объема ствола тополя имеет более стремительный характер возрастания на начальных стадиях роста, чем у остальных представленных видов деревьев.

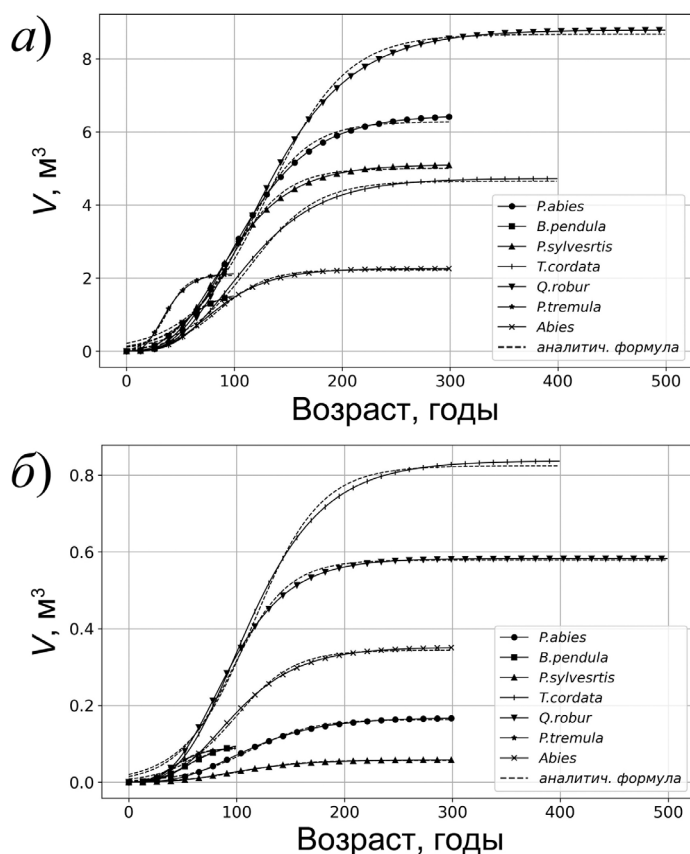


Рис. 3. Зависимость объема стволов деревьев различных видов от возраста для бонитетов I (а) и V (б)

Рис. 4 показывает различия в скорости прироста объема и, соответственно, накопления углерода в биомассе деревьев. Отличия между видами проявляются не только в значениях максимума изменения объема, но и в возрасте, при котором достигается этот пик. Так, например, заметно выделяется скорость изменения объема и накопления углерода у тополя. Максимальных значений этих характеристик тополь достигает в возрасте около 25 лет, в отличие от других видов, у которых пик смещен к 50–110 годам. Вероятно, анализ этих характеристик

должен играть решающую роль в вопросах управления лесами для повышения эффективности секвестрации углерода.

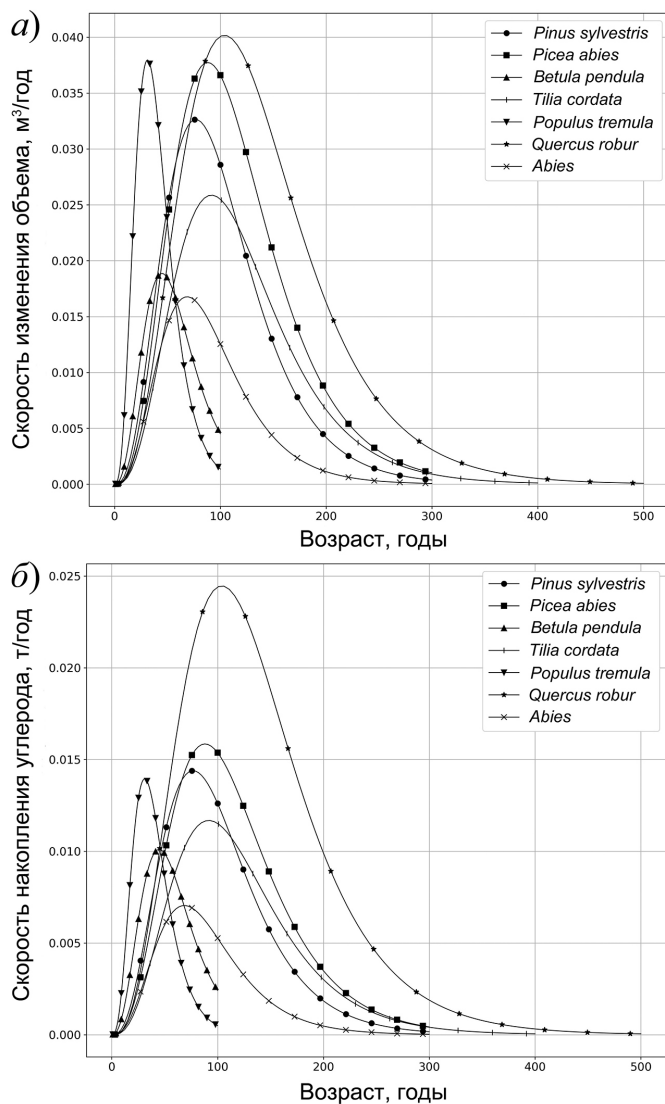


Рис. 4. Скорость изменения объема (а) и накопления углерода (б) у деревьев различных видов (бонитет I)

На пробной площади размером 50×50 м лесного участка карбонового полигона «Карбон-Поволжье» (территория Обсерватории имени В.П. Энгельгардта Казанского федерального университета [21]), проведены измерения диаметра и высоты 75 деревьев вида *Betula pendula* Roth и 10 деревьев вида *Tilia cordata* Mill. На исследуемом участке Липа сердцевидная имеет максимальный возраст 109 лет, средний возраст – 60 лет, средний диаметр составляет 35 см, а средняя высота – 36 м. Береза повислая в основном представлена деревьями высотой 29–36 м и диаметром 30–70 см, средний возраст которых составляет примерно 70 лет. Оценка запаса углерода по измеренным данным на рассматриваемом участке дает запасы углерода в размере ~163 т/га.

С помощью численной модели и аналитической формулы (уравнение 15) рассчитана динамика накопления углерода на выбранном участке для липы и березы, соответствующих бонитетам I и V (рис. 5). Наблюдается хорошее согласие численной и аналитической моделей. Максимально возможный запас углерода приближается к значениям ~ 650 т/га или ~ 100 т/га, если состояние древостоя соответствует бонитетам I и V соответственно. Из рис. 5 видно, что данные измерений (штрихпунктирная линия) находятся внутри диапазона кривых, соответствующих наиболее высокому и низкому бонитетам. Таким образом, можно сделать вывод, что при прогнозировании динамики роста биомассы деревьев и запасенного углерода необходимо включать в рассмотрение в качестве параметра бонитет как одну из основных характеристик условий обитания деревьев.

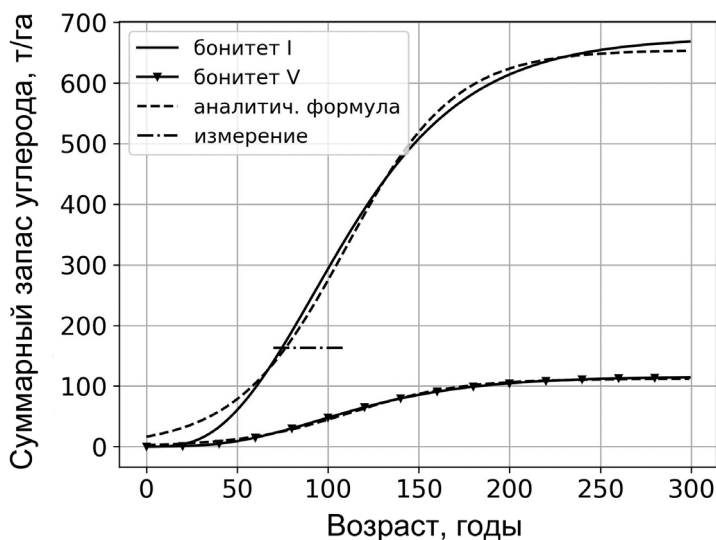


Рис. 5. Суммарный запас углерода на пробной площади лесного участка карбонового полигона «Карбон-Поволжье» Казанского федерального университета

Полученные оценки запасенного углерода в целом согласуются с оценками из других работ. Так, в исследовании [8] асимптотический предел роста, представляющий собой максимальное значение запасенного углерода, составил 172.8 т/га для смешанных широколиственных городских лесов Шанхая, возраст посадок в которых составлял в среднем от 15 до 25 лет. Для широколиственных лесов умеренного пояса на основе оценки 449 наблюдений из 18 стран предсказано накопление углерода около 100 т/га к 75 годам [22]. В работе [23] исследована динамика возрастного изменения фитомассы пихты и запасенного углерода для папоротниково-моховых пихтовых древостоев Бирюсинского участкового лесничества, которая отражает их углеродный потенциал, стремящийся к значению 102.8 т/га к 150 годам.

Заключение

Развита математическая модель для расчета запасенного углерода надземной биомассы в лесном сообществе, состоящем из различных видов деревьев.

На основе численного решения дифференциального уравнения для диаметра дерева на высоте груди в рамках классической модели роста одиночного дерева JABOWA рассчитана динамика изменения объема ствола различных видов деревьев средней полосы Российской Федерации. Для оценки массы углерода в сообществе различных видов деревьев построена формула, включающая в качестве параметра возраст деревьев. Приведены результаты расчетов зависимости запасенного углерода от возраста дерева для рассмотренных видов деревьев. Показано различие в скорости прироста объема и, соответственно, накопления углерода в биомассе различных видов деревьев. Полученные оценки запасенного углерода согласуются с литературными данными, а также с результатами для лесного участка карбонового полигона Казанского федерального университета. Полученная формула позволяет проводить оценку запасенного углерода в лесном сообществе с произвольным составом видов разновозрастных деревьев, а также давать прогноз на будущее, в том числе при планировании лесотехнической деятельности.

Вместе с тем необходимо отметить, что при прогнозировании динамики роста биомассы деревьев и запасенного углерода имеет значение бонитет, который является производным параметром, определяемым условиями обитания деревьев. Создание математической модели, учитывающей бонитет в качестве параметра, повысило бы возможности прогноза роста биомассы и запасенного углерода лесных сообществ. Кроме того, развитая в настоящей работе математическая модель описывает динамику уже известного состава лесного сообщества без учета естественного возобновления леса. Чтобы отразить вклад этого параметра, следует использовать пространственные диффузионные модели, описывающие воспроизводство леса на нелесных участках.

Благодарности. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (проект № FZSM-2024-0004).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Усольцев В.А. Фитомасса модельных деревьев лесообразующих пород Евразии: база данных, климатически обусловленная география, таксационные нормативы. Екатеринбург: Урал. гос. лесотехн. ун-т, 2016. 338 с.
2. Замолодчиков Д.Г., Уткин А.И., Честных О.В. Коэффициенты конверсии запасов насаждений в фитомассу основных лесообразующих пород России // Лесная таксация и лесоустройство. 2003. Вып. 1 (32). С. 119–127.
3. Замолодчиков Д.Г., Грабовский В.И., Честных О.В. Прогноз углеродного бюджета лесных территорий // Математическое моделирование в экологии: материалы Шестой Национальной научной конференции с международным участием (26–29 сентября 2019 г.). Пушино: Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, 2019. С. 87–88.
4. Pilli R., Kull S.J., Blujdea V.N.B., Grassi G. The Carbon Budget Model of the Canadian Forest Sector (CBM-CFS3): Customization of the Archive Index

- Database for European Union Countries // *Ann. For. Sci.* 2018. V. 75, No 3. Art. 71. <https://doi.org/10.1007/s13595-018-0743-5>.
5. Kull S.J., Rampley G.J., Morken S., Metsaranta J.M., Neilson E.T., Kurz W.A. Operational-Scale Carbon Budget Model of the Canadian Forest Sector (CBM-CFS3), Version 1.2: User's Guide. Edmonton, AB: Nat. Resour. Can., Can. For. Serv., North. For. Cent., 2011. 344 p.
 6. Komarov A., Chertov O., Zudin S., Nadporozhskaya M., Mikhailov A., Bykhovets S., Zudina E., Zoubkova E. EFIMOD 2 – a model of growth and cycling of elements in boreal forest ecosystems // *Ecol. Modell.* 2003. V. 170, Nos 2–3. P. 373–392. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(03\)00240-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(03)00240-0).
 7. Gardiner E.S., Poudel K.P., Leininger T.D., Souter R.A., Rousseau R.J., Dahal B. Early dynamics of carbon accumulation as influenced by spacing of a *Populus deltoides* planting // *Forests*. 2024. V. 15, No 2. Art. 226. <https://doi.org/10.3390/f15020226>.
 8. Ma F., Zhang W., Yan J., Zhang T., Lu N., Yao M., Zhang T., Zheng J., Yin S. Early advantage for carbon sequestration of monocultures and greater long-term carbon sink potential of broadleaf mixed forests: 20-year evidence from the Shanghai Green Belt // *Ecol. Indic.* 2024. V. 159. Art. 111655. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2024.111655>.
 9. Швиденко А.З., Щепашенко Д.Г. Углеродный бюджет лесов России // *Сибирский лесной журнал*. 2014. № 1. С. 69–92.
 10. Замолодчиков Д.Г., Грабовский В.И., Честных О.В. Динамика баланса углерода в лесах федеральных округов Российской Федерации // *Вопросы лесной науки*. 2018. Т. 1. № 1. С. 1–24. <https://doi.org/10.31509/2658-607X-2018-1-1-1-24>.
 11. Швиденко А.З., Щепашенко Д.Г., Нильссон С., Булуй Ю.И. Таблицы и модели хода роста и продуктивности насаждений основных лесообразующих пород Северной Евразии: нормативно-справочные материалы. М.: Федеральное агентство лесного хозяйства, Международный институт прикладного системного анализа, 2008. 886 с.
 12. Смирнова О.В., Чистякова А.А., Попадюк Р.В., Евстигнеев О.И., Коротков В.Н., Митрофанова М.В., Пономаренко Е.В. Популяционная организация растительного покрова лесных территорий (на примере широколиственных лесов европейской части СССР). Пуццино: ОНТИ Научный центр биологических исследований АН СССР, 1990. 92 с.
 13. Botkin D.B., Janak J.F., Wallis J.R. Rationale, limitations, and assumptions of a northeastern forest growth simulator // *IBM J. Res. Dev.* 1972. V. 16, No 2. P. 101–116. <https://doi.org/10.1147/rd.162.0101>.
 14. Соловьева О.Е., Вайс А.А. Соотношение высот и диаметров деревьев в сосновых древостоях Восточного Саяна // *Хвойные бореальной зоны*. 2019. Т. 37. № 3–4. С. 242–249.
 15. Демаков Ю.П., Козлова И.А. Математические модели хода роста культур сосны для различных типов леса Марийского Заволжья // *Вестник Казанского ГАУ*. 2007. Т. 2. № 2 (6). С. 83–91.
 16. Ker J.W., Smith J.H.G. Advantages of the parabolic expression of height-diameter relationships // *For. Chron.* 1955. V. 31, No 3. P. 236–246. <https://doi.org/10.5558/tfc31236-3>.
 17. Duangsathaporn K., Sangram N., Omule Y., Prasomsin P., Palakit K., Lumyai P. Formulating equations for estimating forest stand carbon stock for various tree species groups in northern Thailand // *Forests*. 2023. V. 14, No 8. Art. 1584. <https://doi.org/10.3390/f14081584>.
 18. Bornand A., Rehush N., Morsdorf F., Thürig E., Abegg M. Individual tree volume estimation with terrestrial laser scanning: Evaluating reconstructive

- and allometric approaches // *Agric. For. Meteorol.* 2023. V. 341. Art. 109654. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2023.109654>.
19. Демаков Ю.П., Пуряев А.С., Черных В.Л., Черных Л.В. Использование аллометрических зависимостей для оценки фитомассы различных фракций деревьев и моделирования их динамики // *Вестник Поволжского государственного технологического университета. Сер.: Лес. Экология. Природопользование.* 2015. № 2 (26). С. 19–36.
 20. Руководящие указания по эффективной практике для землепользования, изменений в землепользовании и лесного хозяйства. Программа МГЭИК по национальным кадастрам парниковых газов. М.: МГЭИК, ВМО, 2003. 330 с.
 21. Нургалиев Д.К., Селивановская С.Ю., Кожевникова М.В., Галицкая П.Ю. Некоторые вызовы и возможности для России и регионов в плане глобального тренда декарбонизации // *Георесурсы.* 2021. Т. 23. № 3. С. 8–16. <https://doi.org/10.18599/grs.2021.3.2>.
 22. Bukoski J.J., Cook-Patton S.C., Melikov C., Ban H., Chen J.L., Goldman E.D., Harris N.L., Potts M.D. Rates and drivers of aboveground carbon accumulation in global monoculture plantation forests // *Nat. Commun.* 2022. V. 13, No 1. Art. 4206. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31380-7>.
 23. Kalachev V.A., Vais A.A., Anuev E.A., Martynova D.O. Phyto mass accumulation and the carbon potential of modal fir stands determination in the conditions of the Krasnoyarsk-Kansk podtaezhno-forest-steppe region // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2020. V. 548. Art. 052016. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/5/052016>.

Поступила в редакцию 12.07.2024

Принята к публикации 15.08.2024

Зарипов Шамиль Хузеевич, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой моделирования экосистем Института экологии и природопользования

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: shamil.zaripov@kpfu.ru

Тарасова Дарья Алексеевна, студент 4 курса бакалавриата Института экологии и природопользования

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: tarasowa.darja.ta@yandex.ru

Кожевникова Мария Владимировна, кандидат биологических наук, заместитель директора по научной деятельности Института экологии и природопользования

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: MKozhevnikova@kpfu.ru

Костерина Екатерина Александровна, кандидат физико-математических наук, доцент, доцент кафедры моделирования экосистем Института экологии и природопользования

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: Ekaterina.Kosterina@kpfu.ru

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.704-723

**A Mathematical Model for Estimating Carbon Storage Dynamics
of Forest Communities**

Sh.Kh. Zaripov *, D.A. Tarasova **, M.V. Kozhevnikova ***, E.A. Kosterina ****

Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

E-mail: *shamil.zaripov@kpfu.ru, **tarasowa.darja.ta@yandex.ru,

MVKozhevnikova@kpfu.ru, *Ekaterina.Kosterina@kpfu.ru

Received July 12, 2024; Accepted August 15, 2024

Abstract

Using the JABOWA single-tree growth model, a program was designed to estimate carbon storage dynamics in the aboveground biomass of a mixed forest community. The developed model incorporates the parameters of tree species that are common to the forests of Central Russia: pedunculate oak (*Quercus robur* L.), silver birch (*Betula pendula* Roth), common aspen (*Populus tremula* L.), small-leaved lime (*Tilia cordata* Mill.), Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), Norway spruce (*Picea abies* (L.) H. Karst.), and fir (*Abies* Mill.). A differential equation for tree diameter at breast height (D) was solved. The results were compared with the forest inventory data. The amount of carbon stored in the aboveground biomass of trees was calculated following the methodology suggested by the Intergovernmental Panel on Climate Change. The dynamics of tree volume were analyzed. An analytical formula was proposed to describe the dependence of tree volume and stored carbon on tree age. The differences in the rates of tree volume growth and carbon accumulation were identified among the species studied. The analytical and numerical results on stored carbon and tree age showed a good agreement for a test plot with the known species composition and tree count, which is located within the forest part of the carbon polygon of Kazan Federal University. The formula offers an accurate estimation and prediction of carbon storage dynamics in mixed forest communities with trees varying in age and, hence, is a valuable tool for managing forestry activities. However, when predicting tree biomass growth and carbon storage dynamics, one should also consider forest site quality classes reflecting the actual growth conditions of trees. Developing a mathematical model based on forest site quality classes as a key variable would help increase the reliability of biomass growth and carbon storage predictions for forest communities. Notably, the obtained model applies to actual forest communities with known species composition and fails to account for natural regeneration. To incorporate this parameter, spatial diffusion models that describe forest regeneration in non-forest areas should be utilized.

Keywords: tree growth model, tree diameter, tree volume, carbon, analytical model**Acknowledgments.** This study was funded by the subsidy allocated to Kazan Federal University for the state assignment in the sphere of scientific activities (project no. FZSM-2024-0004).**Conflicts of Interest.** The authors declare no conflicts of interest.**Figure Captions**

Fig. 1. Comparison of the dependence of tree diameter on tree age from the numerical model with the forest inventory data.

Fig. 2. Growth curves of Scots pine for various forest site quality classes.

Fig. 3. Dependence of tree volume on tree age for various species in forest site quality classes I (a) and V (b).

Fig. 4. Rates of tree volume change (a) and carbon accumulation (b) in various species (forest site quality class I).

Fig. 5. Total carbon stored in the test plot within the forest part of the Carbon Volga polygon of Kazan Federal University.

References

1. Usol'tsev V.A. *Fitomassa model'nykh derev'ev lesoobrazuyushchikh porod Evrazii: baza dannykh, klimaticheskii obuslovlennaya geografiya, taksatsionnye normativy* [Single-Tree Biomass of Major Forest-Forming Species in Eurasia: Database, Climate-Driven Shifts, Inventory Standards]. Yekaterinburg, Ural. Gos. Lesotekh. Univ., 2016. 338 p. (In Russian)
2. Zamolodchikov D.G., Utkin A.I., Chestnykh O.V. The factors of converting forest stand volume into phytomass for major forest-forming species in Russia. *Lesn. Taksatsiya Lesoustroistvo*, 2003, no. 1 (32), pp. 119–127. (In Russian)
3. Zamolodchikov D.G., Grabovskii V.I., Chestnykh O.V. Predicting the carbon budget of forest areas. *Matematicheskoe modelirovanie v ekologii: materialy Shestoi Natsional'noi nauchnoi konferentsii c mezhdunarodnym uchastiem (26–29 sentyabrya 2019 g.)* [Mathematical Modeling in Ecology: Proc. 6th Natl. Sci. Conf. with Int. Participation (September 26–29, 2019)]. Pushchino, Inst. Fiz.-Khim. Biol. Probl. Pochvoved. Ross. Akad. Nauk, 2019, pp. 87–88. (In Russian)
4. Pilli R., Kull S.J., Blujdea V.N.B., Grassi G. The Carbon Budget Model of the Canadian Forest Sector (CBM-CFS3): Customization of the Archive Index Database for European Union Countries. *Ann. For. Sci.*, 2018, vol. 75, no. 3, art. 71. <https://doi.org/10.1007/s13595-018-0743-5>.
5. Kull S.J., Rampley G.J., Morken S., Metsaranta J.M., Neilson E.T., Kurz W.A. *Operational-Scale Carbon Budget Model of the Canadian Forest Sector (CBM-CFS3), Version 1.2: User's Guide*. Edmonton, AB, Nat. Resour. Can., Can. For. Serv., North. For. Cent., 2011. 344 p.
6. Komarov A., Chertov O., Zudin S., Nadporozhskaya M., Mikhailov A., Bykhovets S., Zudina E., Zoubkova E. EFIMOD 2 – a model of growth and cycling of elements in boreal forest ecosystems. *Ecol. Modell.*, 2003, vol. 170, nos. 2–3, pp. 373–392. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(03\)00240-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(03)00240-0).
7. Gardiner E.S., Poudel K.P., Leininger T.D., Souter R.A., Rousseau R.J., Dahal B. Early dynamics of carbon accumulation as influenced by spacing of a *Populus deltoides* planting. *Forests*, 2024, vol. 15, no. 2, art. 226. <https://doi.org/10.3390/f15020226>.
8. Ma F., Zhang W., Yan J., Zhang T., Lu N., Yao M., Zhang T., Zheng J., Yin S. Early advantage for carbon sequestration of monocultures and greater long-term carbon sink potential of broadleaf mixed forests: 20-year evidence from the Shanghai Green Belt. *Ecol. Indic.*, 2024, vol. 159, art. 111655. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2024.111655>.
9. Shvidenko A.Z., Schepaschenko D.G. Carbon budget of Russian forests. *Sib. Lesn. Zh.*, 2014, no. 1, pp. 69–92. (In Russian)
10. Zamolodchikov D.G., Grabowsky V.I., Chestnykh O.V. Carbon budget dynamics in the forests of Russian federal districts. *Vopr. Lesn. Nauki*, 2018, vol. 1, no. 1, pp. 1–24. <https://doi.org/10.31509/2658-607X-2018-1-1-1-24>. (In Russian)
11. Shvidenko A.Z., Schepaschenko D.G., Nilsson S., Bului Yu.I. *Tablitsy i modeli khoda rosta i produktivnosti nasazhdenii osnovnykh lesoobrazuyushchikh porod Severnoi Evrazii: normativno-spravochnye materialy* [Tables and Models of Forest Growth and Productivity for Major Forest-Forming Species of Northern Eurasia: Regulatory and Reference Materials]. Moscow, Fed. Agentstvo Lesn. Khoz., Mezhdunar. Inst. Prikl. Sist. Anal., 2008. 886 p. (In Russian)
12. Smirnova O.V., Chistyakova A.A., Popadyuk R.V., Evstigneev O.I., Korotkov V.N., Mitrofanova M.V., Ponomarenko E.V. *Populyatsionnaya organizatsiya rastitel'nogo pokrova lesnykh territorii (na primere shirokolistvennykh lesov evropeiskoi chasti SSSR)* [The Population Structure of Vegetation Cover in Forest Areas (A Study of Broad-Leaved Forests across the European Part of the USSR)]. Pushchino, ONTI Nauchn. Tsentr Biol. Issled. Akad. Nauk SSSR, 1990. 92 p. (In Russian)
13. Botkin D.B., Janak J.F., Wallis J.R. Rationale, limitations, and assumptions of a northeastern forest growth simulator. *IBM J. Res. Dev.*, 1972, vol. 16, no. 2, pp. 101–116. <https://doi.org/10.1147/rd.162.0101>.
14. Solov'eva O.E., Vais A.A. The ratio of tree heights and diameters in pine stands of the Eastern Sayan. *Khvoynye Boreal'noi Zony*, 2019, vol. 37, nos. 3–4, pp. 242–249. (In Russian)

15. Demakov Yu.P., Kozlova I.A. Mathematical models of pine growth in various forest types of the Mari Trans-Volga region. *Vestn. Kazan. GAU*, 2007, no. 2 (6), pp. 83–91. (In Russian)
16. Ker J.W., Smith J.H.G. Advantages of the parabolic expression of height-diameter relationships. *For. Chron.*, 1955, vol. 31, no. 3, pp. 236–246. <https://doi.org/10.5558/tfc31236-3>.
17. Duangsathaporn K., Sangram N., Omule Y., Prasomsin P., Palakit K., Lumyai P. Formulating equations for estimating forest stand carbon stock for various tree species groups in northern Thailand. *Forests*, 2023, vol. 14, no. 8, art. 1584. <https://doi.org/10.3390/f14081584>.
18. Bornand A., Rehush N., Morsdorf F., Thürig E., Abegg M. Individual tree volume estimation with terrestrial laser scanning: Evaluating reconstructive and allometric approaches. *Agric. For. Meteorol.*, 2023, vol. 341, art. 109654. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2023.109654>.
19. Demakov Yu.P., Puryaev A.S., Chernykh V.L., Chernykh L.V. Using allometric relationships to assess the phytomass of various tree fractions and model their dynamics. *Vestn. Povolzh. Gos. Tekhnol. Univ. Ser.: Les. Ekol. Prirodopol'z.*, 2015, no. 2 (26), pp. 19–36. (In Russian)
20. Good Practice Guidance Land Use, Land-Use Change and Forestry. IPCC National Greenhouse Gas Inventories Programme. Moscow, IPCC, WMO, 2003. 330 p. (In Russian)
21. Nurgaliev D.K., Selivanovskaya S.Yu., Kozhevnikova M.V., Galitskaya P.Yu. Some challenges and opportunities for Russia and regions in terms of the global decarbonization trend. *Georesursy*, 2021, vol. 23, no. 3, pp. 8–16. <https://doi.org/10.18599/grs.2021.3.2>. (In Russian)
22. Bukoski J.J., Cook-Patton S.C., Melikov C., Ban H., Chen J.L., Goldman E.D., Harris N.L., Potts M.D. Rates and drivers of aboveground carbon accumulation in global monoculture plantation forests. *Nat. Commun.*, 2022, vol. 13, no. 1, art. 4206. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31380-7>.
23. Kalachev V.A., Vais A.A., Anuev E.A., Martynova D.O. Phyto mass accumulation and the carbon potential of modal fir stands determination in the conditions of the Krasnoyarsk-Kansk podtaezhno-forest-steppe region. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, 2020, vol. 548, art. 052016. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/5/052016>.

⟨ **Для цитирования:** Зарипов Ш.Х., Тарасова Д.А., Кожевникова М.В., Костерина Е.А. Математическая модель для расчета динамики запасенного углерода в лесном сообществе // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 4. С. 704–723. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.704-723>. ⟩

⟨ **For citation:** Zaripov Sh.Kh., Tarasova D.A., Kozhevnikova M.V., Kosterina E.A. A mathematical model for estimating carbon storage dynamics of forest communities. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 4, pp. 704–723. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.704-723>. (In Russian) ⟩

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

УДК 551.5

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.724-747

МЕТЕОРОЛОГИЯ И КЛИМАТОЛОГИЯ В КАЗАНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ: К 190-ЛЕТИЮ ГИДРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ РОССИИ

Ю.П. Переведенцев, Н.А. Мирсаева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

Рассмотрена история метеорологических и климатических исследований в Казанском университете с 1812 г. Показана роль профессора А.Я. Купфера в создании в 1834 г. гидрометеорологической службы России. Представлен анализ достижений Казанской метеорологической школы в следующих основных направлениях: исследование глобальных и региональных климатических изменений, циркуляционных систем, динамики и структуры атмосферы до высоты 80 км. Дана оценка влияния погодно-климатических факторов на сельское хозяйство, ветроэнергетику, отопительный период, здоровье населения. Показано, что в Казани годовые температуры начиная с 1871 г. повысились с 3.1 до 5.7 °С, летние – с 18.1 до 19.7 °С, зимние – с –12.6 до –8.7 °С. Современное потепление климата началось в Казани раньше (1946 г.), чем в целом в Северном полушарии (1970 г.). При этом годовой вклад процессов, происходящих в Северном полушарии, в локальные изменения температуры в Казани составил 63 %, летом 27 % и зимой 43 %. С использованием сценариев изменения климата под влиянием антропогенных факторов (проект CMIP6) получены данные об изменениях температуры воздуха в Казани на протяжении всего XXI столетия.

Представлены результаты анализа долгопериодных изменений температуры и осадков как на территории Среднего Поволжья и Предуралья, так и в России в целом. Выявлена тенденция повсеместного потепления климата в последние десятилетия.

Отмечен вклад казанских метеорологов в исследование динамики макромасштабных атмосферных процессов от поверхности земли до высоты 80 км. Дана оценка агроклиматическим и биометеорологическим характеристикам Республики Татарстан и Приволжского федерального округа (ПФО) в целом.

Ключевые слова: атмосфера, метеорологические наблюдения, климат, климатические тенденции, циркуляционные системы, прикладные показатели.

Введение

В 2024 г. в нашей стране отмечается 190-летие основания Гидрометеорологической службы России, созданной для проведения регулярных наблюдений за состоянием атмосферы и гидросферы, для прогнозирования погоды, климата и загрязнения окружающей среды в интересах сохранения здоровья населения и развития различных отраслей экономики, в первую очередь сельского хозяйства. Этому событию посвящен Всероссийский метеорологический съезд, который состоялся в колыбели отечественной гидрометеорологии –

г. Санкт-Петербурге в октябре 2024 г. Важно отметить, что метеорологическая служба была создана в России в 1834 г. по проекту, разработанному профессором Казанского университета А.Я. Купфером.

В связи с этим рассмотрим вкратце историю и результаты метеорологических наблюдений и климатических исследований в Казани и Казанском университете в XVIII–XXI вв., базирующихся на статистической обработке многолетних данных.

Первые метеорологические наблюдения в Казани связаны с проведением Второй Камчатской экспедиции (1733–1743 гг.) под руководством В. Беринга. В этот период на базе городской гимназии ученые-академики организовали наблюдения за температурой воздуха, атмосферным давлением и метеорологическими явлениями, которые проводились учителями гимназии В. Григорьевым и С. Куницыным. Казань была первым городом, в котором участники экспедиции организовали метеостанцию. Всего их было основано 20, в том числе в Екатеринбурге, Тюмени, Томске, Охотске и др. Это была первая попытка создания метеорологической сети станций в России [1].

Регулярные же метеорологические наблюдения в Казани ведут свой отсчет с января 1812 г., т. е. с момента образования при Казанском университете по инициативе профессора Ф.К. Броннера Метеорологической обсерватории. По давности непрерывных наблюдений она занимает третье место в России (в Санкт-Петербурге регулярные наблюдения начались с 1743 г., а в Москве – с 1799 г.). Ф.К. Броннером была написана и первая научная статья по результатам метеорологических наблюдений в Казани за 1814 г. [2], положившая начало климатическим исследованиям в Казанском университете.

Следует отметить, что данные метеорологических наблюдений с давних времен использовались в сельском хозяйстве, мореплавании и медицине. Так, профессор К. Фукс оставил свидетельства того, как неблагоприятные погодные процессы влияли на состояние здоровья жителей Казани в начале XVIII в. Особо его интересовали простудные заболевания в холодные зимние периоды.

В 1823 г. в Казанский университет на должность заведующего кафедрами химии и физики был приглашен доктор философии, специалист по кристаллографии и минералогии А.Я. Купфер (рис. 1) [3]. В своей творческой и организационной деятельности он пользовался советами знаменитых ученых Европы – А. Гумбольдта, К. Гаусса и Д. Араго. Непосредственно под руководством А.Я. Купфера проводились геомагнитные и метеорологические наблюдения, результаты которых с 1828 по 1831 г. были опубликованы в его книге “Voyage dans l’Oural”.

В казанский период своей жизни А.Я. Купфер разработал основные положения по созданию метеорологической службы России, с которыми ознакомил А. Гумбольдта. Свое мнение об этом Гумбольдт выразил в ответном письме: «Вашу организацию метеостанций я считаю одним из самых выдающихся предприятий, задуманных когда-либо для успешного изучения атмосферы» [4]. В дальнейшем А. Гумбольдт поддерживал А.Я. Купфера в создании метеорологического центра России – Главной физической обсерватории в Санкт-Петербурге.



Рис. 1. Адольф Яковлевич Купфер

В связи с избранием действительным членом Петербургской академии наук в 1829 г. А.Я. Купфер переезжает в Санкт-Петербург и в 1833 г. представляет в Министерство финансов и горное ведомство «Проект учреждения системы метеорологических и магнитных наблюдений в России». В апреле 1834 г. в России был принят закон об основании постоянно действующей системы метеорологических и магнитных наблюдений. Поэтому 1834 г. считается годом основания метеорологической службы России (ныне Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (Росгидромет)). В 1849 г. А.Я. Купфер был назначен директором Главной физической обсерватории (ныне Главная геофизическая обсерватория имени А.И. Воейкова), созданной по его инициативе для проведения метеорологических и климатических исследований в России. Здесь он наметил основные направления развития отечественной метеорологии, актуальные и по сей день [1, 5].

В период с 1829 по 1833 г. Метеорологической обсерваторией при Казанском университете непосредственно руководил ректор Н.И. Лобачевский. По его инициативе впервые в России в 1830-х гг. начались измерения температуры почв и грунтов на глубине. Наблюдения проводились по ртутным термометрам, вмонтированным в стенку колодца на различной глубине [6].

В свою программу курсов физики и чистой математики Н.И. Лобачевский ввел пункт «О метеорологических наблюдениях». Он уделял большое внимание оснащению Метеорологической обсерватории приборами и активно участвовал в организации метеонаблюдений в Казанском учебном округе. Будучи ректором, Н.И. Лобачевский основал в 1834 г. научный журнал «Ученые записки Казанского университета». Кроме того, он написал примечания к работе А.Я. Купфера «О средней температуре воздуха и почвы в некоторых местах Восточной России» [3].

Большую роль в изучении земного магнетизма, регулярные наблюдения за которым начались в 1824 г. при А.Я. Купфере, сыграл профессор-астроном И.М. Симонов. Итогом работ И.М. Симонова явились научные мемуары «Исследования о магнитном действии Земли». В период своего участия в кругосветном путешествии (антарктическая экспедиция Беллинсгаузена и Лазарева (1819–1821 гг.)) И.М. Симонов провел многочисленные измерения атмосферного давления, температуры и влажности воздуха и опубликовал в 1825 г. статью «О разности температур в Южном и Северном полушариях». Возможно, это была первая работа отечественных ученых на подобную тему [1]. Отметим, что в современный период ряд выпускников кафедры метеорологии, климатологии и экологии атмосферы проводили метеорологические исследования на полярных станциях Антарктиды (Р. Усманов, В. Софронов, А. Котов и др.).

С 1833 г. руководство Метеорологической обсерваторией принял ординарный (штатный) профессор теоретической и опытной физики Э.А. Кнорр, который был рекомендован выдающимся немецким естествоиспытателем и географом А. Гумбольдтом. В 1835 г. он возглавил открывшуюся в университете кафедру физики и физической географии. С целью повышения качества метеорологических наблюдений, проводимых учителями Казанского учебного округа, Э.А. Кнорр впервые разработал специальное «Наставление учителям Казанского учебного округа для делания метеорологических наблюдений». Все это способствовало упорядочиванию и системности наблюдений. В 1835 г. Э.А. Кнорр опубликовал в «Ученых записках Казанского университета» статью «Ход температуры в Казани из наблюдений 1833 г.», в которой были приведены данные в том числе и о годовом ходе температуры почвы на глубине 1 м [7].

После отъезда Э.А. Кнорра в 1846 г. в Киевский университет руководство обсерваторией осуществлял профессор физики А.С. Савельев (1846–1855 гг.). В это время были значительно расширены сеть метеорологических станций Казанского учебного округа и программы наблюдений на них.

После А.С. Савельева организационно-методической работой обсерватории руководили профессора И.А. Больцани (1855–1876 гг.), Н.П. Слугинов (1886–1894 гг.) и Д.А. Гольдгаммер (1894–1897 гг.). В период 1864–1875 гг. в Метеорологической обсерватории активно работал приват-доцент И.Н. Смирнов – один из исследователей Курской магнитной аномалии. В период руководства Д.А. Гольдгаммера много внимания уделялось дальнейшему развитию наблюдательской сети. Так, только в Казанской губернии были открыты 23 метеорологические станции. Материалы этих наблюдений печатались в научном журнале «Труды метеорологической сети Востока России», а также высылались за границу в рамках международного сотрудничества.

Результаты регулярных метеорологических наблюдений в Казани нашли свое отражение в известных монографиях по климату России выдающихся российских климатологов XIX в. К.С. Веселовского, Г.И. Вильда и А.И. Воейкова [8–10], в которых впервые была представлена картина изменений температуры, атмосферных осадков и экстремальных погодных условий на обширной территории России.

В 1923 г. на физико-математическом факультете Казанского университета профессор В.А. Ульянин основал кафедру геофизики для подготовки метеороло-

гов, гидрологов и геомагнитологов, сотрудниками которой в 1920–1930-х гг. был выполнен цикл работ по исследованию геомагнитных и климатических процессов в регионе. В этот период кафедра воспитала ряд выдающихся геофизиков – А.А. Логачева, Ю.Д. Калинина, О.А. Дроздова, С.И. Субботина, Ю.П. Булашевича и др., возглавлявших ряд научных учреждений страны.

С 1930-х гг. в период развития отечественной авиации главное внимание на кафедре геофизики под руководством П.Т. Смолякова стало уделяться подготовке метеорологов и исследованию атмосферных и климатических явлений. Поэтому в 1948 г. кафедру геофизики перевели на географический факультет, где она получила новое название – «Кафедра метеорологии и климатологии». Стоит также отметить значительный вклад профессора П.Т. Смолякова в создание структуры Гидрометеорологической службы Татарстана, а также его увлеченность синоптикой.

С 1952 г. в течение 26 лет кафедру метеорологии и климатологии возглавлял профессор Н.В. Колобов, а с 1978 г. этой кафедрой и Метеорологической обсерваторией руководил профессор Ю.П. Переведенцев. В связи с возросшей необходимостью изучения состояния окружающей среды кафедра с 1995 г. стала называться кафедрой метеорологии, климатологии и экологии атмосферы. С 2020 г. кафедру возглавляет доцент Н.А. Мирсаева. За 100-летний период своего существования данная кафедра подготовила около 2000 специалистов-метеорологов для обслуживания народного хозяйства страны. Среди выпускников кафедры более 150 человек получили ученую степень доктора и кандидата наук, а также удостоены государственных наград – это В.П. Иванов, Б.Г. Шерстюков, М.О. Френкель, Р.А. Ягудин, И.В. Грищенко, К.Ш. Хайруллин и многие другие.

Анализируя научно-исследовательскую работу кафедры за длительный период, можно выделить четыре основных направления ее деятельности: климатические исследования, изучение циркуляционных систем атмосферы, изучение структуры и динамики средней атмосферы до высоты 80 км, прикладные исследования.

Климатические исследования

Первые климатические исследования носили региональный характер. Так, в работах [11–16] представлено описание климатических процессов, происходящих на территории Казани, Республики Татарстан и Среднего Поволжья начиная с XX в. В них показана динамика основных климатических показателей до середины 1970-х гг., т. е. до начала так называемого современного глобального потепления климата.

Проблема происходящих и ожидаемых глобальных и региональных изменений климата и их последствий стала новым вызовом для человечества. Современное состояние этой проблемы и оценки будущих климатических изменений на планете и в ее регионах до конца XXI в. представлены в 6-м оценочном докладе Межправительственной группы экспертов по изменению климата (2021 г.) [17] и 3-м оценочном докладе Росгидромета (2022 г.) [18]. Повышение глобальной приповерхностной температуры сопровождается быстрым ростом числа природных катастроф, в первую очередь вследствие гидрометеорологических аномалий [19]. С целью сохранения климата планеты в 2015 г. многими странами подписаны так называемые Парижские соглашения, в основу которых

положен постулат об ограничении выбросов парниковых газов в атмосферу. В последние годы состоялся ряд международных конференций с обсуждением широкого круга вопросов по снижению антропогенного воздействия на климатическую систему, адаптации социально-экономических систем к происходящим и будущим климатическим изменениям [20, 21].

Рассмотрим результаты климатических исследований, выполненных в последние десятилетия при поддержке грантов РФФИ и РНФ [22–39].

Исходный материал и методы исследований

Анализ современных глобальных и региональных изменений климата выполнен с привлечением данных о приземной температуре воздуха (ТВ) по всему земному шару (1850–2021 гг.) университета Восточной Англии (данные CRU) [40, 41], а также данных реанализа ERA5 (1979–2020 гг.). Расчеты произведены с использованием данных о ТВ атмосферных осадков 183 метеостанций за 1966–2018 гг., расположенных в Поволжье и Предуралье, из фонда Всероссийского научно-исследовательского института гидрометеорологической информации – Мирового центра данных, результатов многолетних метеорологических наблюдений на метеостанции Казань-университет (1828–2021 гг.) и 20 длиннорядных метеостанциях на территории Приволжского федерального округа (ПФО) (1888–2021 гг.).

Многолетние ряды данных подвергали статистической обработке. Рассчитывали средние значения, средние квадратические отклонения, коэффициенты наклона линейного тренда (КНЛТ), вклад линейного тренда в дисперсию температуры. Было выделено шесть тридцатилетних периодов: 1841–1870, 1871–1900, 1931–1960, 1961–1990, 1991–2020 гг. Эти базовые периоды приняты Всемирной метеорологической организацией для оценки изменчивости климата.

Выделение низкочастотной компоненты в исходных рядах для анализа долгопериодных колебаний ТВ проводили с помощью низкочастотного фильтра Поттера. Достоверность результатов оценивали с помощью критерия Фишера [30].

Временные климатические изменения

Определены изменения ТВ за тридцатилетние периоды в Казани, как это рекомендует ВМО, что позволяет проследить за динамикой климатических изменений. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что начиная с 1871–1900 гг. осредненные за этот период годовые ТВ повысились к периоду 1991–2020 гг. с 3.1 до 5.7 °C, летние – с 18.1 до 19.7 °C, зимние – с –12.6 до –8.7 °C. И если годовые ТВ, начиная с 1871 г., повышались однонаправленно, то летние понижались на 0.3 °C в 1961–1900 гг., а зимние – на 0.05 °C в 1931–1960 гг. Как и следовало ожидать, за весь период наибольшее повышение температуры произошло в самом холодном месяце года – январе (на 4.8 °C). В июле (самом жарком месяце года) рост ТВ составил лишь 1.4 °C. Заключительное тридцатилетие (1991–2020 гг.) оказалось заметно теплее всех предыдущих во все месяцы. Необходимо обратить внимание на то обстоятельство, что период 1871–1900 гг. проявил себя как наиболее холодный не только в Казани, но и в Москве, и в целом по территории России. Согласно выполненным корреляционным оценкам, изменения темпера-

туры в Казани тесно связаны с изменениями ТВ на остальных станциях ПФО, что позволяет сделать вывод о характере климатических изменений за столь длительный период по региону в целом: современное потепление наиболее ярко проявляется в зимний период.

Для оценки временной изменчивости температурного ряда рассчитана амплитуда годового хода (A) как разность между наибольшими и наименьшими значениями средней месячной ТВ в конкретном ряду. На рис. 2 представлен многолетний ход колебаний годовой амплитуды ТВ в период 1828–2021 гг. Величина амплитуды ТВ убывала по линейному тренду со скоростью $0.12\text{ }^{\circ}\text{C}/10\text{ лет}$. Ее среднее значение в этот период составило $34.7\text{ }^{\circ}\text{C}$, при этом она уменьшилась за 194 года наблюдений с 36.0 до $33.6\text{ }^{\circ}\text{C}$, что свидетельствует об ослаблении континентальности регионального климата. В период 1901–2000 гг. аномально теплые годы характеризуются меньшими амплитудами годового хода ТВ.

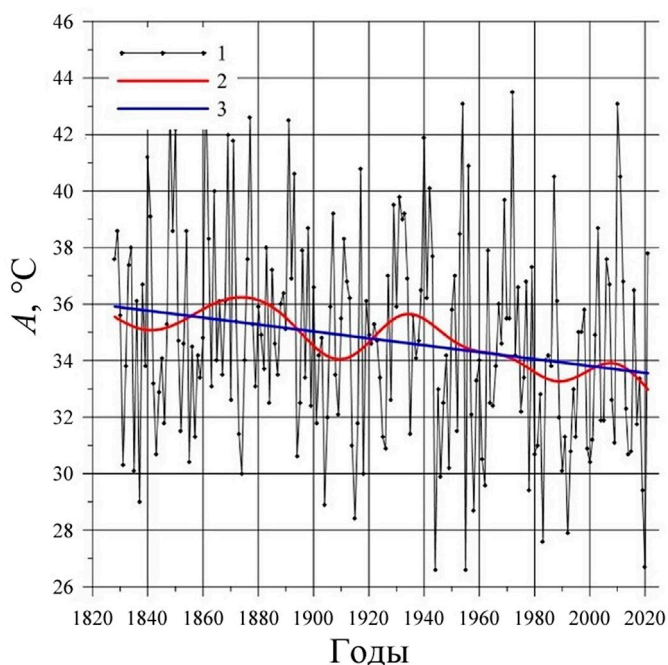


Рис. 2. Распределение годовой амплитуды колебаний температуры воздуха в Казани за 1828–2021 гг. (1 – исходный ряд, 2 – низкочастотная компонента, 3 – линейный тренд)

Сравнение многолетнего хода аномалий приземной ТВ, рассчитанных от нормы базового периода 1961–1990 гг. по данным метеостанций Казань-университет и всего Северного полушария (данные CRU) (рис. 3), показывает, что в обоих случаях, согласно линейному тренду, наблюдается потепление климата в целом за год и по сезонам.

Однако кривая низкочастотной компоненты температуры показывает, что годовое потепление началось в Казани в 1946 г., а в Северном полушарии активная фаза повышения температуры воздуха началась в 1970 г. Летнее потепление в Казани идет с 1980 г. (в период 2015–2021 гг. оно затормозилось, и ТВ за 6 лет понизилась на $0.15\text{ }^{\circ}\text{C}$), в Северном полушарии температура растет с 1971 г. Зимнее потепление в Казани началось в 1968 г. и продолжается по настоящее время

(за исключением небольшого периода 1995–2004 гг.), а в Северном полушарии зимние температуры устойчиво повышаются с 1970 по 2021 г.

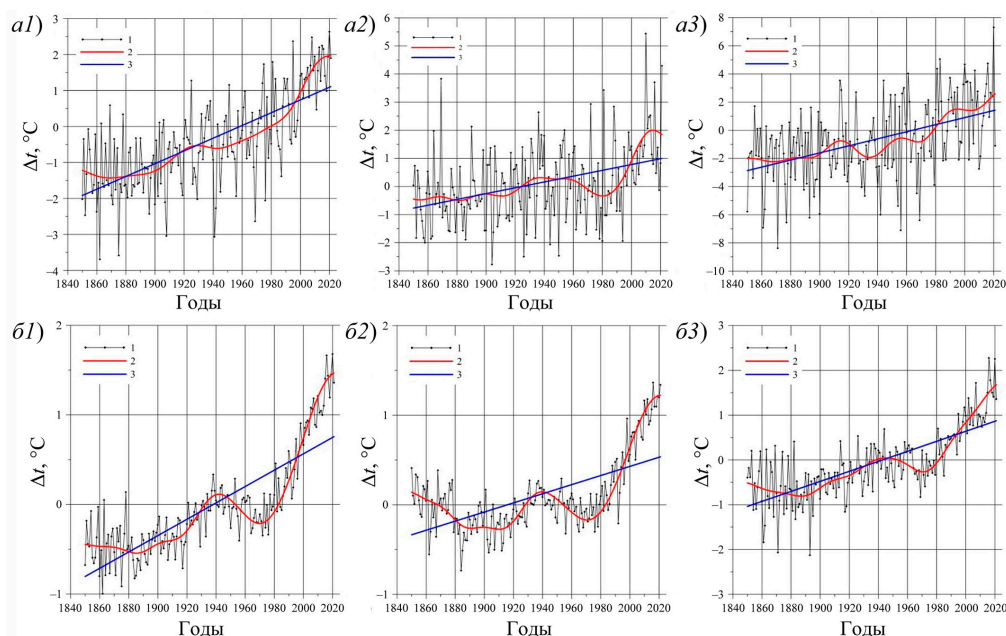


Рис. 3. Многолетний ход аномалий температуры воздуха в Казани (а) и в Северном полушарии (б) за год (а1 и б1), лето (а2 и б2), зиму (а3 и б3). 1 – исходный ряд, 2 – низкочастотная компонента с периодом более 35 лет, 3 – линейный тренд. Цит. по [39]

Таким образом, современное потепление климата в Казани по срокам не совпадает с аналогичными показателями по Северному полушарию, однако тенденция регионального потепления четко прослеживается с середины XX столетия. При этом в период современной фазы активного потепления (1970–2021 гг.) значения КНЛТ повсеместно существенно возрастают. Поэтому за этот период среднегодовая ТВ в Казани повысилась на 2.6 °C, что вдвое превышает прирост осредненной температуры по всему Северному полушарию. При этом зимние температуры повышаются значительно больше, чем летние. Так, в Казани в этот период летняя ТВ повысилась на 2.6 °C, а зимняя – на 3.4 °C. В целом же по Северному полушарию зимняя ТВ повысилась на 1.4 °C, а летняя – на 1.3 °C.

Данные, представленные на рис. 4, показывают существенные различия в характере долгопериодных изменений ТВ в Казани (рис. 4, а) и в Северном полушарии (рис. 4, б) в 1850–2020 гг. Так, в Северном полушарии с 1910 г. происходит четкое чередование периодов похолодания и потепления независимо от месяцев года, а с середины 1970-х гг. установился длительный период потепления. В Казани картина менее устойчива, особенно сильные по интенсивности колебания низкочастотной компоненты происходят в холодный период года, в частности в ноябре. Тем не менее тенденция к потеплению климата все сильнее проявляется в большинстве месяцев в последние десятилетия.

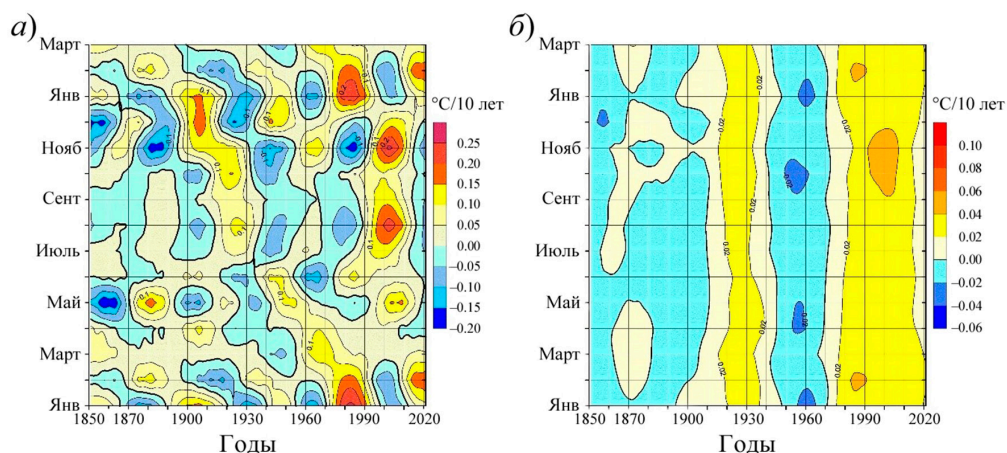


Рис. 4. Распределение первых разностей низкочастотной компоненты температуры воздуха в Казани (а) и в Северном полушарии (б). Цит. по [39]

Для оценки влияния климатических изменений, происходящих в Северном полушарии, рассчитаны коэффициенты корреляции между ТВ метеостанции Казань-университет и приповерхностной ТВ суши Северного полушария за 1850–2021 гг. Наиболее тесные связи устанавливаются для зимнего периода (в январе $r = 0.68$). Величина коэффициента детерминации R^2 (%) показывает вклад процессов, происходящих в Северном полушарии, в локальные изменения ТВ в Казани. Так, годовой вклад достигает 63 %, летом 27 %, а зимой 43 %.

Для оценки будущих значений ТВ по сезонам для Казани были использованы результаты ансамблевых расчетов 40 моделей CMIP6. При наиболее вероятном сценарии ssp245 ТВ к концу столетия с периода 2021–2040 гг. повысятся зимой от -8.95 до -6.07 °C, весной от 5.40 до 7.77 °C, летом от 19.75 до 21.87 °C, осенью от 6.19 до 8.37 °C и в целом за год от 5.6 до 8.0 °C. Высокие темпы потепления ожидают Казань в случае реализации наиболее жесткого (но маловероятного) сценария (радиационный форсинг -8.5 Вт/м²). В этом случае годовая ТВ повысилась бы в Казани до 11.5 °C.

Рассмотрим многолетние колебания осредненной ТВ по данным 20 метеостанций ПФО за 1888–2020 гг. в сравнении с колебаниями ТВ Северного полушария в зимний и летний периоды (рис. 5) [30]. Как видно из рис. 5, за 133-летний период зимняя ТВ в ПФО повысилась на 4.6 °C. Особенно заметные ее изменения произошли в период глобального потепления 1970–2020 гг., когда она повысилась на 3.5 °C. В более ранний период (1888–1970 гг.) циклические колебания ТВ на территории ПФО были обусловлены циркуляционными и местными факторами. В летний период отмечаются значительные квазисинхронные колебания ТВ как в ПФО, так и в Северном полушарии (рис. 5, б). Выделяется максимум ТВ, приходящийся на 1940 г. и связанный с естественной причиной (атмосфера в начале XX в. была более прозрачной для солнечной радиации ввиду ослабления вулканической деятельности), а начиная с середины 1970-х гг. отмечается повсеместное интенсивное потепление. Более детальный анализ показывает, что современное потепление наступило на различных станциях ПФО не за один год. Так, большие различия наблюдаются между юго-западом и северо-востоком округа.

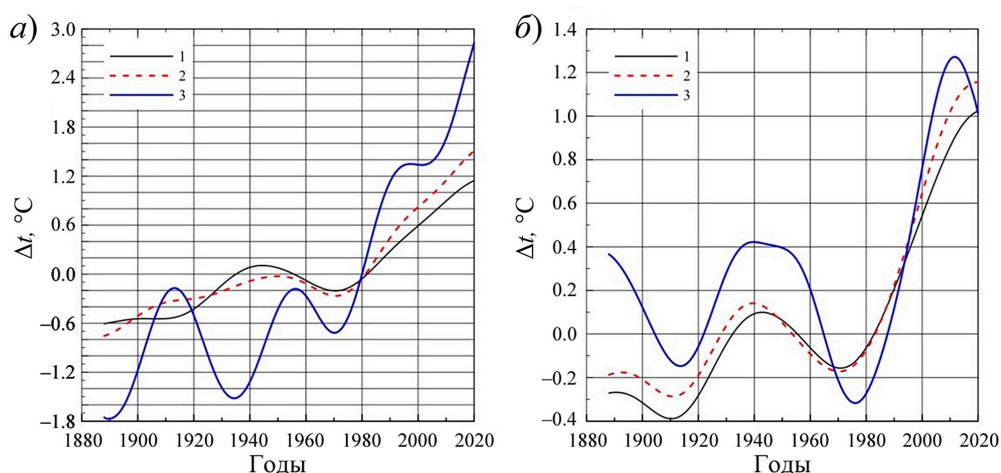


Рис. 5. Межгодовое распределение низкочастотной компоненты аномалии осредненной зимней температуры воздуха (а) и многолетний ход низкочастотной компоненты аномалий средних летних температур воздуха с периодом более 25 лет (б) в Северном полушарии (1), на суше Северного полушария (2) и в ПФО (3)

Следует отметить, что на кафедре метеорологии, климатологии и экологии атмосферы ведутся исследования современных климатических изменений не только на территории ПФО [42], но и в целом на территории России. Так, в работе [24] построены карты линейных трендов ТВ и атмосферных осадков для центральных месяцев сезонов и годовых значений для всей территории России по данным 1251 станции для двух периодов: 1976–2019 и 2001–2019 гг., что позволило получить пространственно-временные тенденции изменения ТВ и осадков.

Тренды среднегодовой температуры свидетельствуют об умеренном потеплении климата практически на всей территории России. Наиболее интенсивно оно происходит на арктическом побережье азиатской части России и прилегающих островах. Так, в районе полуострова Таймыр КНЛТ достигает значения $1.2\text{ }^\circ\text{C}/10\text{ лет}$. При этом в центральной и северной частях Сибири потепление более выражено, чем в *европейской части России*, где выделяются Карелия и юго-запад Центрального федерального округа (КНЛТ = $0.60\text{--}0.79\text{ }^\circ\text{C}/10\text{ лет}$). Тренды, построенные по годовым значениям сумм осадков за период 1976–2019 гг., свидетельствуют об увеличении количества осадков на большей части территории России. Так, на побережье Охотского моря КНЛТ $> 25\text{ мм}/10\text{ лет}$. Уменьшение сумм осадков наблюдается в центре и на юге *европейской части России*, на Северном Кавказе, где КНЛТ $\sim 10\text{--}14\text{ мм}/\text{год}$. Небольшие очаги с уменьшением количества осадков отмечаются на острове Новая Земля, юге Средней Сибири и северо-востоке Чукотки.

Результаты исследований современных региональных климатических изменений и их последствий обобщены в коллективной монографии [43], изданной в 2024 г. при поддержке всероссийской акции «Золотые имена высшей школы».

Циркуляция атмосферы

Общая циркуляция атмосферы представляет собой составную часть климатической системы и является важнейшим природным фактором, определяющим динамику погодно-климатических процессов. В отечественной метеорологии общую циркуляцию атмосферы понимают и как систему крупномасштабных воздушных течений [44], и как «статистический ансамбль крупномасштабных компонент состояний атмосферы» [45]. Второе определение близко по своему смыслу к определению земной климатической системы.

К числу первых работ по общей циркуляции атмосферы, выполненных учеными Казанского университета, относятся теоретические статьи профессора П.Т. Смолякова, посвященные проблемам дрейфовой циркуляции атмосферы и вихревым движениям [46]. В них автор трактовал возникновение восточных ветров в стратосфере с позиции отставания верхней атмосферы в своем вращении от нижней из-за ослабления атмосферной вязкости.

Начиная с 1960-х гг. главное внимание сотрудников кафедры (Н.В. Колобов, Р.Р. Хайруллин, М.А. Верещагин, Э.П. Наумов, В.Д. Тудрий) было направлено на изучение режима циклоничности и антициклоничности в системе общей циркуляции атмосферы в интересах долгосрочного прогнозирования метеорологических процессов. Основное внимание при этом уделялось изучению географического распределения, повторяемости во времени, интенсивности макровихрей и их вклада в погодные и климатические процессы [47–50]. В последующем в работах Ю.П. Переведенцева, К.М. Шанталинского, В.В. Гурьянова, Н.В. Исмагилова и др. [23, 28, 34] была исследована долгопериодная изменчивость зональной циркуляции в тропосфере и стратосфере Северного полушария. С помощью спектрального анализа определены циклы колебаний различной продолжительности – от двух декад до десятилетий. Выявлена зависимость зональной циркуляции от солнечной активности и фазы квазидвухлетнего цикла экваториальной стратосферной циркуляции, а также установлено влияние зимних стратосферных потеплений на структуру и динамику макроциркуляционных процессов и дана оценка вертикальному взаимодействию между циркуляционными процессами тропосферы и стратосферы [26, 29, 51].

В работе [22] представлен анализ пространственно-временной динамики атмосферного давления и температуры в нижнем слое атмосферы Северного полушария за длительный период времени – с 1900 по 2014 г. (115 лет). Выявлены аномалии в полях давления и температуры за тридцатилетние периоды, а также оценена динамика низкочастотной составляющей термодинамических параметров в Исландском и Алеутском минимумах и Азорском и Гонулульском максимумах. Выявлен противофазный характер временного хода давления в районах Исландской и Алеутской депрессий.

В работе [28] показана ведущая роль зональной циркуляции атмосферы в долгопериодной изменчивости температуры воздуха в слое тропосферы от Земли до 5 км. Согласно результатам корреляционного анализа 60 % изменчивости ТВ определяются скоростью зонального потока.

В обобщающей монографии [53] представлен анализ пространственно-временной изменчивости полей скорости ветра, температуры воздуха и

атмосферного давления в тропосфере и стратосфере за длительный период (1900–2014 гг.) на территории Северного полушария и динамики волновой деятельности до высоты 65 км.

Структура и динамика средней атмосферы

В последние десятилетия в связи с широким использованием радиозондов, ракет и спутников для мониторинга состояния атмосферы до больших высот появилась возможность исследовать физические процессы в тропосфере, стратосфере, мезосфере и термосфере с позиции единой динамической системы. Первой выполненной на кафедре метеорологии и климатологии крупной работой по изучению структуры, динамики и энергетики атмосферы до высоты 60 км была монография [52]. В более поздней работе [23] отмечена временная тенденция повышения температуры в тропосфере, понижения в нижней и средней стратосфере, а в районе стратопauзы – вновь повышения. Выявлена восьмилетняя цикличность колебаний температуры в слое 45–60 км. Влияние океанической поверхности на температуру воздуха сказывается лишь до уровня тропопauзы. Эти результаты получены путем обработки данных реанализа ERA-Interim до уровня 64 км в период активной фазы современного потепления климата (1979–2016 гг.), согласно которым температуры в нижней тропосфере и в толще стратосферы меняются в противофазе. Кроме того, выявлен интересный факт: после извержений вулканов Эль-Чичон и Пинатубо происходит кратковременное понижение ТВ у земли и повышение температуры в нижней стратосфере.

В работах [26, 29] рассмотрены изменения термического режима в тропосфере, стратосфере и мезосфере северной полярной зоны (68–90° с. ш.) в период 1979–2019 гг. на основе данных о температуре воздуха и геопотенциале. Оценены средние значения ТВ, средние квадратические отклонения, нормированные аномалии и линейные тренды температуры, низкочастотные компоненты до высоты 80 км. Анализ полученных статистических характеристик позволил оценить интенсивность потепления климата в арктической тропосфере и похолодания в стратосфере и мезосфере, выявить корреляционные связи между соседними уровнями. Кроме того, рассмотрены особенности весенних перестроек циркуляции стратосферы в зависимости от солнечной активности и внезапных стратосферных потеплений в условиях полярной ночи. Показано, что арктическая осцилляция наиболее эффективно воздействует на ТВ нижней стратосферы в зимний период.

В работах [51, 53] представлен анализ волновой активности и ее изменений в тропосфере и стратосфере Северного полушария зимой 1979–2016 гг., показавший связь осредненных по спектру периодов волн с активностью внезапных стратосферных потеплений.

Прикладные исследования

Как известно, погодно-климатические факторы оказывают основное влияние на сельское хозяйство. Поэтому многие годы климатические исследования на кафедре метеорологии, климатологии и экологии атмосферы направлены на

оценку происходящих климатических изменений и их последствий для агроферы. Так, в монографиях [11, 14, 54–56] основное внимание уделено изучению тепло- и влагообеспеченности вегетационного периода в Республике Татарстан, а также условий формирования засух, наносящих значительный ущерб основным сельскохозяйственным культурам. В работах [55, 57] рассмотрена динамика снежного покрова на территории Татарстана во второй половине XX столетия.

Агроклиматические условия более современного периода (1966–2021 гг.) нашли свое отражение в статьях [30, 31], в которых показано, что вегетационный период на территории Татарстана (переход средней суточной температуры воздуха через 10°C) на юге наступает на 122-е сутки от начала года, а на севере – на 126-е сутки. Сумма положительных температур активной фазы вегетационного периода на территории Республики Татарстан изменяется от 2319 до 2476 $^{\circ}\text{C}$, а сумма осадков возрастает от 227 мм на юго-западе до 262 мм на востоке (Бугульминско-Белебеевская возвышенность). При этом скорость прироста продолжительности вегетационного периода растет с запада на восток от 0.6 до 3.4 сут/10 лет, сумма температур увеличивается со скоростью от 51.1 до 77.6 $^{\circ}\text{C}/10$ лет, сумма осадков на западе растет со скоростью 5.7 мм/10 лет, а на востоке убывает со скоростью 1.9 мм/10 лет. В целом почвенные и климатические условия наиболее благоприятны для развития сельского хозяйства в юго-западных и южных районах Республики Татарстан.

Для характеристики увлажненности территории по ежедневным данным 13 метеостанций Татарстана были рассчитаны индексы сухости Будыко, гидротермический коэффициент Селянинова и коэффициент увлажненности Сапожниковой [27, 32]. Индекс сухости в летний период изменяется по территории Татарстана от 2.70 (метеостанция Казань) до 3.16 (метеостанция Кайбицы), гидротермический коэффициент – от 0.96 (метеостанция Кайбицы) до 1.16 (метеостанция Бугульма), величина коэффициента увлажненности – от 0.84 (метеостанция Муслимово) до 1.03 (метеостанция Бугульма), что свидетельствует в целом о сбалансированности прихода и расхода влаги. При этом значения КНЛТ имеют положительный знак для индекса сухости и отрицательный для гидротермического коэффициента и коэффициента увлажненности, что указывает на слабую тенденцию увеличения засушливости в регионе. Установлена количественная зависимость урожайности зерновых культур от температурно-влажностного режима в мае – июне [31]. При этом, как показывает корреляционный анализ, в апреле – июне устанавливается значимая отрицательная связь между фотосинтетически активной радиацией и урожайностью яровой пшеницы. Это свидетельствует о том, что повышенный радиационный фон весеннего периода не благоприятствует росту урожайности этой важной сельскохозяйственной культуры.

Оценка климатических ресурсов и прикладных показателей климата на территории ПФО и Республики Татарстан представлена в двух коллективных монографиях [42, 55]. В них получены характеристики отопительного периода для ПФО и РТ, дана оценка затрат энергии на обогрев и охлаждение зданий. Установлена высоконадежная тесная отрицательная связь между изменениями дат устойчивого осеннего перехода среднесуточной температуры через 8°C и продолжительностью отопительного периода. Показано, что основным источником указанной связи является большая устойчивость дат весеннего

перехода среднесуточной температуры через 8 °С по сравнению с устойчивостью дат осеннего перехода. Как следствие, ранний осенний переход температуры через 8 °С сопровождается увеличением продолжительности отопительного периода, и наоборот [58].

В настоящее время в России и за рубежом много внимания уделяется проблеме использования энергии солнца и ветра в качестве альтернативных источников энергии. В работе [53] проанализировано распределение на территории ПФО энергетической мощности ветрового потока на высоте 100 м. Установлено, что наиболее благоприятные условия для постройки ветровых электростанций складываются в районе Чебоксар, Бугульмы и Саранска, где удельная мощность ветрового потока достигает 80 Вт/м². Ветроэнергетические установки на территории Татарстана рентабельно устанавливать в районе Бугульминско-Белебеевской возвышенности, где ведется добыча нефти и средняя скорость ветра на высоте 10 м в октябре – апреле порядка 5 м/с.

Характеристики биоклимата на территории ПФО и Республики Татарстан рассмотрены в работах [43, 53]. Эта проблема неразрывно связана с обеспечением жизнедеятельности и здоровья человека, с качеством окружающей среды и оценкой ее рекреационных условий. В России для оценки биоклиматического потенциала территории, повторяемости экстремальных погодных условий широко используются такие показатели, как эквивалентно-эффективная температура, индекс влажного ветрового охлаждения по Хиллу, индекс суровости погоды по Бодману, суммарный метеорологический индекс патогенности и др. Последний индекс позволяет выделить три класса погодных условий: оптимальные (комфортные), раздражающие и острые. При расчете индекса патогенности учитываются межсуточные перепады температуры и атмосферного давления, сведения об облачности, ветре и влажности воздуха. Выполненные расчеты свидетельствуют о том, что в летний период на территории ПФО эффективная температура имеет тенденцию к росту, зимой чаще встречаются условия мало суровой и умеренно суровой погоды. При этом прослеживается четко выраженная тенденция смягчения зимних условий в последние десятилетия. Анализ индекса патогенности показал, что наиболее комфортные условия погоды на территории ПФО складываются в теплое время года с мая по август, раздражающие – в переходные месяцы года, а суровые – с ноября по февраль. Вместе с тем следует отметить, что в летний период в условиях жары и засухи возникают экстремальные погодные условия. Примером этого является экстремальная засуха 2010 г. на территории европейской части России, когда в Казани температура воздуха в условиях волны жары достигла 39.6 °С, что привело к росту числа смертей среди населения Татарстана и других регионов европейской части России. Согласно построенным трендам рассмотренных биометеорологических показателей в период 1966–2019 гг. происходит повышение комфортности биоклимата на территории ПФО.

Также в нашей работе рассмотрены метеорологические условия горимости леса, что позволило оценить степень пожароопасности на территории ПФО [37]. Выявлена тенденция увеличения лесных площадей, пройденных пожарами в последние десятилетия [37].

Заключение

Таким образом, кратко представленная в настоящей статье 200-летняя история возникновения и развития метеорологических и климатических исследований в Казанском университете свидетельствует о значительном вкладе казанских ученых в создание организационных и методических основ Гидрометеорологической службы России, а также об их заметном вкладе в науку об атмосфере и климате. И если первые исследования казанских метеорологов базировались на использовании локальных наблюдений за разнообразными метеорологическими явлениями, то в настоящее время сотрудники нашей кафедры имеют возможность использовать материалы глобальной сети метеорологических, аэрологических и космических наблюдений, что значительно расширяет диапазон научных и прикладных исследований. Поэтому в 2019 г. на базе Казанского федерального университета состоялось совещание авторов специального доклада Межправительственной группы экспертов по изменению климата об океане и криосфере из 37 стран мира с целью оценки влияния изменений современного климата на динамические и биологические процессы в Мировом океане и на состояние морских полярных льдов, горных ледников и зоны вечной мерзлоты.

Плодотворная научная работа в области науки о климате и атмосфере казанских ученых отмечена в обзорной статье ведущих специалистов России «Российская наука и современная климатология: к 300-летию Российской академии наук» [59]. Действительно, за длительный период представителями Казанской метеорологической школы был опубликован ряд монографий, посвященных изучению динамики атмосферы и климата Казани, Республики Татарстан, различных регионов России. Результаты научных исследований нашли свое отражение в процессе подготовки высококвалифицированных кадров для гидрометеорологической службы и представлены в многочисленных учебных пособиях по климату, циркуляции атмосферы, синоптике, геоэкологии и т. д., а также на многочисленных международных научных конференциях. Эти достижения неоднократно отмечались наградами на всесоюзных, всероссийских и внутри-университетских конкурсах научных работ в 1980–2022 гг.

Отмеченные в настоящей статье многолетние исследования проводились в рамках международных всесоюзных и всероссийских научных программ по исследованию процессов в средней атмосфере (МАП ГЛОБМЕТ), по мониторингу глобальных и региональных изменений атмосферной циркуляции и климата и их прогнозированию при поддержке грантов УРФИ, РФФИ и РНФ. Следует также отметить плодотворное сотрудничество кафедры метеорологии, климатологии и экологии атмосферы с рядом ведущих университетов страны и зарубежья, научными учреждениями РАН, АН РТ и Росгидромета.

В связи с продолжающимся глобальным потеплением климата под влиянием антропогенного фактора в России предпринята попытка создания сети карбоновых полигонов с целью оценки эмиссии парниковых газов. Сотрудники кафедры принимают деятельное участие в работе экологов Казанского федерального университета по мониторингу состояния природной среды в загородной зоне Казани. Сравнение полученных данных метеоизмерений с данными метеостанции Казань-университет позволит оценить роль крупного города в создании микроклимата мегаполиса.

Безусловно, главное внимание метеорологов Казанского федерального университета в ближайшем будущем будет уделено оценке климатических изменений, происходящих на территории России и Республики Татарстан на фоне глобальных климатических процессов, их последствий для природных и социально-экономических систем, в первую очередь для сельского хозяйства. Учитывая растущую неустойчивость состояния климатической системы, необходимы оценка рисков экстремальных погодно-климатических явлений и комплексный анализ полей солнечной радиации, общей облачности, температуры воздуха и атмосферных осадков на обширной территории Евразии. С этой целью следует усилить внимание к использованию в научной работе методов математического анализа и моделирования гидрометеорологических процессов, а также опыта ведущих отечественных и зарубежных научных центров.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. *Переведенцев Ю.П.* Метеорология в Казанском университете: становление, развитие, основные достижения. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2001. 127 с.
2. *Броннер Ф.К.* Следствия из метеорологических наблюдений в Казани 1814 г. // Казанские известия. 1815. № 35. С. 200–202.
3. *Монахова Н.И., Альтишулер Н.С., Ларионов А.Л., Аганов А.В., Салахов М.Х.* История физики и астрономии в Казанском университете за 200 лет. Казань: Изд-во Казанского гос. ун-та, 2007. 497 с.
4. *Пасецкий В.М.* Адольф Яковлевич Купфер, 1799–1865. М.: Наука, 1984. 207 с.
5. *Переведенцев Ю.П., Хайруллин К.Ш.* История метеорологических исследований в Казанском университете (к 205-летию основания Метеорологической обсерватории Казанского университета) // Труды Главной геофизической обсерватории имени А.И. Воейкова. 2017. № 584. С. 262–266.
6. Методы оценки последствий изменения климата для физических и биологических систем / под ред. С.М. Семенова. М.: Планета, 2012. 511 с.
7. *Кнорр Е.А.* Ход температуры в Казани по наблюдениям 1833 г. // Учен. зап. Казан. ун-та. 1835. Кн. 1. С. 89–110.
8. *Веселовский К.С.* О климате России. СПб.: Императорская академия наук, 1857. 327 с.
9. *Вильд Г.И.* О температуре воздуха в Российской империи. СПб.: Императорская академия наук, 1882. 393 с.
10. *Воейков А.И.* Климаты земного шара, в особенности России. СПб.: Издание картографического заведения А. Ильина, 1884. 640 с.
11. Агроклиматические ресурсы Татарской АССР. Л.: Гидрометеиздат, 1974. 128 с.
12. *Дроздов О.А.* Снежный покров в Татарской Республике. Казань: Татгосиздат. Сектор с.-х. лит-ры, 1934.
13. Климатические условия Татарской АССР и их использование в сельском хозяйстве. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1962. 264 с.
14. Климат Казани / под ред. Н.В. Колобова, Ц.А. Швер, Э.П. Наумова. Л.: Гидрометеиздат, 1990. 185 с.
15. *Колобов Н.В.* Климат Среднего Поволжья. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1968. 252 с.

16. Смоляков П.Т. Климат Татарии. Казань: Татгосиздат, 1947. 108 с.
17. Masson-Delmotte V., Zhai P., Pirani A., Connors S.L., Pean C., Berger S., Caud N., Chen Y., Goldfarb L., Gomis M.I., Huang M., Leitzell K., Lonnoy E., Matthews J.B.R., Maycock T.K., Waterfield T., Yelekçi O., Yu R., Zhou B. (Eds.) Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2021. 2391 p. <https://doi.org/10.1017/9781009157896>.
18. Третий оценочный доклад об изменениях климата и их последствиях на территории Российской Федерации / под ред. В.М. Катцова. СПб.: Наукоемкие технологии, 2022. 676 с.
19. Мохов И.И. Изменения климата: причины, риски, последствия, проблемы адаптации и регулирования // Вестник РАН. 2022. Т. 92, № 1. С. 3–14. <https://doi.org/10.31857/S0869587322010066>.
20. Гладильщикова А.А., Дмитриева Т.М., Семенов С.М. Специальный доклад Межправительственной группы экспертов по изменению климата «Глобальное потепление на 1.5 °C» // Фундаментальная и прикладная климатология. 2019. Т. 4. С. 5–18. <https://doi.org/10.21513/2410-8758-2018-4-05-18>.
21. Катцов В.М., Хлебникова Е.И., Школьник И.М., Рудакова Ю.Л. Вероятностное сценарное прогнозирование регионального климата как основа разработки адаптационных программ в экономике Российской Федерации // Метеорология и гидрология. 2020. № 5. С. 46–58.
22. Переведенцев Ю.П., Васильев А.А., Шанталинский К.М., Гурьянов В.В. Климатические изменения приземных полей атмосферного давления и температуры воздуха в умеренных широтах Северного полушария // Метеорология и гидрология. 2017. № 7. С. 81–93.
23. Переведенцев Ю.П., Шанталинский К.М., Васильев А.А., Гурьянов В.В. Термический режим в тропосфере, стратосфере и нижней мезосфере Северного полушария в 1979–2016 гг. // Метеорология и гидрология. 2019. № 8. С. 5–20.
24. Переведенцев Ю.П., Васильев А.А., Шерстюков Б.Г., Шанталинский К.М. Климатические изменения на территории России в конце XX – начале XXI в. // Метеорология и гидрология. 2021. № 10. С. 14–26. <https://doi.org/10.52002/0130-2906-2021-10-14-26>
25. Переведенцев Ю.П., Рахимов И.И., Шерстюков Б.Г., Шанталинский К.М. Влияние современных климатических изменений на фенологию и поведение птиц // Гидрометеорология и образование. 2021. № 2. С. 28–46.
26. Переведенцев Ю.П., Шанталинский К.М., Исмаилов Н.В., Гурьянов В.В., Николаев А.А., Аухадеев Т.Р. Термический режим в тропосфере, стратосфере и мезосфере северной полярной зоны в 1979–2019 гг. // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2021. Т. 163, кн. 4. С. 626–642. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2021.4.626-642>.
27. Переведенцев Ю.П., Павлова В.Н., Шанталинский К.М., Мирсаева Н.А., Николаев А.А., Тагиров М.Ш. Агроклиматические условия на территории Республики Татарстан в период 1966–2021 гг. // Гидрометеорологические исследования и прогнозы. 2022. № 4 (386). С. 96–113. <https://doi.org/10.37162/2618-9631-2022-4-96-113>.
28. Переведенцев Ю.П., Шанталинский К.М. Оценка современных изменений температуры воздуха и скорости ветра в тропосфере Северного полушария // Метеорология и гидрология. 2014. № 10. С. 19–31.
29. Переведенцев Ю.П., Исмаилов Н.В., Мирсаева Н.А., Гурьянов В.В., Николаев А.А., Шанталинский К.М. Сезонные перестройки циркуляции в стратосфере и взаимодей-

- ствие между тропосферой и стратосферой // Изв. РАН. Физика атмосферы и океана. 2023. Т. 59, № 6. С. 1–11. <https://doi.org/10.31857/S000235152306007X>.
30. *Переведенцев Ю.П., Шерстюков Б.Г., Мирсаева Н.А., Шанталинский К.М., Гурьянов В.В.* Тенденции изменения основных климатических показателей на территории Приволжского федерального округа в XIX–XXI вв. // Фундаментальная и прикладная климатология. 2022. Т. 8, № 2. С. 209–237. <https://doi.org/10.21513/2410-8758-2022-2-209-237>.
 31. *Переведенцев Ю.П., Шанталинский К.М., Мирсаева Н.А., Николаев А.А., Аухадеев Т.Р., Гурьянов В.В., Шерстюков Б.Г.* Климатические изменения на территории Приволжского федерального округа в XX–XXI вв. и их последствия для агросферы // Метеорология и гидрология. 2023. № 9. С. 86–99. <https://doi.org/10.52002/0130-2906-2023-9-86-99>.
 32. *Переведенцев Ю.П., Шанталинский К.М., Мирсаева Н.А., Николаев А.А.* Изменения климата на территории Республики Татарстан // Географический вестник. 2024. № 1 (68). С. 103–112. <https://doi.org/10.17072/2079-7877-2024-1-103-112>.
 33. *Переведенцев Ю.П., Верещагин М.А., Наумов Э.П., Шанталинский К.М.* Многолетние колебания основных показателей гидрометеорологического режима Волжского бассейна // Метеорология и гидрология. 2001. № 10. С. 16–23.
 34. *Переведенцев Ю.П., Верещагин М.А., Наумов Э.П., Шанталинский К.М., Николаев А.А.* Региональные проявления современного потепления климата в тропо-стратосфере Северного полушария // Изв. РАН. Сер. геогр. 2005. № 6. С. 6–16.
 35. *Переведенцев Ю.П., Шанталинский К.М., Аухадеев Т.Р., Исмагилов Н.В., Занди Р.* О влиянии макроциркуляционных систем на термобарический режим Приволжского федерального округа // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2014. Т. 156, кн. 2. С. 156–169.
 36. *Переведенцев Ю.П., Шанталинский К.М.* Изменения приземной температуры воздуха Северного полушария за период 1850–2014 гг. // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2015. Т. 157, кн. 3. С. 8–19.
 37. *Perevedentsev Y., Sherstyukov B., Gusarov A., Aukhadееv T., Mirsaeva N.* Climate-induced fire hazard in forests in the Volga Federal District of European Russia during 1992–2020 // *Climate*. 2022. V. 10, No 7. Art. 110. <https://doi.org/10.3390/cli10070110>.
 38. *Perevedentsev Y., Gusarov A., Mirsaeva N., Sherstyukov B., Shantalinsky K., Guryanov V., Aukhadееv T.* Contemporary climate change and its hydrological consequence in the Volga Federal District, European Russia // *Climate*. 2022. V. 10, No 12. Art. 198. <https://doi.org/10.3390/cli10120198>.
 39. *Perevedentsev Y.P., Shantalinsky K.M., Gusarov A.V., Mirsaeva N.A., Aukhadееv T.R., Nikolaev A.A.* Air temperature change at the end of the Late Holocene and in the Anthropocene in the Middle Volga Region, European Russia // *Quaternary*. 2023. V. 6, No 3. Art. 48. <https://doi.org/10.3390/quat6030048>.
 40. *Brohan P., Kennedy J.J., Harris I., Tett S.F.B., Jones P.D.* Uncertainty estimates in regional and global observed temperature changes: A new dataset from 1850 // *J. Geophys. Res.* 2006. V. 111, No D12. Art. D12106. <https://doi.org/10.1029/2005JD006548>.
 41. *Jones P.D., New M., Parker D.E., Martin S., Rigor I.G.* Surface air temperature and its variations over the last 150 years // *Rev. Geophys.* 1999. V. 37, No 2. P. 173–199. <https://doi.org/10.1029/1999RG900002>.
 42. Климат и окружающая среда Приволжского федерального округа / под ред. М.А. Верещагина. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2013. 272 с.

43. Современные региональные климатические изменения и их последствия / под ред. Ю.П. Переведенцева, Н.А. Мирсаевой, В.Н. Павловой. М.: Русайнс, 2024. 223 с.
44. Хромов С.П., Петросянц М.А. Метеорология и климатология. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1994. 518 с.
45. Монин А.С. Введение в теорию климата. Л.: Гидрометеиздат, 1982. 246 с.
46. Переведенцев Ю.П. К 100-летию со дня рождения П.Т. Смолякова // Метеорология и гидрология. 1999. № 10. С. 126–127.
47. Исследование взаимосвязей циклоничности в Северном полушарии и регионально-прогностические результаты / под ред. Н.В. Колобова. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1977. 176 с.
48. Тудрий В.Д., Колобов Н.В. Флуктуации циклонических процессов в Северном полушарии Земли. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1984. 164 с.
49. Хайруллин Р.Р. Структура и динамика циклогенеза в Северном полушарии. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1989. 134 с.
50. Циркуляционные и энергетические процессы в атмосфере Северного полушария / под ред. Н.В. Колобова, Ю.П. Переведенцева. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1983. 235 с.
51. Гурьянов В.В., Елисеев А.В., Мохов И.И., Переведенцев Ю.П. Волновая активность и ее изменения в тропосфере и стратосфере Северного полушария зимой в 1979–2016 гг. // Изв. РАН. Физика атмосферы и океана. 2018. Т. 54, № 2. С. 133–146. <https://doi.org/10.7868/S0003351518020022>.
52. Переведенцев Ю.П. Циркуляционные и энергетические процессы в средней атмосфере. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1984. 167 с.
53. Переведенцев Ю.П., Гурьянов В.В., Шанталинский К.М., Аухадеев Т.Р. Динамика тропосферы и стратосферы в умеренных широтах Северного полушария и современные изменения климата в Приволжском федеральном округе. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2017. 184 с.
54. Климат Татарской АССР / под ред. Н.В. Колобова. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1983. 160 с.
55. Климатические условия и ресурсы Республики Татарстан / под ред. Ю.П. Переведенцева, Э.П. Наумова. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2008. 284 с.
56. Колобов Н.В. Муракаева С.А. Засухи на территории Татарской АССР. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1980. 139 с.
57. Батришина С.Ф., Переведенцев Ю.П. Динамика снежного покрова на территории Татарстана во второй половине XX столетия. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2005. 100 с.
58. Мирсаева Н.А., Верещагин М.А. Долгосрочные прогнозы продолжительности отопительного периода // Метеорология и гидрология. 2019. № 2. С. 108–116.
59. Семенов С.М., Мохов И.И., Семенов В.А., Жеребцов Г.А., Гулев С.К., Полонский А.Б., Соломина О.Н., Володин Е.М., Гинзбург А.С., Елисеев А.В., Бардин М.Ю., Борзенкова И.И., Борисова О.К. Российская наука и современная климатология: к 300-летию Российской академии наук // Фундаментальная и прикладная климатология. 2024. Т. 10, № 1. С. 5–55. <https://doi.org/10.21513/2410-8758-2024-1-05-55>.

Поступила в редакцию 07.06.2024

Принята к публикации 08.08.2024

Переведенцев Юрий Петрович, доктор географических наук, профессор кафедры метеорологии, климатологии и экологии атмосферы Института экологии и природопользования

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: ypereved@kpfu.ru

Мирсаева Надежда Александровна, кандидат географических наук, доцент, заведующий кафедрой метеорологии, климатологии и экологии атмосферы Института экологии и природопользования

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: NAMirsaeva@kpfu.ru

ISSN 2542-064X (Print)

ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2024, vol. 166, no. 4, pp. 724–747

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2024.4.724-747

Meteorology and Climatology at Kazan University: Celebrating the 190th Anniversary of Russia's Hydrometeorological Service

Yu.P. Perevedentsev, N.A. Mirsaeva***

Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

*E-mail: *ypereved@kpfu.ru, **NAMirsaeva@kpfu.ru*

Received June 7, 2024; Accepted August 8, 2024

Abstract

This article summarizes the history of meteorological and climate research at Kazan University, spanning a period from 1812 to the present day. The distinguished contributions of Professor Adolph Theodor Kupffer to the establishment of Russia's Hydrometeorological Service in 1834 were highlighted. Major achievements of the Kazan Meteorological School were analyzed, including those concerning global and regional climate change, circulation systems, as well as atmospheric dynamics and structure up to altitudes of 80 km. The influence of weather and climate factors on agriculture, wind industry, heating period, and public health was assessed. The observational data show that annual temperatures in Kazan have increased from 3.1 to 5.7 °C since 1871, with a rise in summer and winter temperatures from 18.1 to 19.7 °C and from –12.6 to –8.7 °C, respectively. The findings suggest that contemporary climate warming in Kazan began earlier (1946) compared to the general trend in the Northern Hemisphere (1970). The annual input of the Northern Hemisphere processes to temperature shifts in Kazan amounts to 63 %, with 27 % in summer and 43 % during winter. Using the CMIP6 climate projections based on anthropogenic factors as a driving force, future air temperature levels in Kazan throughout the 21st century were predicted.

The long-term trends in temperature and precipitation across the Middle Volga, Cis-Urals, and the whole of Russia were explored. A general warming trend in recent decades was revealed.

The efforts of Kazan meteorologists in advancing the understanding of large-scale atmospheric processes from the Earth's surface up to 80 km were noted. The agroclimatic and biometeorological conditions of the Volga Federal District, the Republic of Tatarstan in particular, were described.

Keywords: atmosphere, meteorological observations, climate, climate trends, circulation systems, applied indicators

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

Fig. 1. Adolph Theodor Kupffer.

Fig. 2. Annual amplitudes of the air temperature fluctuations in Kazan for 1828–2021 (1 – original dataset, 2 – low-frequency component, 3 – linear trend).

Fig. 3. Long-term trends of the air temperature anomalies in Kazan (*a*) and the Northern Hemisphere (*b*) – annual (*a1* and *b1*), summer (*a2* and *b2*), and winter (*a3* and *b3*). 1 – original dataset, 2 – low-frequency component with a period exceeding 35 years, 3 – linear trend, as cited in [39].

Fig. 4. Distribution of the first-order differences in the low-frequency component of the air temperature in Kazan (*a*) and the Northern Hemisphere (*b*), as cited in [39].

Fig. 5. Interannual distribution of the low-frequency component of the average winter air temperature anomaly (*a*) and the long-term trend of the low-frequency component of the average summer air temperature anomalies with a period exceeding 25 years (*b*) in the Northern Hemisphere (1), terrestrial areas of the Northern Hemisphere (2), and the Volga Federal District (3).

References

1. Perevedentsev Yu.P. *Meteorologiya v Kazanskom universitete: stanovlenie, razvitie, osnovnye dostizheniya* [Meteorology at Kazan University: Origins, Development, Main Achievements]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 2001. 127 p. (In Russian)
2. Bronner F.K. Insights from meteorological observations in Kazan during 1814. *Kazan. Izv.*, 1815, no. 35, pp. 200–202. (In Russian)
3. Monakhova N.I., Altshuler N.S., Larionov A.L., Aganov A.V., Salakhov M.Kh. *Istoriya fiziki i astronomii v Kazanskom universitete za 200 let* [A History of Physics and Astronomy at Kazan University for 200 Years]. Kazan, Izd. Kazan. Gos. Univ., 2007. 497 p. (In Russian)
4. Pasetsky V.M. *Adol'f Yakovlevich Kupfer, 1799–1865* [Adolph Theodor Kupffer, 1799–1865]. Moscow, Nauka, 1984. 207 p. (In Russian)
5. Perevedentsev Yu.P., Khairullin K.Sh. A history of meteorological research at Kazan University (celebrating the 205th anniversary of the Meteorological Observatory of Kazan University). *Tr. Gl. Geofiz. Obs. im. A.I. Voeikova*, 2017, no. 584, pp. 262–266. (In Russian)
6. Semenov S.M. (Ed.) *Metody otsenki posledstviy izmeneniya klimata dlya fizicheskikh i biologicheskikh sistem* [Methods for Assessing the Climate Change Impacts on Physical and Biological Systems]. Moscow, Planeta, 2012. 511 p. (In Russian)
7. Knorr E.A. Temperature curve in Kazan based on the observations of 1833. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta*, 1835, no. 1, pp. 89–110. (In Russian)
8. Veselovsky K.S. *O klimate Rossii* [On the Climate of Russia]. St. Petersburg, Imp. Akad. Nauk, 1857. 327 p. (In Russian)
9. Wild H.I. *O temperature vozdukha v Rossiiskoi imperii* [On the Air Temperature Trends in the Russian Empire]. St. Petersburg, Imp. Akad. Nauk, 1882. 393 p. (In Russian)
10. Voeikov A.I. *Klimaty zemnogo shara, v osobennosti Rossii* [Global Climates, with a Focus on Russia]. St. Petersburg, Izd. Kartogr. Zaved. A. Il'ina, 1884. 640 p. (In Russian)
11. *Agroklimaticheskie resursy Tatarskoi ASSR* [Agroclimatic Resources of the Tatar ASSR]. Leningrad, Gidrometeoizdat, 1974. 128 p. (In Russian)
12. Drozdov O.A. *Snezhnyi pokrov v Tatarskoi Respublike* [Snow Cover in the Tatar Republic]. Kazan, Tatgosizdat. Sektor Sel'sko-Khoz. Lit., 1934. (In Russian)
13. *Klimaticheskie usloviya Tatarskoi ASSR i ikh ispol'zovanie v sel'skom khozyaistve* [Climatic Conditions of the Tatar ASSR and Their Use in Agriculture]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 1962. 264 p. (In Russian)
14. Kolobov N.V., Shver Ts.A., Naumov E.P. (Eds.) *Klimat Kazani* [Climate of Kazan]. Leningrad, Gidrometeoizdat, 1990. 185 p. (In Russian)
15. Kolobov N.V. *Klimat Srednego Povolzh'ya* [Climate of the Middle Volga Region]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 1968. 252 p. (In Russian)
16. Smolyakov P.T. *Klimat Tatarii* [Climate of Tatarstan]. Kazan, Tatgosizdat, 1947. 108 p. (In Russian)

17. Masson-Delmotte V., Zhai P., Pirani A., Connors S.L., Péan C., Berger S., Caud N., Chen Y., Goldfarb L., Gomis M.I., Huang M., Leitzell K., Lonnoy E., Matthews J.B.R., Maycock T.K., Waterfield T., Yelekçi O., Yu R., Zhou B. (Eds.) *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, Cambridge Univ. Press., 2021. 2391 p. <https://doi.org/10.1017/9781009157896>.
18. Kattsov V.M. (Ed.) *Tretii otsenochnyi doklad ob izmeneniyakh klimata i ikh posledstviyakh na territorii Rossijskoi Federatsii* [Third Assessment Report on Climate Change and Its Consequences in the Russian Federation]. St. Petersburg, Naukoemkie Tekhnol., 2022. 676 p. (In Russian)
19. Mokhov I.I. Climate change: Causes, risks, consequences, problems of adaptation and regulation. *Herald Russ. Acad. Sci.*, 2022, vol. 92, no. 1, pp. 1–11. <https://doi.org/10.1134/S101933162201004X>.
20. Gladil'shchikova A.A., Dmitrieva T.M., Semenov S.M. The IPCC Special Report on Global Warming of 1.5 °C. *Fundam. Prikl. Klimatol.*, 2019, vol. 4, pp. 5–18. <https://doi.org/10.21513/2410-8758-2018-4-05-18>. (In Russian)
21. Kattsov V.M., Khlebnikova E.I., Shkolnik I.M., Rudakova Yu.L. Probabilistic regional climate projecting as a basis for the development of adaptation programs for the economy of the Russian Federation. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2020, vol. 45, no. 5, pp. 330–338. <https://doi.org/10.3103/S1068373920050039>.
22. Perevedentsev Yu.P., Vasil'ev A.A., Shantalinskii K.M., Gur'yanov V.V. Long-term variations in surface air pressure and surface air temperature in the Northern Hemisphere mid-latitudes. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2017, vol. 42, no. 7, pp. 461–470. <https://doi.org/10.3103/S1068373917070056>.
23. Perevedentsev Yu.P., Shantalinskii K.M., Vasil'ev A.A., Gur'yanov V.V. Thermal regime of the troposphere, stratosphere, and lower mesosphere in the Northern Hemisphere in 1979–2016. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2019, vol. 44, no. 8, pp. 501–512. <https://doi.org/10.3103/S1068373919080016>.
24. Perevedentsev Yu.P., Vasil'ev A.A., Sherstyukov B.G., Shantalinskii K.M. Climate change on the territory of Russia in the late 20th–early 21st centuries. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2021, vol. 46, no. 10, pp. 658–666. <https://doi.org/10.3103/S1068373921100022>.
25. Perevedentsev Yu.P., Rakhimov I.I., Sherstyukov B.G., Shantalinsky K.M. Influence of modern climatic conditions changes in the phenology and behavior of birds. *Gidrometeorol. Obraz.*, 2021, no. 2, pp. 28–46. (In Russian)
26. Perevedentsev Yu.P., Shantalinsky K.M., Ismagilov N.V., Guryanov V.V., Nikolaev A.A., Auhadeev T.R. Thermal regime in the troposphere, stratosphere, and mesosphere of the northern polar zone in 1979–2019. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2021, vol. 163, no. 4, pp. 626–642. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2021.4.626-642>. (In Russian)
27. Perevedentsev Yu.P., Pavlova V.N., Shantalinsky K.M., Mirsaeva N.A., Nikolaev A.A., Tagirov M.Sh. Agroclimatic conditions in the Republic of Tatarstan during 1966–2021. *Gidrometeorol. Issled. Prognozy*, 2022, no. 4 (386), pp. 96–113. <https://doi.org/10.37162/2618-9631-2022-4-96-113>. (In Russian)
28. Perevedentsev Yu.P., Shantalinskii K.M. Estimation of contemporary observed variations of air temperature and wind speed in the troposphere of the Northern Hemisphere. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2014, vol. 39, no. 10, pp. 650–659. <https://doi.org/10.3103/S1068373914100021>.
29. Perevedentsev Yu.P., Ismagilov N.V., Mirsaeva N.A., Guryanov V.V., Nikolaev A.A., Shantalinsky K.M. Seasonal changes in stratospheric circulation and interactions between the troposphere and the stratosphere. *Izv. Atmos. Oceanic Phys.*, 2023, vol. 59, no. 6, pp. 636–646. <https://doi.org/10.1134/S0001433823060075>.
30. Perevedentsev Yu.P., Sherstyukov B.G., Mirsaeva N.A., Shantalinskii K.M., Guryanov V.V. Trends in main climate indicators on the territory of the Volga Federal District in the 19th–21st centuries. *Fundam. Prikl. Klimatol.*, 2022, vol. 8, no. 2, pp. 209–237. <https://doi.org/10.21513/2410-8758-2022-2-209-237>. (In Russian)
31. Perevedentsev Yu.P., Shantalinskii K.M., Mirsaeva N.A., Nikolaev A.A., Auhadeev T.R., Gur'yanov V.V., Sherstyukov B.G. Climate change on the territory of the Volga Federal District in the 20th–21st centuries and its consequences for the agrosphere. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2023, vol. 48, no. 9, pp. 798–807. <https://doi.org/10.3103/S1068373923090078>.

32. Perevedentsev Yu.P., Shantalinsky K.M., Mirsaeva N.A., Nikolaev A.A. Climate change on the territory of the Republic of Tatarstan. *Geogr. Vestn.*, 2024, no. 1 (68), pp. 103–112. <https://doi.org/10.17072/2079-7877-2024-1-103-112>. (In Russian)
33. Perevedentsev Yu.P., Vereshchagin M.A., Naumov E.P., Shantalinskii K.M. Long-term variations in main characteristics of the hydrometeorological Volga basin regime. *Russ. Meteorol. Hydrol.*, 2001, no. 10, pp. 9–15.
34. Perevedentsev Yu.P., Vereshchagin M.A., Naumov E.P., Shantalinskii K.M., Nikolaev A.A. Regional patterns of the current climate warming in the tropo- and stratospheres of the Northern Hemisphere. *Izv. Ross. Akad. Nauk. Ser. Geogr.*, 2005, no. 6, pp. 6–16. (In Russian)
35. Perevedentsev Yu.P., Shantalinskii K.M., Aukhadeev T.R., Ismagilov N.V., Zandi R. Effect of macrocirculation systems on the thermobaric conditions of the Volga Federal District. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2014, vol. 156, no. 2, pp. 156–169. (In Russian)
36. Perevedentsev Yu.P., Shantalinskii K.M. Changes in the near-surface air temperature of the Northern Hemisphere during the period of 1850–2014. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2015, vol. 157, no. 3, pp. 8–19. (In Russian)
37. Perevedentsev Y., Sherstyukov B., Gusarov A., Aukhadeev T., Mirsaeva N. Climate-induced fire hazard in forests in the Volga Federal District of European Russia during 1992–2020. *Climate*, 2022, vol. 10, no. 7, art. 110. <https://doi.org/10.3390/cli10070110>.
38. Perevedentsev Y., Gusarov A., Mirsaeva N., Sherstyukov B., Shantalinsky K., Guryanov V., Aukhadeev T. Contemporary climate change and its hydrological consequence in the Volga Federal District, European Russia. *Climate*, 2022, vol. 10, no. 12, art. 198. <https://doi.org/10.3390/cli10120198>.
39. Perevedentsev Y.P., Shantalinsky K.M., Gusarov A.V., Mirsaeva N.A., Aukhadeev T.R., Nikolaev A.A. Air temperature change at the end of the Late Holocene and in the Anthropocene in the Middle Volga Region, European Russia. *Quaternary*, 2023, vol. 6, no. 3, art. 48. <https://doi.org/10.3390/quat6030048>.
40. Brohan P., Kennedy J.J., Harris I., Tett S.F.B., Jones P.D. Uncertainty estimates in regional and global observed temperature changes: A new dataset from 1850. *J. Geophys. Res.*, 2006, vol. 111, no. D12, art. D12106. <https://doi.org/10.1029/2005JD006548>.
41. Jones P.D., New M., Parker D.E., Martin S., Rigor I.G. Surface air temperature and its variations over the last 150 years. *Rev. Geophys.*, 1999, vol. 37, no. 2, pp. 173–199. <https://doi.org/10.1029/1999RG900002>.
42. Vereshchagin M.A. (Ed.) *Klimat i okruzhayushchaya sreda Privolzhskogo federal'nogo okruga* [Climate and Environment of the Volga Federal District]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 2013. 272 p. (In Russian)
43. Perevedentsev Yu.P., Mirsaeva N.A., Pavlova V.N. (Eds.) *Sovremennye regional'nye klimaticheskie izmeneniya i ikh posledstviya* [Recent Regional Climate Change and Its Impacts]. Moscow, Ru-Science, 2024. 223 p. (In Russian)
44. Khromov S.P., Petrosyants M.A. *Meteorologiya i klimatologiya* [Meteorology and Climatology]. Moscow, Izd. Mosk. Univ., 1994. 518 p. (In Russian)
45. Monin A.S. *Vvedenie v teoriyu klimata* [Introduction to the Theory of Climate]. Leningrad, Gidrometeoizdat, 1982. 246 p. (In Russian)
46. Perevedentsev Yu.P. On the 100th anniversary of P.T. Smolyakov's birth. *Meteorol. Gidrol.*, 1999, no. 10, pp. 126–127. (In Russian)
47. Kolobov N.V. (Ed.) *Issledovanie vzaimosvyazei tsiklonichnosti v Severnom polusharii i regional'no-prognosticheskie rezul'taty* [A Study of the Connection between Cyclonic Activity in the Northern Hemisphere and Regional Forecasts]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 1977. 176 p. (In Russian)
48. Tudrii V.D., Kolobov N.V. *Fluktuatsii tsiklonicheskikh protsessov v Severnom polusharii Zemli* [Fluctuations in Cyclonic Processes of the Northern Hemisphere]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 1984. 164 p. (In Russian)
49. Khairullin R.R. *Struktura i dinamika tsiklogeneza v Severnom polusharii* [Structure and Dynamics of Cyclogenesis in the Northern Hemisphere]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 1989. 134 p. (In Russian)

50. Kolobov N.V., Perevedentsev Yu.P. (Eds.) *Tsirkulyatsionnye i energeticheskie protsessy v atmosfere Severnogo polushariya* [Circulation and Energy Processes in the Atmosphere of the Northern Hemisphere]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 1983. 235 p. (In Russian)
51. Guryanov V.V., Eliseev A.V., Mokhov I.I., Perevedentsev Yu.P. Wave activity and its changes in the troposphere and stratosphere of the Northern Hemisphere in winters of 1979–2016. *Izv., Atmos. Oceanic Phys.*, 2018, vol. 54, no. 2, pp. 114–126. <https://doi.org/10.1134/S0001433818020093>.
52. Perevedentsev Yu.P. *Tsirkulyatsionnye i energeticheskie protsessy v srednei atmosfere* [Circulation and Energy Processes in the Middle Atmosphere]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 1984. 167 p. (In Russian)
53. Perevedentsev Y.P., Guryanov V.V., Shantalinsky K.M., Aukhadeev T.R. *Dinamika troposfery i stratosfery v umerennykh shirotakh Severnogo polushariya i sovremennye izmeneniya klimata v Privolzhskom federal'nom okruge* [Dynamics of the Troposphere and Stratosphere in Temperate Latitudes of the Northern Hemisphere and Recent Climate Change in the Volga Federal District]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 2017. 184 p. (In Russian)
54. Kolobov N.V. (Ed.) *Klimat Tatarskoi ASSR* [Climate of the Tatar ASSR]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 1983. 160 p. (In Russian)
55. Perevedentsev Yu.P., Naumov E.P. (Eds.) *Klimaticheskie usloviya i resursy Respubliki Tatarstan* [Climatic Conditions and Resources of the Republic of Tatarstan]. Kazan, Izd. Kazan Univ., 2008. 284 p. (In Russian)
56. Kolobov N.V., Murakaeva S.A. *Zasukhi na territorii Tatarskoi ASSR* [Droughts in the Tatar ASSR]. Kazan, Izd. Kazan. Univ., 1980. 139 p. (In Russian)
57. Batrshina S.F., Perevedentsev Yu.P. *Dinamika snezhnogo pokrova na territorii Tatarstana vo vtoroi polovine XX stoletiya* [Snow Cover Dynamics in Tatarstan during the Second Half of the 20th Century]. Kazan, Kazan. Gos. Univ., 2005. 100 p. (In Russian)
58. Mirsaeva N.A., Vereshchagin M.A. Long-range forecasting of heating period duration. *Meteorol. Gidrol.*, 2019, no. 2, pp. 108–116. (In Russian)
59. Semenov S.M., Mokhov I.I., Semenov V.A., Zherebtsov G.A., Gulev S.K., Polonskii A.B., Solomina O.N., Volodin E.M., Ginzburg A.S., Eliseev A.V., Bardin M.Yu., Borzenkova I.I., Borisova O.K. Russian science and modern climatology: Celebrating the 300th anniversary of the Russian Academy of Sciences. *Fundam. Prikl. Klimatol.*, 2024, vol. 10, no. 1, pp. 5–55. <https://doi.org/10.21513/2410-8758-2024-1-05-55>. (In Russian)

⟨ **Для цитирования:** Переведенцев Ю.П., Мирсаева Н.А. Метеорология и климатология в Казанском университете: к 190-летию гидрометеорологической службы России // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2024. Т. 166, кн. 4. С. 724–747. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.724-747>. ⟩

⟨ **For citation:** Perevedentsev Yu.P., Mirsaeva N.A., Meteorology and climatology at Kazan University: Celebrating the 190th anniversary of Russia's Hydrometeorological Service. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki*, 2024, vol. 166, no. 4, pp. 724–747. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2024.4.724-747>. (In Russian) ⟩

