

Научно-теоретический и информационно-методический журнал
Белорусского республиканского фонда
фундаментальных исследований

Издается с III квартала 1997 г.



№ 3 [49], 2009

**ВЕСТНИК
ФОНДА
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ**

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Зарегистрирован
в Министерстве информации
Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации
№ 426 от 29.05.2009

Учредитель:
Белорусский
республиканский
фонд
фундаментальных
исследований

220072, г. Минск,
пр. Независимости, 66;
тел. 284-07-42,
284-25-05

Издатель:
РУП «Издательский дом
«Беларуская навука»

Главный редактор
В. А. Орлович

Заместители главного редактора
Е. М. Бабосов
В. И. Недилько

Ответственный секретарь
Н. Н. Костюкович

Члены редколлегии:

В. Ф. Багинский	М. И. Мушинский
Н. Н. Бамбалов	П. Г. Никитенко
А. В. Бильдюкевич	В. Н. Новиков
П. А. Витязь	В. П. Пархоменко
И. В. Гайшун	Б. А. Плотников
М. И. Демчук	В. И. Прокошин
А. К. Карабанов	В. И. Стражев
А. В. Кильчевский	Л. М. Томильчик
А. В. Кухарев	Ю. С. Харин
П. Д. Кухарчик	Л. В. Хотылева
А. И. Лесникович	И. И. Цыркун
А. А. Махнач	В. Н. Шимов
А. Г. Мрочек	

Минск, 2009

СОДЕРЖАНИЕ

НАУЧНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ

Шарко О. Л., Князева О. В. Синтез 1-О-алкил-2-[N-(2,4-динитрофенил)-β-аминопропионил]- <i>sn</i> -глицеро-3-фосфохолина — хромогенного аналога фактора активации тромбоцитов	5
Башилов А. В., Спиридович Е. В., Тимофеева В. А. Антиокислительные свойства и фитохимический состав представителей семейства <i>Begoniaceae</i>	11
Лиштван И. И., Стригуцкий В. П., Царюк Т. Я., Дребенкова И. В. Влияние трансформации коллоидных структур маслорастворимых поверхностно-активных веществ на синергизм их композиций	22
Татур М. М., Островский В. В. Методология построения баз для синтеза и анализа классификаторов	32
Нечипуренко Н. И., Верес А. И., Грибоедова Т. В., Пашковская И. Д., Тишина Л. А., Матусевич Л. И. Метаболические нарушения у больных дисциркуляторной энцефалопатией при лечении мексидолом.....	42
Литвиновская Р. П., Райман М. Э., Аникеев В. И., Хрипач В. А. 28-гомобрассиностероиды, модифицированные остатком индолилуксусной кислоты	50
Герловский Д. О., Антончик Г. Н., Литвинко Н. М., Огейко Н. Г., Петрусевич И. И., Лахвич Ф. А. Активность панкреатической фосфолипазы A ₂ при воздействии 2-(цис, цис-9,12-октадекадиеноил)-циклогексан-1,3-диола	57
Митюк В. И., Рыжковский В. М., Ткаченко Т. М. Получение и исследование свойств твердых растворов на основе антимионид марганца со структурой типа B8	65

ИТОГИ КОНКУРСОВ

Перечень научных трудов, изданных при финансовой поддержке БРФФИ в 2008 г. ...	78
Перечень республиканских и международных научных мероприятий, поддержанных БРФФИ в 2008 г.	79

МЕЖДУНАРОДНЫЕ СВЯЗИ

Протокол 6-го заседания Совместной комиссии НЦНИ и НАН Беларуси	82
---	----

The scientific-theoretical and information-methodical journal
of the Belarusian Republican Foundation
for Fundamental Research

Issued since the 3rd quarter of 1997



N 3 [49], 2009

Registered in
The Ministry of Information
of the Republic of Belarus,
Certificate
№ 426 of May 29, 2009

The founder:
The Belarusian
Republican
Foundation
for Fundamental
Research

220072, Minsk,
Independence Av., 66;
ph. 284-07-42,
284-25-05

The publisher:
RUE «Publishing House
«Belaruskaya navuka»

**VESTNIK
OF THE FOUNDATION
FOR FUNDAMENTAL
RESEARCH**

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief
V. A. Orlovich

Deputy Editors-in-Chief
E. M. Babosov
V. I. Nedił'ko

Executive Secretary
N. N. Kostyukovich

Editorial board members:

V. F. Baginsky	A. G. Mrochek
N. N. Bambalov	M. I. Mushinsky
A. V. Bilydukevich	P. G. Nikitenko
I. V. Gaishun	V. N. Novikov
M. I. Demchuk	V. P. Parkhomenko
A. K. Karabanov	B. A. Plotnikov
Yu. S. Kharin	V. I. Prokoshin
L. V. Khotylyova	V. N. Shimov
A. V. Kilchevsky	V. I. Strazhev
P. D. Kukharchik	L. M. Tomilchik
A. V. Kukharev	I. I. Tsyrukun
A. I. Lesnikovich	P. A. Vityaz
A. A. Makhnach	

Minsk, 2009

CONTENTS

SCIENTIFIC PUBLICATIONS

Sharko O. L., Kniazeva O. V. Synthesis of 1-O-alkyl-2-[N-(2,4-dinitrophenyl)- β -aminopropionyl]- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine — chromogenic analogue of platelet activating factor.....	5
Bashilov A. V., Spirydovich E. V., Tsimafeyeva V. A. Antioxidizing properties and phytochemical composition representatives of family <i>Begoniaceae</i>	11
Lishtvan I. I., Strigutsky V. P., Thariouk T. Y., Drebenkova I. V. Influence of oil-soluble surfactants colloidal structures transformation on their compositions synergism.....	22
Tatur M. M., Ostrovsky V. V. Methodology of classifier's formal synthesis and analysis.....	32
Nechipurenko N. I., Veres A. I., Griboedova T. V., Pashkovskaya I. D., Tishina L. A., Matusevich L. I. Some metabolic disfunction in patients with dyscirculatory encephalopathy under treatment of mexidol.....	42
Litvinovskaya R. P., Raiman M. E., Anikeev V. I., Khripach V. A. 28-Homobrassinosteroids modified with a fragment of indolylacetic acid	50
Gerlovskiy D. O., Antonchik G. N., Litvinko N. M., Ogeyko N. G., Petrusevich I. I., Lakhvich F. A. Pancreatic phospholipase A ₂ activity under action of 2-(<i>cys</i> -, <i>cys</i> -octadecadienoyl) cyclohexane-1,3-dione.....	57
Mitsiuk V. I., Ryzhkovskiy V. M., Tkachenka T. M. The manganese antimony with copper or zinc solid solutions with B8-type and their properties.....	65

COMPETITIONS RESULTS

A list of scientific works published under BRFFR financial support in 2008.....	78
A list of republican and international scientific conferences supported by BRFFR in 2008....	79

INTERNATIONAL RELATIONS

Minutes of the 6th CNRS-NASB Joint Commission Meeting	82
---	----

НАУЧНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ

УДК 547.371 + 577.151.35

О. Л. ШАРКО, О. В. КНЯЗЕВА

СИНТЕЗ 1-О-АЛКИЛ-2-[N-(2,4-ДИНИТРОФЕНИЛ)- β -АМИНОПРОПИОНИЛ]-*sn*-ГЛИЦЕРО-3-ФОСФОХОЛИНА — ХРОМОГЕННОГО АНАЛОГА ФАКТОРА АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ

Институт биоорганической химии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 20.01.2009)

Синтезирован хромогенный субстрат для определения активности ацетилгидролазы фактора активации тромбоцитов, исходя из фосфатидилхолина (ФХ), выделенного из сердца быка. 1-О-алкильная связь лизофосфатидилхолина (ЛФХ), характерная для фактора активации тромбоцитов, была получена путем процесса гидролиза-гидрирования плазмалогена ФХ в одной колбе. Гидроксильная группа в положении *sn*-2 ЛФХ ацилирована хромогенной N-(2,4-динитрофенил)- β -аминопропионовой кислотой. Показана возможность использования синтезированного субстрата для определения активности ацетилгидролазы фактора активации тромбоцитов в плазме крови.

Введение

Фактор активации тромбоцитов (1-О-алкил-2-ацетил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин, ФАТ) активирует тромбоциты, нейтрофилы, моноциты, макрофаги, клетки артериальных гладких мышц в концентрациях 10^{-12} — 10^{-10} М [1]. ФАТ вовлекается в качестве патологического медиатора в развитие бронхиальной астмы и других аллергических реакций, ишемической болезни сердца, различных типов шока и др. [2—4]. Инактивация ФАТ в тканях и клетках осуществляется ФАТ-ацетилгидролазой (КФ 3.1.1.47) [1], Ca^{+2} -независимой фосфолипазой A_2 групп VII и VIII по классификации [5]. Снижение активности ФАТ-ацетилгидролазы сопровождается увеличением концентрации ФАТ и провоцирует патологический ответ. Другой функцией этого фермента является разрушение окисленных фосфолипидов, которые имитируют патофизиологическую функцию ФАТ, связываясь с его рецептором [5; 6]. Эти фосфолипиды

образуются в результате окислительной модификации липопротеинов низкой плотности, которая является критической стадией в развитии атеросклероза [7; 8]. Поэтому разработка метода оценки активности ФАТ-ацетилгидролазы представляется актуальной задачей.

С этой целью в данной работе был осуществлен синтез хромогенного субстрата для определения активности ФАТ-ацетилгидролазы, исходя из плазмалогена 1-О-(1-алкенил)-2-ацил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина, выделенного из сердца быка.

Методы исследования

N, N'-карбонилдиимидазол, 1-фтор-2,4-динитробензол, β -аминопропионовую кислоту и имидазол (Fluka, Швейцария) применяли в работе без дополнительной очистки. Никель Ренея получали щелочной обработкой никель-алюминиевого сплава (50 : 50) с последующим воздействием на катализатор ультразвука. Спектры ^1H ЯМР регистрировали на приборе Bruker Avance 500, спектры поглощения — на спектрофотометре Specord M400.

Синтез N-(2,4-динитрофенил)- β -аминопропионовой кислоты. К раствору 1,8 г (20 ммоль) β -аминопропионовой кислоты в 10 мл 2 М карбоната натрия добавляли по каплям раствор 1,86 г (10 ммоль) 1-фтор-2,4-динитробензола в 10 мл ацетона и перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. После этого смесь подкисляли 1 М HCl до pH 1–2. Выпавший осадок отфильтровывали и промывали на фильтре двумя порциями 0,1 М HCl по 10 мл и затем 10 мл охлажденного ацетона. Осадок сушили в вакуум-экзикаторе над КОН. Выход N-(2,4-динитрофенил)- β -аминопропионовой кислоты составил 4,4 г (17 ммоль) (86 %). Спектр ^1H ЯМР в CD_3OD : 2,79 м. д. (т, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$); 3,77 м. д. (т, 2H, CH_2NH); 6,98 м. д. (д, 1H, $\text{NO}_2\text{CCHCHC}(\text{NH})$ аром.); 8,31 м. д. (д, 1H, $\text{NO}_2\text{CCHCHC}(\text{NH})$ аром.); 8,80 м. д. (шс, 1H, NH); 9,14 м. д. (д, 1H, $\text{NO}_2\text{CCHCNO}_2$ аром.). УФ спектр в CHCl_3 : $\lambda_{\text{макс}} = 350 \text{ нм}$, $\epsilon = 18500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Выделение фосфатидилхолина из сердца быка. 150 г сердца быка размельчали в гомогенизаторе с ножами 5 мин при 4000 об/мин, к гомогенату добавляли 260 мл метанола и 130 мл хлороформа. Смесь перемешивали в течение 15 мин, фильтровали, затем к фильтрату добавляли 300 мл 1 М раствора NaCl и полученную смесь интенсивно встряхивали в делительной воронке. Нижний хлороформно-метанольный слой отбирали и упаривали на роторном испарителе при температуре 40–50 °С. Для удаления воды к остатку добавляли смесь бензола с этанолом (3 : 2) и растворитель упаривали в тех же условиях. Для выделения фосфатидилхолина (ФХ) смесь липидов сердца быка пропускали через колонку с окисью алюминия (высота колонки 10 см, диаметр — 3 см, Al_2O_3 нейтральный). В качестве элюента использовали смесь растворителей хлороформ—метанол (2 : 1, по объему). Собирали фракции по 10 мл и анализировали в них содержание липидов с помощью ТСХ на силикагеле в системе растворителей хлороформ—метанол—вода (65 : 25 : 4, по объему). Фракции, содержащие ФХ (R_f 0,35), объединяли и растворитель упаривали на роторном испарителе. Выход ФХ — 369 мг.

Получение 1-О-алкиллизофосфатидилхолина (ЛФХ). 369 мг ФХ растворяли в 40 мл метанола, добавляли никель Ренея в 20 мл 0,1 М водного раствора NaOH и смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 3 ч. Затем раствор декантировали, катализатор промывали 120 мл смеси растворителей хлороформ—метанол—вода (1 : 2 : 0,8, по объему). Растворы объединяли, добавляли 30 мл хлороформа и 26 мл насыщенного раствора NaCl и смесь встряхивали в делительной воронке. Отбирали нижний слой, упаривали на роторном испарителе при 35 °С и остаток растворяли в 5 мл хлороформа. По данным ТСХ в системе хлороформ—метанол—вода (65 : 25 : 4) раствор не содержит исходный ФХ, а на пластинке наблюдается пятно с $R_f = 0,18$, характерным для ЛФХ. Выход составил 60 мг. Спектр ^1H ЯМР в CDCl_3 : 0,87 м. д. (т, 3H, $\omega\text{-CH}_3$); 1,23—1,28 м. д. (м, 24H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 1,52 м. д. (м, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$); 2,80 м. д. (т, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$); 3,39 м. д. (с, 9H, CH_3N); 3,89 м. д. (шс, 2H, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 4,28 м. д. (м, 2H, CH_2O).

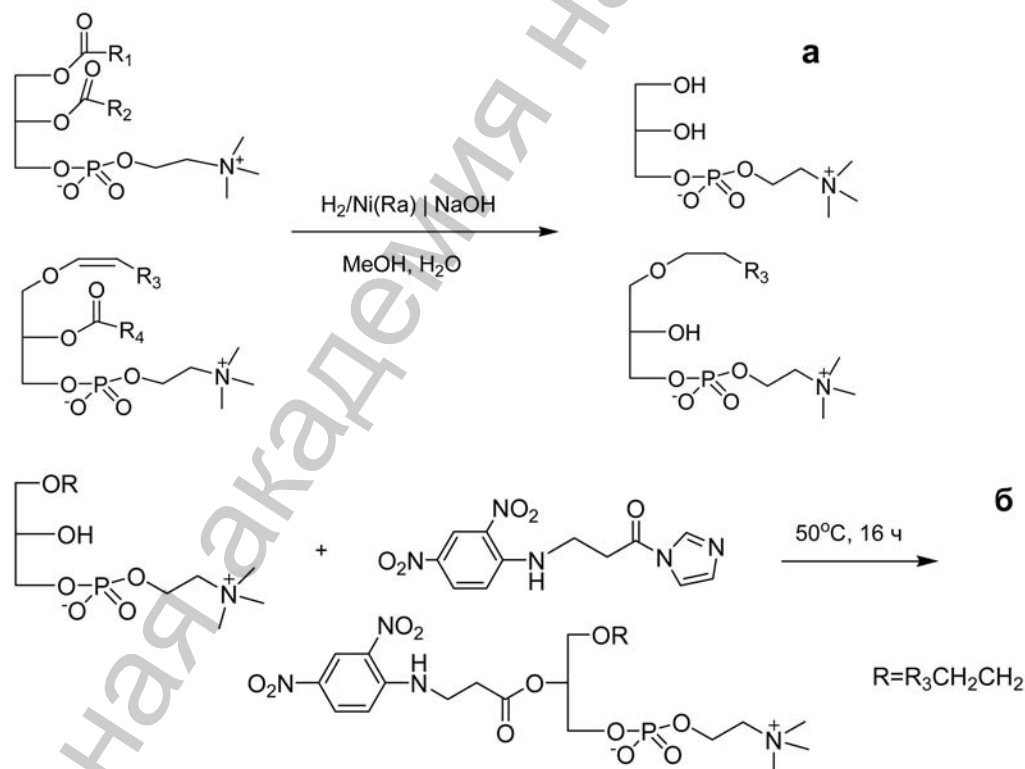
Синтез 1-О-алкил-2-[N-(2,4-динитрофенил)- β -аминопропионил]-sn-глицеро-3-фосфохолина (ДНФ—ФАТ).

К 260 мг (1 ммоль) N-(2,4-динитрофенил)- β -аминопропионовой кислоты в 10 мл сухого ТГФ добавляли 165 мг (1,02 ммоль) N,N'-карбонилдиимидазола и перемешивали до полного прекращения выделения CO_2 . Затем к смеси добавляли 60 мг ЛФХ в 1 мл сухого хлороформа. Перемешивали, упаривали растворитель и остаток выдерживали в течение 16 ч при 50 °С. Затем добавляли 20 мл промытого водой хлороформа и раствор перемешивали в течение 30 мин. Осадок отделяли фильтрованием на стеклянном фильтре, промывали 20 мл хлороформа. Маточный раствор промывали водой в делительной воронке. Водный слой дважды экстрагировали 15 мл хлороформа. Органические слои объединяли и упаривали, остаток растворяли в 1 мл хлороформа, аликвоту разбавляли этанолом и записывали спектр поглощения. Выход, определенный по спектру поглощения ($\lambda_{\text{макс}} = 350 \text{ нм}$, $\epsilon = 18500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), составил 31 мг. Спектр ^1H ЯМР в CDCl_3 : 0,87 м. д. (т, 3H, $\omega\text{-CH}_3$); 1,23—1,28 м. д. (м, 24H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 1,52 м. д. (м, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$); 2,80 м. д. (т, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$); 3,39 м. д. (с, 9H, CH_3N); 3,78 м. д. (шс, 2H, CH_2NH); 3,89 м. д. (шс, 2H, $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 4,04—4,39 м. д. (м, 9H, CH_2O , CHO); 5,26 м. д. (шс, 1H, NH); 7,03—7,05 м. д. (д, 1H, $\text{NO}_2\text{CCHCHC}(\text{NH})$ аром.); 8,26—8,29 м. д. (д, 1H, $\text{NO}_2\text{CCHCHC}(\text{NH})$ аром.); 9,03 м. д. (д, 1H, $\text{NO}_2\text{CCHCNO}_2$ аром.).

Определение активности ФАТ-ацетилгидролазы в плазме крови. Раствор, содержащий 0,2 мкмоль ДНФ—ФАТ в хлороформе, упаривали в токе аргона, к полученной пленке добавляли 800 мкл 0,2 М имидазол-HCl буферного раствора (pH 7,5), встряхивали и обрабатывали в ультразвуковой ванне 15 с. К образующемуся прозрачному раствору добавляли 200 мкл плазмы крови, перемешивали 10 мин при 25 °С. Затем к реакционной смеси добавляли 2 мл смеси хлороформ—метанол (2 : 1, по объему), перемешивали и центрифугировали 5 мин при 3000 об/мин. Отбирали 1 мл верхнего слоя, разбавляли в 2 раза водой и определяли поглощение раствора при 350 нм против контрольного образца, содержащего вместо плазмы крови эквивалентный объем буферного раствора.

Результаты и их обсуждение

Ранее нами был описан удобный способ определения активности фосфолипазы A_2 (ФЛА₂), основанный на использовании хромогенного субстрата 1-ацил-2-[N-(2,4-динитрофенил)-β-аминопропионил]-*sn*-глицеро-3-фосфохолина [9]. ФЛА₂ при проявлении своей активности отщепляет входящую в его состав хромогенную N-(2,4-динитрофенил)-β-аминопропионовую кислоту, которая при экстракции реакционной системы смесью хлороформ–метанол (2 : 1) практически полностью переходит в водно-метанольный слой, оптическое поглощение которого при 350 нм служит количественной мерой активности фермента (непрореагировавший хромогенный субстрат остается в хлороформно-метанольном слое). Это свойство N-(2,4-динитрофенил)-β-аминопропионовой кислоты было использовано нами при дизайне хромогенного субстрата для ФАТ-ацетилгидролазы. Мы предположили, что достаточно полярная N-(2,4-динитрофенил)-β-аминопропионовая кислота будет имитировать ω-оксо- и ω-карбоксикислоты, входящие в состав окисленных фосфолипидов — природных субстратов ФАТ-ацетилгидролазы. Важную роль в узнавании субстрата ферментом играет 1-О-алкильный фрагмент ФАТ, который необходимо было ввести в синтезируемый нами хромогенный аналог ФАТ.



Синтез 1-алкил-2-[N-(2,4-динитрофенил)-β-аминопропионил]-*sn*-глицеро-3-фосфохолина: *a* — гидролиз и гидрирование фосфатидилхолинов из сердца быка; *b* — ацилирование 1-О-алкиллизосфатидилхолина N-(2,4-динитрофенил)-β-аминопропионовой кислотой

Для синтеза ФАТ используются как синтетические, так и полусинтетические подходы. Первая группа методов является многостадийной, требует создания хирального центра в остатке глицерина природной оптически активной конфигурации, 1-О-алкильной и фосфохолиновой группировок [10], что определяет трудоемкость синтеза конечного продукта. Более привлекательными представляются полусинтетические методы получения ФАТ из природных фосфолипидов. Один из них основывается на щелочном гидролизе фосфатидилхолина из сердца быка [11]. Суть подхода состоит в том, что этот фосфолипид содержит до 20 % плазмемембранного молекулярного вида, винилэфирная связь которого устойчива к щелочной обработке и дает в результате гидролиза лизофосфолипид. Далее в оригинальной методике двойную связь восстанавливают гидрированием над палладиевым катализатором и ацетируют 1-О-алкиллизофосфатидилхолин с образованием ФАТ. В данной работе нам удалось объединить две стадии в одну и при этом заменить дорогостоящий катализатор на доступный никель Ренея (рисунок, а). Оба процесса протекают до конца, т. е. до полного расходования исходного ФХ (данные ТСХ) и восстановления двойной связи (данные ^1H ЯМР). Так как гидролиз протекает быстро, лимитирующей стадией процесса является гидрирование. Завершение реакции определяется по прекращению поглощения водорода (около 1,5 ч). В результате этих процессов образуются продукты гидролиза диацильного аналога ФХ — глицерофосфолин и алкенилацильного — 1-О-алкиллизофосфатидилхолин, которые хорошо отделяются друг от друга путем количественного распределения в водную и органическую фазу соответственно. Ацилирование 1-О-алкиллизофосфатидилхолина N-(2,4-динитрофенил)- β -аминопропионовой кислотой привело к новому аналогу ФАТ (рисунок, б), близкому по структуре субстрату, описанному в работе [12] и проявившему специфичность в отношении ФАТ-ацетилгидролазы. Синтезированный субстрат был использован для определения активности ФАТ-ацетилгидролазы в плазме крови. Протекание гидролиза в отсутствие ионов Ca^{2+} является свидетельством проявления активности ФАТ-ацетилгидролазы к синтезированному нами субстрату. Сравнение его специфичности с 1-ацил-2-[N-(2,4-динитрофенил)- β -аминопропионил]-*sn*-глицеро-3-фосфохолином и другими подобными субстратами будет предметом наших дальнейших исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант X08M-133).

Литература

1. Stafforini D. M., McIntyre T. M., Zimmerman G. A., Prescott S. M. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272, N 29. P. 17895—17898.
2. Stafforini D. M., Numao T., Tsodikov A. et al. // J. Clin. Invest. 1999. Vol. 103, N 7. P. 989—997.
3. Yamada Y., Yokota M. // Jpn. Circ. J. 1998. Vol. 62, N 5. P. 328—335.
4. Karasawa K., Harada A., Satoh N. et al. // Prog. Lipid Res. 2003. Vol. 42, N 2. P. 93—114.
5. Six D. A., Dennis E. A. // Biochim. Biophys. Acta. 2000. Vol. 1488, N 1—2. P. 1—19.
6. Eisaf M., Tselepis A. D. // Biochem. Pharmacol. 2003. Vol. 66, N 11. P. 2069—2073.
7. Jenny N. S. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2006. Vol. 26, N 11. P. 1417—1418.

8. Chisolm G. M., Steinberg D. // Free Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 28, N 12. P. 1815–1826.
9. Шарко О. Л., Грецкая Н. М., Безуглов В. В., Кисель М. А. // Вестн. ФФИ. 2008. № 1. С. 60–70.
10. Hirth G., Saroka H., Bannawarth W., Barner R. // Helv. Chim. Acta. 1983. Vol. 66, N 4. P. 1210–1240.
11. Pugh E. L., Kates M., Hanahan D. J. // J. Lipid. Res. 1977. Vol. 18. P. 710–715.
12. Kosaka T., Yamaguchi M., Soda Y. et al. // Clin. Chim. Acta. 2000. Vol. 296, N 1–2. P. 151–161.

O. L. SHARKO, O. V. KNIAZEVA

SYNTHESIS OF 1-O-ALKYL-2-[N-(2,4-DINITROPHENYL)- β -AMINOPROPIONYL]-*sn*-GLYCERO-3-PHOSPHOCHOLINE – CHROMOGENIC ANALOGUE OF PLATELET ACTIVATING FACTOR

Summary

Chromogenic substrate for platelet activating factor acetylhydrolase assay was synthesized starting from bovine heart phosphatidylcholine (PC). 1-O-alkyl bond of lysophosphatidylcholine (LPC), typical for platelet activating factor, was obtained as a result of one-pot hydrolysis-hydrogenation of PC plasmalogen. The *sn*-2 hydroxyl group of LPC was acylated with chromogenic N-(2,4-dinitrophenyl)- β -aminopropionic acid. Platelet activating factor acetylhydrolase activity in blood plasma was assayed using a new chromogenic substrate.

УДК 582.846.2:581.19

А. В. БАШИЛОВ, Е. В. СПИРИДОВИЧ, В. А. ТИМОФЕЕВА

АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА И ФИТОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *BEGONIACEAE*

Центральный ботанический сад НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 22.12.2008)

Дана оценка интегральной антиоксидантной активности и проведен биохимический скрининг содержания биологически активных соединений (флавонолов, антоцианов, катехинов, аскорбиновой кислоты, гидрофильного пектина и протопектина) восьми представителей семейства *Begoniaceae*. Показана перспективность использования такого показателя, как интегральная антиоксидантная активность для скрининга растительного сырья с целью расширения номенклатуры лекарственных растений, что свидетельствует о необходимости исследований в области антиоксидантных свойств лекарственных растений, фитопрепаратов и биологически активных добавок растительного происхождения.

Введение

В последнее десятилетие свободные радикалы и их роль в развитии заболеваний стали предметом многих исследований. Существует большое количество доказательств, что они участвуют в развитии более 50 заболеваний, в том числе и трудноизлечимых. Так, активация процессов перекисного окисления липидов в тканях организма приводит к развитию патологий, обусловленных свободными радикалами, таких как атеросклероз, гипертония, ишемическая болезнь сердца, онкология, катаракта и др. Для коррекции указанных состояний рекомендуют лечебные и профилактические средства, а в настоящее время все чаще применяют малотоксичные препараты природного происхождения, содержащие большой набор биоантиоксидантов: витаминов, полифенолов, флавоноидов, катехинов и таннинов, обладающих мягким воздействием на организм и сравнительно низкой токсичностью [1–9].

Анализ развития тенденции в разработке новых препаратов показывает, что в последнее десятилетие во всем мире наблюдается повышенный интерес к лекарственным субстанциям растительного происхождения. Эта динамика характерна не только для стран, традиционно использующих лекарственные растения (Индия, Китай, Вьетнам), но и для государств с высокоразвитой химико-фармацевтической промышленностью (США, Германия), имеющих

большие возможности для проведения работ в области синтеза широкого спектра лекарственных форм.

В настоящее время биологически активные вещества, используемые в фармацевтической промышленности, выделяют из растений, часто принадлежащих к редким видам. В связи с этим идет активный поиск новых источников получения биологически активных соединений растительного происхождения, важное место среди которых занимают таксоны тропических растений, в частности семейство бегониевых (*Begoniaceae*).

При финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований совместно с Институтом химии Вьетнамской академии наук и технологий ведутся исследования по изучению биохимического состава и антиоксидантной активности растений семейства *Begoniaceae*.

Семейство *Begoniaceae* насчитывает свыше 800 видов. Представители семейства характеризуются наличием широкого спектра продуктов вторичного обмена — алкалоидами, изопреноидами, фенольными соединениями, что в значительной степени определяет практическое использование растений этого семейства в фармацевтической промышленности в качестве основы лекарственных препаратов [10; 11].

Цель работы — дать оценку интегральной антиоксидантной активности (ИАА) и провести биохимический скрининг содержания биологически активных соединений у представителей *Begoniaceae*.

Материалы и методы исследований

В качестве объектов исследования использовали листья растений семейства *Begoniaceae* из коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси, собранные в фазу цветения.

Электрохимическая оценка ИАА [12—14]. Экстрагирование растительного сырья проводили в соответствии с ГФ Республики Беларусь. В мерную колбу емкостью 100 мл помещали 10 г экстрагируемого растительного сырья, измельченного до размера частиц 3 мм, и доводили 70 %-ным этанолом до метки. Затем отстаивали 3 сут при температуре не выше 10 °С. Полученный экстракт фильтровали.

Определение ИАА проводили с помощью кулонометрического титрования с внутренним генерированием соединений брома на потенциостате П-5827М (Украина) (рис. 1). В качестве

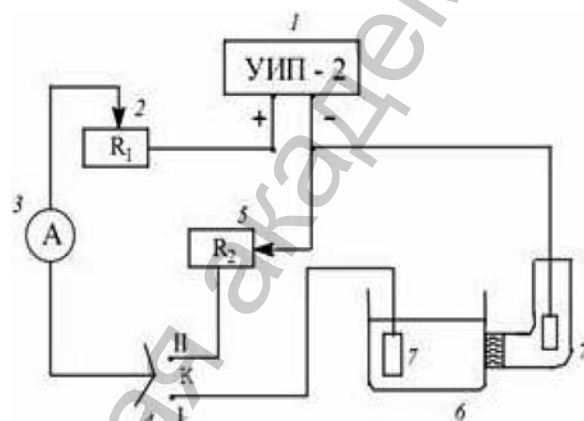


Рис. 1. Установка для электрохимической оценки ИАА: 1 — источник постоянного тока ($I = 0-250$ мкА); 2 — реостат; 3 — миллиамперметр; 4 — двойной ключ: I — включена ячейка, II — включено балластное сопротивление; 5 — балластное сопротивление; 6 — ячейка для исследуемого раствора; 7 — платиновые электроды

рабочего электрода использовали платиновую пластину площадью 1 см². Вспомогательный электрод состоял из платиновой спирали. Катодная камера, в которую помещали вспомогательный электрод, отделялась от анолита полупроницаемой перегородкой. Кулонометрическое титрование проводили в гальваностатическом режиме ($I = 5$ мА). Конечную точку устанавливали амперометрически с двумя поляризованными игольчатыми платиновыми электродами ($\Delta E = 300$ мВ). Бром генерировали из водного раствора 0,2 моль/л брома калия в присутствии 0,1 моль/л серной кислоты с выходом по току 100 %.

В ячейку вместимостью 50 мл вводили 20 мл фонового электролита, опускали электроды и включали генераторную цепь. По достижении определенной величины индикаторного тока в ячейку вносили аликвоту исследуемого раствора и одновременно включали секундомер. Конечную точку титрования фиксировали после установления первоначального индикаторного тока, отключали секундомер и генераторную цепь.

Количество электричества в кулонах, затрачиваемое на титрование, рассчитывали по формуле

$$Q = (100 \cdot I \cdot t) / V,$$

где Q — количество электричества, Кл; I — сила тока, А; t — время достижения конечной точки титрования, с; V — объем аликвоты, мл. Единицы измерения ИАА — кКл/100 мл.

Количественное определение аскорбиновой кислоты [15]. 5 г растительного материала измельчали в присутствии 2 %-ной метафосфорной кислоты и доводили объем до 100 см³ этой же кислотой. Вытяжку центрифугировали. Брали три пробы по 10 см³ в конические колбы и приливали к ним по 1 см³ 0,025 %-ного раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола. Через 35 с измеряли оптическую плотность на спектрофотометре «Agilent 8453 UV — visible» (США) при длине волны 530 нм в кювете с рабочей длиной 10 мм против 2 %-ной метафосфорной кислоты. Параллельно спектрофотометрировали 10 см³ 2 %-ной метафосфорной кислоты с 1 см³ 0,025 %-ного раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола (контроль). Для вычисления содержания аскорбиновой кислоты строили калибровочный график, а затем рассчитывали по формуле

$$x = a \cdot V / m,$$

где x — количество аскорбиновой кислоты, мг/100 г; a — содержание аскорбиновой кислоты, мкг/см³ вытяжки, найденное по калибровочному графику; m — масса навески, г; V — объем вытяжки, см³.

Количественное определение флавонолов [15]. К 2 см³ исходного спиртового раствора, добавляли 2 см³ 2 %-ного раствора хлорида алюминия и 6 см³ 5 %-ного раствора ацетата натрия. В контроль вместо 2 см³ 2 %-ного раствора хлорида алюминия добавляли 2 см³ дистиллированной воды. Через 2,5 ч спектрофотометрировали при 440 нм с рабочей длиной кюветы 10 мм. Содержание суммы флавонолов (мг/100 г в пересчете на рутин) находили по формуле

$$x = k \cdot (D - D_1) \cdot V \cdot p \cdot 100 / m,$$

где x — содержание суммы флавонолов, мг/100 г; k — коэффициент пересчета по калибровочной кривой, построенный по рутину (0,655); D — оптическая

плотность опытного раствора; D_1 — оптическая плотность контрольного раствора; V — объем спиртовой вытяжки, см^3 ; p — степень разведения; m — масса навески растительного материала, г.

Количественное определение антоцианов [15]. 2 г измельченного растительного материала заливали смесью 20 см^3 этилового спирта с 1 %-ным содержанием хлороводородной кислоты и выдерживали 24 ч при 4°C . Затем растирали и извлекали антоцианы на воронке Бюхнера. После чего спектрофотометрировали при 529 нм в кювете с рабочей длиной 1 см . Количество антоцианов находили по калибровочному графику. Содержание антоцианов ($\text{мг}/100 \text{ г}$) вычисляли по формуле

$$x = k \cdot D \cdot V \cdot 100 / m,$$

где x — содержание антоцианов, $\text{мг}/100 \text{ г}$; k — коэффициент, рассчитанный по калибровочной кривой; D — оптическая плотность раствора; V — объем экстракта, см^3 ; m — масса навески, г.

Количественное определение катехинов [15]. После удаления водорастворимых фенольных соединений приступали к выделению фракции катехинов. Для этого остаток на фильтре промывали 15 см^3 50 %-ного метилового спирта, а потом 10 см^3 70 %-ного метилового спирта. Из полученного метанольного элюата брали 1 см^3 , добавляли 5 см^3 ванилинового реактива и через 15 мин спектрофотометрировали в кювете толщиной 3 мм при 530 нм . Калибровочную кривую строили по d -катехину. Расчет содержания катехинов производили по формуле

$$x = k \cdot D \cdot V_2 \cdot V_3 \cdot 100 / (m \cdot V_1),$$

где x — количество свободных катехинов, $\text{мг}/100 \text{ г}$; D — оптическая плотность исследуемого раствора; k — коэффициент пересчета по калибровочной кривой; V_3 — объем метанольного элюата, см^3 ; V_2 — объем исходного экстракта, см^3 ; V_1 — объем экстракта, нанесенного на полиамид, см^3 ; m — масса навески, г.

Количественное определение гидрофильного пектина и протопектина [15]. Экстракция гидрофильного пектина. Измельченную навеску растительного материала массой 10 г заливали горячим этиловым спиртом (из расчета получения конечной концентрации спирта $80\text{—}82^\circ$) и нагревали на кипящей водяной бане с дефлегматором 30 мин для извлечения сахаров, затем фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу. Обработку спиртом одной и той же навески повторяли 3 раза для полного удаления сахаров. Фильтр вместе с остатком подсушивали при 50°C до удаления этилового спирта. Затем остаток вместе с фильтром помещали в колбу и приливали 50 см^3 воды, нагретой до 45°C , и при этой температуре экстрагировали гидрофильный пектин на водяной бане в течение 1 ч . Жидкость фильтровали в мерную колбу на 100 см^3 , промывали дистиллированной водой и, охладив, доводили объем до метки.

Экстракция протопектина. Остаток после извлечения водой переносили в экстракционную колбу, заливали 50 см^3 0,3 н. хлороводородной кислоты и нагревали 30 мин на кипящей водяной бане с дефлегматором. Фильтровали в мерную колбу на 200 см^3 и промывали 3 раза горячей дистиллированной

водой. Затем фильтр вместе с осадком возвращали в ту же экстракционную колбу, приливали 50 см³ 1 %-ного раствора лимоннокислого аммония и ставили на кипящую водяную баню на 30 мин. Фильтровали в мерную колбу, где находился фильтрат солянокислой вытяжки, промывали горячей водой, после охлаждения доводили водой до метки.

Проведение реакции деметоксилирования. К 10 см³ вытяжки добавляли 10 см³ раствора 0,05 н. гидроксида калия и через 30 мин 10 см³ раствора 0,05 н. хлороводородной кислоты. В 3 пробирки брали по 0,5 см³ экстракта гидрофильного пектина (или протопектина), охлаждали и приливали по 3 см³ раствора бората в серной кислоте ($\rho = 1,84 \text{ г/см}^3$), охлажденного до температуры 4 °С. Затем нагревали 6 мин на кипящей водяной бане, после чего опять охлаждали.

Проведение реакции с карбазолом. В каждые 2 пробирки (из трех) с экстрактом пектина добавляли по 0,1 см³ 0,2 %-ного раствора карбазола и нагревали на водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения и спектрофотометрировали при 535 нм в кювете с рабочей длиной 5 мм. Контролем служила третья пробирка, в которой смешивали раствор бората в серной кислоте с водой (3 : 0,5). По калибровочной кривой, построенной по галактурановой кислоте, находили ее содержание (мкг) по оптической плотности пробы. Определение содержания гидрофильного пектина или протопектина (%) производили по формуле

$$x = a \cdot V_2 \cdot V \cdot 10^2 / (m \cdot V_3 \cdot V_1 \cdot 10^6),$$

где x — содержание гидрофильного пектина (или протопектина), %; a — содержание галактурановой кислоты в пробе, найденное по калибровочной кривой, мкг; m — масса навески, г; V — объем экстракта, полученного из навески, см³; V_1 — объем, взятый для разведения, см³; V_2 — объем, полученный после разведения, см³; V_3 — объем пробы, взятой для реакции с карбазолом, см³; 10^2 — коэффициент перевода в проценты; 10^6 — коэффициент перевода в граммы.

Статистическая обработка экспериментальных данных [16]. Все анализы проводились в 4-кратной повторности, полученные результаты обрабатывались с использованием компьютерной программы Statistica 6.0, данные считали достоверными при $P < 0,05$. Величины расхождения между исследуемыми данными в выборке и генеральной совокупности рассчитывали с использованием статистической ошибки для среднего. Диапазон, в котором с заданной вероятностью находились исследуемые величины для генеральной совокупности, рассчитывали с помощью доверительного интервала для среднего. Сравнение выборок выполняли по среднему значению величины, по дисперсиям. При решении таких задач вычисляли вероятность нулевой гипотезы.

Результаты и их обсуждение

Для физиологически активных соединений различных классов, выделяемых из природных объектов, с точки зрения проявления биологической активности наиболее часто используемой характеристикой является ИАА.

Исследование этого параметра особенно актуально для галеновых препаратов и биологически активных добавок, применяемых для терапии и профилактики патологических состояний организма человека. К наиболее широко известным препаратам такого свойства относятся растительные экстракты.

Модельные системы, в которых критерием ИАА являются электрохимические процессы, сопровождающиеся окислительно-восстановительными реакциями и генерацией свободных радикалов, в настоящее время получили широкое распространение. При этом одним из направлений исследований является изучение ИАА препаратов растительного происхождения в модельной системе на основе электрохимической генерации активных форм брома.

В результате электрохимического скрининга выявлена ИАА для восьми таксонов семейства *Begoniaceae*, а именно *Begonia rex* Putzeys. cv. **Merry Chrystmas**, *Begonia diadema* Linden cv. Kupfer Koenigin, *Begonia heracleifolia* Cham. et Schlecht., *Begonia lucerna* (Wettst.) hort., *Begonia bowery* Ziesenh., *Begonia* Tiger, *Begonia masoniana* Irmsch. и *Begonia x erytrophylla* Neum.

В качестве стандарта ИАА использовали натриевую соль поли-(пара-диокси-пара-фенилен) тиосерной кислоты (торговое название «Митофен»). Митофен — это антигипоксантиоксидант пролонгированного действия. Его структурными аналогами являются убихинон, цитохром С, коэнзим Q₁₀, солкосерин, биофен, олифен и гипоксен.

Наибольшую ИАА проявил экстракт из листьев *Begonia bowery* Ziesenh. (рис. 2) — 38,6 % от ИАА стандарта — натриевой соли поли-(пара-диокси-

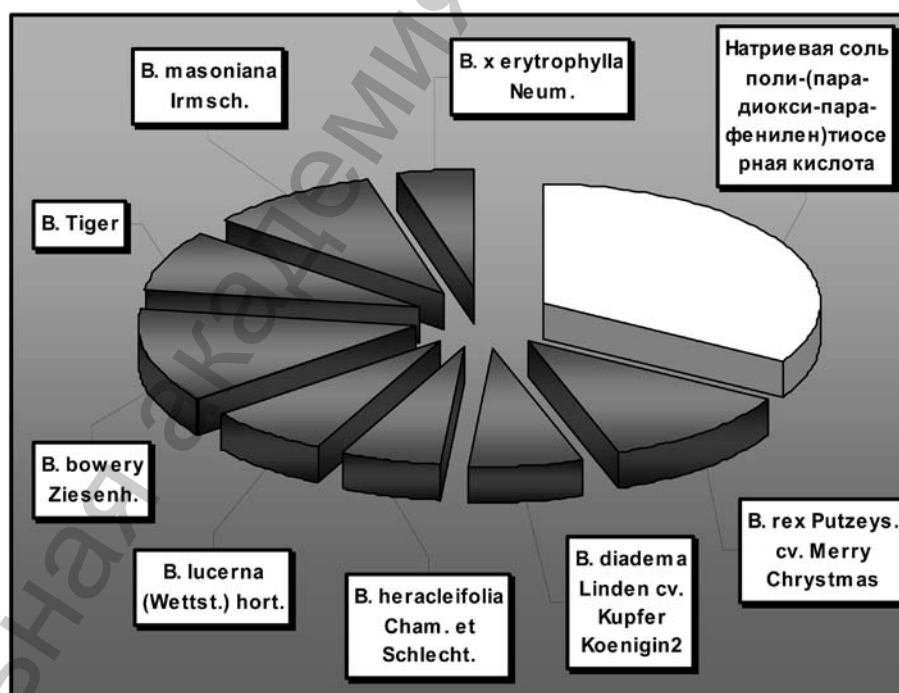


Рис. 2. ИАА экстрактов представителей сем. *Begoniaceae*

пара-фенилен) тиосерной кислоты. Небольшое снижение антиокислительной активности зарегистрировано для *Begonia rex* Putzeys. cv. Merry Chrystmas, 33,8 % от активности митофена. Для *Begonia masoniana* Irmsch. зарегистрирована ИАА 29,8 %. Такие таксоны, как *Begonia Tiger*, *Begonia lucerna* (Wettst.) hort. и *Begonia diadema* Linden cv. Kupfer Koenigin показали сравнительно одинаковый уровень ИАА — 24,3, 21,9 и 19,9 % соответственно от ИАА митофена. *Begonia heracleifolia* Cham. et Schlecht. и *Begonia x erytrophylla* Neum. проявили самый низкий уровень ИАА — 17,4 и 13,5 % соответственно.

Электрохимическое окисление бромид-анионов на платиновом электроде в кислых средах приводит к образованию Br_3^- , Br_2 , а также короткоживущих радикалов брома. Образующиеся при электроокислении соединения брома способны вступать в радикальные, окислительно-восстановительные, электрофильного замещения и присоединения по кратным связям реакции, что позволило охватить широкий спектр физиологически активных соединений изученных таксонов. На основании чего можно утверждать, что уровень ИАА является комплексным показателем, характеризующим суммарное содержание действующих веществ различных классов в экстрактах растений семейства *Begoniaceae*.

Следующим этапом исследования являлся биохимический скрининг содержания биологически активных соединений у таксонов семейства *Begoniaceae* (таблица).

В ходе аналитико-биохимического исследования установлено содержание общей суммы антоцианов, катехинов, флавонолов, гидрофильного пектина, протопектина, а также аскорбиновой кислоты. Выбор данных групп биологически

Содержание физиологически активных соединений у представителей сем. *Begoniaceae*, мг/100 г

Таксон	Антоцианы	Катехины	Флавонолы	Аскорбиновая кислота	Гидрофильный пектин	Протопектин
<i>Begonia rex</i> Putzeys. cv. Merry Chrystmas	3654 ± 136	788,6 ± 35	2963 ± 110	6,6 ± 0,29	1,38 ± 0,07	3,97 ± 0,2
<i>Begonia diadema</i> Linden cv. Kupfer Koenigin	3939 ± 163	376,3 ± 18	1215 ± 64	19,2 ± 0,84	1,86 ± 0,08	9,32 ± 0,4
<i>Begonia heracleifolia</i> Cham. et Schlecht.	2148 ± 96	394,4 ± 18	1744 ± 93	19,5 ± 0,63	0,93 ± 0,03	6,32 ± 0,2
<i>Begonia lucerna</i> (Wettst.) hort.	4886 ± 210	478,7 ± 16	1429 ± 63	12,4 ± 0,73	0,28 ± 0,01	8,72 ± 0,3
<i>Begonia bowery</i> Ziesenh.	5465 ± 267	479,1 ± 18	2696 ± 115	9,6 ± 0,38	0,8 ± 0,02	12,79 ± 0,5
<i>Begonia Tiger</i>	3766 ± 163	304,6 ± 13	2526 ± 103	13,6 ± 0,33	0,68 ± 0,05	7,76 ± 0,5
<i>Begonia masoniana</i> Irmsch.	4963 ± 263	359,7 ± 19	2456 ± 183	8,6 ± 0,54	0,91 ± 0,05	7,94 ± 0,4
<i>Begonia x erytrophylla</i> Neum.	1569 ± 53	436,3 ± 18	1759 ± 87	7,5 ± 0,33	0,87 ± 0,06	2,26 ± 0,1

активных соединений в качестве объектов биохимического исследования обусловлен их значительным вкладом в формирование терапевтических свойств растительного сырья.

Результаты анализа показали значительную гетерогенность по содержанию фенольных соединений среди представителей семейства *Begoniaceae*. Антоцианы не являются основными действующими веществами растительного сырья, но в целом участвуют в общем фармакологическом действии представленных таксонов. В основе их строения лежит катион флавилия, у которого кислород в пирановом кольце обладает свободной валентностью. Антоцианы обуславливают интенсивную красную окраску листьев растений семейства *Begoniaceae*, за счет большого количества метоксильных групп в своем составе, а также способности образовывать комплексы с катионами кальция и магния [17]. Наибольшее содержание антоцианов установлено для *Begonia bowery* Ziesenh. — 5465 ± 267 , по содержанию катехинов и флавонолов вид уступает *Begonia rex* Putzeys. cv. Merry Chrystmas ($479,1 \pm 18$, 2696 ± 115 мг/100 г — *Begonia bowery* Ziesenh. и $788,6 \pm 35$, 2963 ± 110 мг/100 г — *Begonia rex* Putzeys. cv. Merry Chrystmas соответственно). Практически равное количество антоцианов выявлено у *Begonia masoniana* Irmsch. и *Begonia lucerna* (Wettst.) hort. (таблица). Затем наблюдается некоторое снижение содержания общей суммы антоцианов в растительном сырье *Begonia rex* Putzeys. cv. Merry Chrystmas, *Begonia diadema* Linden cv. Kupfer Koenigin, *Begonia Tiger*: 3654 ± 136 , 3939 ± 163 и 3766 ± 163 мг/100 г соответственно. Минимальное содержание биологически активных соединений антоциановой природы установлено для *Begonia heracleifolia* Cham. et Schlecht. и *Begonia x erytrophylla* Neum. — 2148 ± 96 и 1569 ± 53 мг/100 г.

Среди изученных классов фенольных соединений наименьшая гетерогенность в количественном распределении по таксонам характерна для катехинов. Это бесцветные соединения, в основе структуры которых лежит система 2-фенилхромана. Катехины являются наиболее восстановленными флавоноидными соединениями, легко поддаются окислению, в ходе которого приобретают окраску. Катехины характеризуются ярко выраженной способностью к полимеризации и являются предшественниками конденсированных танинов. По К. Фрейденбергу, конденсация катехинов сопровождается разрывом колец гетероциклов и образованием линейных полимеров с большой молекулярной массой. Катехины проявляют Р-витаминную активность, а именно укрепляют сосудистую стенку посредством ингибирования окисления адреналина, который стимулирует деятельность гипофиза, а последний, в свою очередь, секрецию кортикостероидов. Кроме того, влияют на сосудистую проницаемость, воздействуя на систему гиалуроновая кислота—гиалуронидаза, ингибируя гиалуронидазу [17; 18]. Для таких представителей семейства *Begoniaceae*, как *Begonia diadema* Linden cv. Kupfer Koenigin, *Begonia heracleifolia* Cham. et Schlecht., *Begonia lucerna* (Wettst.) hort., *Begonia Tiger*, *Begonia masoniana* Irmsch. и *Begonia x erytrophylla* Neum., *Begonia bowery* Ziesenh. разница в содержании общей суммы катехинов колебалась в небольших пределах (таблица) и в среднем составило $404,1 \pm 17$ мг/100 г. Максимальное количество биологически активных веществ катехиновой природы установлено для *Begonia rex* Putzeys. cv. Merry Chrystmas.

Флавонолы — многочисленная группа флавоноидов, у которых в отличие от флавонов имеется в наличии дополнительная гидроксильная группа [19]. По содержанию флавонолов изученные таксоны можно разделить на две группы. У первой содержание общей суммы флавонолов находилось в пределах от 2963 ± 110 до 2456 ± 183 мг/100 г. К ней относятся *Begonia rex* Putzeys. cv. Merry Chrystmas, *Begonia bowery* Ziesenh., *Begonia Tiger* и *Begonia masoniana* Irmsch. Количество биологически активных соединений флавоноловой природы у второй группы колебалось от 1215 ± 64 до 1759 ± 87 мг/100 г: *Begonia diadema* Linden cv. Kupfer Koenigin, *Begonia heracleifolia* Cham. et Schlecht., *Begonia lucerna* (Wettst.) hort. и *Begonia x erytrophylla* Neum.

Аскорбиновая кислота — один из наиболее широко распространенных в природе витаминов. Благодаря обратимым окислительно-восстановительным реакциям витамин является компонентом биологической антиоксидантной системы. Аскорбиновая кислота — кофактор реакций гидроксилирования пролина при синтезе коллагена, гидроксилирования *p*-оксифенилпирувата в гомогентизиновую кислоту, превращений кортикостероидов и трансферина [18]. Содержание аскорбиновой кислоты у всех изученных представителей семейства *Begoniaceae* находилось в пределах от $6,6 \pm 0,29$ (*Begonia rex* Putzeys. cv. Merry Chrystmas) до $19,5 \pm 0,63$ мг/100 г (*Begonia heracleifolia* Cham. et Schlecht.) и в среднем для всех восьми таксонов содержание витамина С составило $12,1 \pm 0,50$ мг/100 г.

Данные по содержанию гидрофильного пектина и протопектина в листьях некоторых представителей семейства *Begoniaceae* представлены в таблице. Пектиновые вещества — высокомолекулярные гетерополисахариды, основным компонентом которых является α -D-галактуроновая кислота (83—90 %). Гидрофильный пектин и протопектин *in vivo* находятся в динамическом равновесии и могут превращаться друг в друга, например под влиянием пектолитических ферментов. В клинической практике пектиновые вещества используют как кровоостанавливающие препараты, антисептики и хелаторы тяжелых металлов, а также в качестве противовоспалительных и гипотензивных препаратов [19]. Общее содержание гидрофильного пектина ниже по сравнению с протопектином в изученных образцах. Максимальное его содержание установлено для *Begonia diadema* Linden cv. Kupfer Koenigin ($1,86 \pm 0,08$ мг/100 г) и *Begonia rex* Putzeys. cv. Merry Chrystmas ($1,86 \pm 0,08$ мг/100 г), для всех остальных представителей бегониевых содержание гидрофильного пектина ниже 1 мг/100 г и в среднем составило $0,74 \pm 0,04$ мг/100 г. Содержание протопектина среди изученных таксонов колебалось от $2,26 \pm 0,1$ (*Begonia x erytrophylla* Neum.) до $12,79 \pm 0,5$ мг/100 г (*Begonia bowery* Ziesenh.).

Таким образом, проведен скрининг биохимического состава и ИАА некоторых представителей семейства *Begoniaceae*. Процесс окисления экстрактивных веществ изученных таксонов активными формами брома является одной из перспективных модельных систем для оценки ИАА препаратов на основе растительного сырья бегониевых. Такая система позволила провести оценку антиоксидантной активности сложных смесей растительного происхождения без предварительного выделения индивидуальных компонентов. Исследование ИАА представленных растительных объектов в единых условиях является

актуальной задачей фармацевтического анализа, так как это позволит в дальнейшем разработать единые требования к качеству лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов на основе семейства *Begoniaceae*.

ИАА и полученные данные по содержанию биологически активных соединений являются комплексным показателем качества растительного сырья и могут быть успешно использованы для его стандартизации. Введение теста на ИАА в дальнейшем может позволить быстро и достаточно точно проводить оценку качества используемого растительного сырья семейства *Begoniaceae*; составлять многокомпонентные препараты с заданной антиоксидантной активностью; расширить показания к применению лекарственных препаратов и определять наиболее селективный растворитель для извлечения действующих веществ из данного растительного материала.

Выводы

Дана оценка ИАА и проведен биохимический скрининг содержания биологически активных соединений (флавонолов, антоцианов, катехинов, аскорбиновой кислоты, гидрофильного пектина и протопектина) у восьми представителей семейства *Begoniaceae*.

Показана перспективность использования такого показателя, как ИАА для скрининга растительного сырья с целью расширения номенклатуры лекарственных растений, что свидетельствует о необходимости исследований в области антиоксидантных свойств и биохимического состава лекарственных растений, фитопрепаратов и биологически активных добавок растительного происхождения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б08В-002).

Литература

1. Halvorsen B. L., Holte K., Myhrstad M. C. W. et al. // *J. Nutr.* 2002. Vol. 132, N 3. P. 461–471.
2. Matthaus B. // *J. Agr. Food Chem.* 2002. Vol. 50, N 12. P. 3444–3452.
3. Ladas E. J., Jacobson J. S., Kennedy D. D. et al. // *J. Clin. Oncol.* 2004. Vol. 22, N 3. P. 517–527.
4. Halliwell B. // *Drug Aging.* 2001. Vol. 18, N 9. P. 685–716.
5. Vertuani S., Angusti A., Manfredini S. // *Curr. Pharm. Design.* 2004. Vol. 10, N 14. P. 1677–1694.
6. Kaul N., Devaraj S., Jialal I. // *Exp. Biol. Med.* 2001. Vol. 226, N 1. P. 5–12.
7. Gaetke L. M., Chow C. K. // *Toxicology.* 2003. Vol. 189, N 1–2. P. 147–163.
8. Fang Y. Z., Yang S., Wu G. Y. // *Nutrition.* 2002. Vol. 18, N 10. P. 872–879.
9. Violi F., Loffredo L., Musella L., Marcocchia A. // *Heart.* 2004. Vol. 90, N 6. P. 598–602.
10. Шахова Г. И. Бегонии. М., 2006. — 126 с.
11. Шерякова А. А. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья. Молодечно, 2008. Т. 2. С. 309–310.
12. Годовальников Г. В. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Общие методы контроля качества лекарственных средств. Минск, 2006. Т. 1. С. 630.
13. Абдулин И. Ф. // *Материалы II всероссийской конф.: Химия и технология растительных веществ.* Казань, 2002. С. 77–78.

14. Турова Е. Н. // Материалы поволжской конференции по аналитической химии. Казань, 2001. С. 77–78.
15. Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений. Л., 1987. С. 90–91, 113–115, 158–160.
16. Годовальников Г. В. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Общие методы контроля качества лекарственных средств. Минск, 2006. Т. 1. С. 516–538.
17. Муравьева Д. А. Фармакогнозия. М., 1978. С. 530–620.
18. Анисимов А. А. и др. Основы биохимии. М., 1986. С. 487–489.
19. Блинова К. Ф. и др. Ботанико-фармакогностический словарь. М., 1990. С. 104, 144.

A. V. BASHILOV, E. V. SPIRYDOVICH, V. A. TSIMAFYEVA

**ANTIOXIDIZING PROPERTIES AND PHYTOCHEMICAL COMPOSITION
REPRESENTATIVES OF FAMILY *BEGONIACEAE***

Summary

It is investigated integrated antioxidizing activity and biochemical screening the content of biologically active substance (flavonols, antocyanes, catechins, ascorbic acid, hydrophilic pectin and protopectin) eight representatives of family *Begoniaceae*. Perspectivity of use of such parameter as integrated antioxidizing activity for screening vegetative raw material with the purpose of expansion of the nomenclature of medical herbs, that testifies to necessity of researches in the field of antioxidizing properties of medical herbs, phytopreparats and biologically active additives of a phytogenesis is shown.

УДК 661.185:543.422.27

И. И. ЛИШТВАН, В. П. СТРИГУЦКИЙ, Т. Я. ЦАРЮК, И. В. ДРЕБЕНКОВА

ВЛИЯНИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ КОЛЛОИДНЫХ СТРУКТУР МАСЛОРАСТВОРИМЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА СИНЕРГИЗМ ИХ КОМПОЗИЦИЙ

Институт природопользования НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 12.05.2009)

Установлено, что синергизм композиций на основе товарного маслорастворимого ингибитора коррозии АКОР-1 обусловлен обменным взаимодействием π -электронов исходных компонентов, приводящим к формированию коллоидных структур с повышенной способностью к взаимодействию с поверхностью металла. Использование спектральных методов позволяет прогнозировать синергизм и сокращать тем самым необходимый объем экспериментов при разработке новых композиций.

Введение

Использование эффекта синергизма является в современном материаловедении одним из принципиальных подходов при разработке новых материалов [1]. Заметим, что в практике защиты металлоизделий от коррозии ведущими зарубежными фирмами **Castrol, Valvoline, BP, Esso, Texaco** и другими применяются, как правило, комбинированные маслорастворимые ингибиторы коррозии на основе оптимального сочетания компонентов, обеспечивающего максимальный синергизм. В ГНУ «Институт природопользования НАН Беларуси» для предприятий машиностроительного комплекса Республики Беларусь на основе отечественного сырья был разработан ряд материалов, требуемый уровень эксплуатационных свойств которых обеспечивался благодаря эффекту синергизма [2].

Встречаются предположения, что синергизм композиций маслорастворимых ингибиторов коррозии обусловлен трансформацией ассоциатов (коллоидных структур) поверхностно-активных веществ (ПАВ), способствующей взаимодействию их с поверхностью металла [3]. Однако отсутствие прямых методов анализа межмолекулярных взаимодействий в композициях маслорастворимых ПАВ оставляло данную концепцию на уровне гипотезы. Поэтому цель работы заключалась в доказательстве трансформации коллоидных струк-

тур в композициях с синергетическим эффектом, установлении возможных механизмов взаимодействия исходных компонентов и обосновании взаимосвязи их с защитными свойствами композиций.

Объект и методы исследования

Объектом исследования являлись композиции на основе товарного ингибитора коррозии АКОР-1, представляющего собой нитрованное минеральное масло. Поскольку высокое содержание ароматических систем полисопряжения является принципиальной структурной особенностью АКОР-1, то в качестве синергистов использовали побочный продукт жирового производства ЖГ, а также производимые ОАО «Нафтан» алкилфенол АФ и сукцинимидную присадку С-5А, которые обладают защитными свойствами и отличаются содержанием и характером систем сопряженных связей.

Для выполнения экспериментов были приготовлены изопроцентные растворы (одинаковое общее содержание растворенных компонентов при различных их соотношениях) выбранных композиций в суммарной концентрации 10 % (здесь и далее по тексту проценты массовые) в минеральном масле И-20А.

Защитные свойства объектов исследования определяли по ГОСТ 9.054-75 на стали 10 в сернистом ангидриде, электролите и при воздействии бромоводородной кислоты. Методика расчета коэффициента синергизма защитных свойств приведена в [4].

В качестве неразрушающего метода исследования взаимодействия исходных компонентов использовали электронный парамагнитный резонанс (ЭПР). Обоснуем выбор данного метода. В литературе парамагнетизм нефтяных систем объясняется наличием свободных радикалов, находящихся в центре диамагнитных частиц [5]. Очевидно, что концепция примесных парамагнитных частиц (ПМЦ) не дает объяснения взаимосвязи параметров спектров ЭПР со структурными особенностями и функциональными свойствами анализируемых систем.

Авторы объясняют парамагнетизм маслорастворимых ПАВ генерацией неспаренных π -электронов вследствие выигрыша энергии, имеющего место при формировании коллоидных частиц, при преобладающей роли синергетического эффекта взаимодействия ароматических фрагментов (даже разделенных колец) и водородных связей, формируемых функциональными группами, которые в основном и определяют защитные свойства этих ПАВ [3].

Остановимся на принципиальных отличиях природы парамагнетизма коллоидных структур и классических свободных радикалов. В последних неспаренный спин принадлежит внешней атомной или молекулярной орбитали одиночного (изолированного) молекулярного фрагмента. В коллоидных же структурах он делокализован по нескольким молекулярным фрагментам. В сопряженной π -системе делокализация неспаренного электрона может осуществляться на большие расстояния [6]. Фактически в коллоидных частицах имеет место не миграция собственно неспаренного электрона как материальной частицы, а характерная для низкоразмерных структур делокализация спиновой плотности [7]. Данное обстоятельство объясняет как необычную стабильность

парамагнетизма маслорастворимых ПАВ (неспаренные электроны не рекомбинируют в жидкой фазе!), так и чувствительность спектров ЭПР к размерам и химической структуре коллоидных систем, что в свою очередь дает возможность определения взаимосвязи между спектральными характеристиками и функциональными свойствами маслорастворимых ПАВ и их композиций.

Методики регистрации и обработки спектров ЭПР приведены в [8].

Результаты и их обсуждение

Высокие значения интенсивности, ширины и g -фактора сигнала ЭПР образца АКОР-1 по сравнению с ЖГ (табл. 1), а также низкая степень насыщения его СВЧ-мощностью (высокое значение параметра A/A_0) согласуются с большими размерами жестких коллоидных частиц первого и наличием в них кислорода и азота. Параметры сигнала ЭПР ЖГ, в первую очередь низкое значение g -фактора, свидетельствуют, что кислотные группы связаны исключительно с алифатическими структурами. Столь четкие отличия в парамагнитных свойствах анализируемых компонентов обуславливают информативность использования ЭПР-спектроскопии для исследования на молекулярном уровне механизма их взаимодействия.

Растворение в масле И-20А по-разному воздействуют на ЭПР-спектры АКОР-1 и ЖГ. Для первого оно не оказывает влияния ни на интенсивность, ни на параметры сигнала ЭПР (табл. 1). Данный факт свидетельствует о том, что хотя в технологическом плане АКОР-1 растворяется в минеральном масле, однако надмолекулярные ассоциаты (коллоидные частицы) его дисперсной фазы полностью сохраняются, что согласуется с их высокой молекулярной жесткостью. Для ЖГ наблюдаются снижение концентрации ПМЦ по сравнению с теоретической в 2 раза, сужение ширины линии (уменьшение ΔH) и ослабление степени насыщения сигнала СВЧ-мощностью (возрастание параметра A/A_0). Эти результаты аналогичны представленным в литературе для растворимых олигомеров с системой сопряжения [9] и торфяных битумов [10],

Т а б л и ц а 1. Параметры спектров ЭПР композиций АКОР-1 и ЖГ

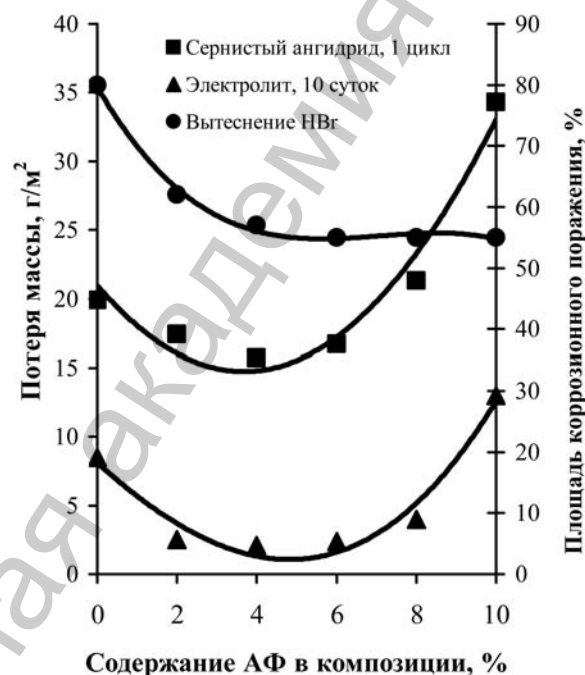
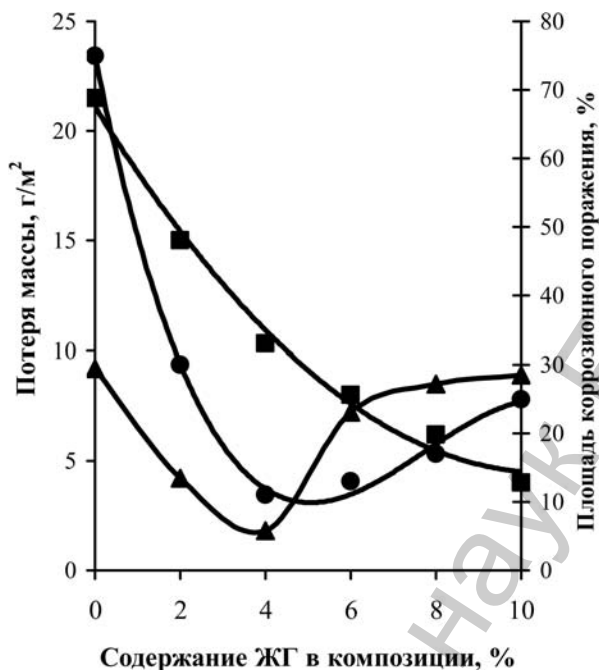
Образец	$\Delta H_{0,1\text{мВт}},$ Гс	$\Delta H_{50\text{мВт}},$ Гс	g -фактор	$N_{\text{экс.}},$ 10^{16} сп/г	$N_{\text{теор.}},$ 10^{16} сп/г	A/A_0^*	$K = N_{\text{экс.}}/N_{\text{теор.}}$
<i>Исходные образцы</i>							
АКОР-1	5,4	5,7	2,0040	48,7	48,7	6,04	1
ЖГ	4,0	4,3	2,0028	7,7	7,7	3,14	1
<i>Изопроцентные композиции</i>							
10 % АКОР-1	5,4	5,7	2,0040	4,7	4,9	6,52	0,97
8 % АКОР-1 + 2 % ЖГ	5,7	6,0	2,0038	2,3	4,0	5,51	0,57
6 % АКОР-1 + 4 % ЖГ	5,4	5,7	2,0031	1,1	3,2	6,38	0,34
4 % АКОР-1 + 6 % ЖГ	4,8	5,1	2,0030	0,8	2,4	6,94	0,30
2 % АКОР-1 + 8 % ЖГ	4,0	4,3	2,0029	0,4	1,6	7,03	0,26
10 % ЖГ	3,4	3,7	2,0028	0,4	0,8	5,68	0,5

П р и м е ч а н и е. * — A/A_0 — отношение амплитуд сигналов, снятых при 50 и 0,1 мВт.

что свидетельствует о частичном разрушении коллоидных структур. Слабость межмолекулярных взаимодействий в ЖГ, вытекающая из низкого уровня парамагнетизма и его падения при растворении, является одним из факторов лучшего защитного эффекта по сравнению с АКОР-1 (рисунок), несмотря на более высокое содержание активных структурных элементов в последнем [8].

Переходя к анализу экспериментальных данных по композиции АКОР-1 и ЖГ, необходимо принять во внимание, что если бы их парамагнетизм являлся аддитивной суммой парамагнетизма компонентов ($N_{теор.}$ в табл. 1), то параметры сигнала ЭПР были бы близки к АКОР-1 вследствие высокой концентрации в нем ПМЦ. Действительно, при добавлении к АКОР-1 2 % ЖГ параметры сигнала практически сохраняются, однако интенсивность его снижается в 2 раза. По сути, проявляется растворяющий эффект лабильных частиц ЖГ по отношению к крупным жестким коллоидным структурам АКОР-1. Данный факт согласуется с наличием систем полисопряжения в обоих компонентах, т. е. очевидно проявление принципа «подобное растворяется в подобном» [11].

При возрастании доли ЖГ до 4 % наблюдается качественный скачок, заключающийся не только в падении концентрации ПМЦ (изменение параметра K), но и резком снижении g -фактора, т. е. приближении



Влияние состава композиций на основе АКОР-1 на защитные свойства их 10 %-ных растворов в масле И-20А

Национальная академия наук Беларуси

его к наблюдаемому у ЖГ. Дальнейшее повышение содержания ЖГ приводит не только к снижению g -фактора и интенсивности сигнала, но и к его сужению, т. е. и по этому параметру имеет место приближение к ЖГ. Данные результаты представляются неординарными, поскольку, как следует из данных табл. 1, основной вклад в парамагнетизм композиций вносят ПМЦ, генерированные коллоидными структурами АКОР-1.

Таким образом, наряду с разрушением ассоциатов АКОР-1 лабильными частицами ЖГ имеет место и образование своеобразных комплексов между ними, вследствие чего неспаренные электроны, генерируемые системами полисопряжения АКОР-1, локализованы тем не менее в основном на ароматических кольцах ЖГ. Данный результат может указывать на интеркаляцию сравнительно небольших коллоидных частиц ЖГ внутри крупных ассоциатов АКОР-1. Заметим, что аналогичная ситуация наблюдалась и в каменном угле, где была показана возможность формирования единого резервуара электронной плотности для его отдельных петрографических компонентов [12], а также в торфоугольных композициях [13]. В работе [14] указывается на возможность объединения коллоидных частиц компонентов только слабыми физическими связями. В нашем случае эти связи образуются благодаря обменному взаимодействию π -электронов обоих компонентов.

Характер изменения защитных свойств композиций в зависимости от соотношения компонентов хорошо объясняется с позиций вышеизложенных данных ЭПР-спектроскопии. Существенное повышение лабильности коллоидных частиц АКОР-1 (сопровождается к тому же разблокированием активных структурных элементов вследствие раскрытия коллоидных систем), имеющее место уже при добавлении 2 % ЖГ, приводит и к улучшению защитных свойств (рисунок), при этом в среде электролита они значительно выше по сравнению с исходными компонентами. Точка со скачкообразным изменением характеристик спектров ЭПР (4 % ЖГ) характеризуется наилучшими защитными свойствами в обеих средах. Данный результат объясняется высокой способностью «объединенных» систем полисопряжения к взаимодействию с поверхностью металла. Ухудшение защитных свойств композиции при даль-

Т а б л и ц а 2. Параметры спектров ЭПР композиций АКОР-1 и АФ

Образец	$\Delta H_{0,1\text{МВт}}$, Гс	$\Delta H_{50\text{МВт}}$, Гс	g -фактор	$N_{\text{эксп.}}$, 10^{16} сп/г	$N_{\text{теор.}}$, 10^{16} сп/г	A/A_0	$K = N_{\text{эксп.}}/N_{\text{теор.}}$
<i>Исходные образцы</i>							
АКОР-1	5,3	5,6	2,0042	43,7	43,7	6,18	1
АФ	4,5	4,3	2,0029	0,5	0,5	5,15	1
<i>Изопроцентные композиции</i>							
10 % АКОР-1	6,6	5,6	2,0040	3,9	4,4	7,08	0,89
8 % АКОР-1 + 2 % АФ	5,4	5,3	2,0042	2,2	3,5	7,81	0,63
6 % АКОР-1 + 4 % АФ	6,2	6,6	2,0039	2,3	2,6	8,89	0,88
4 % АКОР-1 + 6 % АФ	6,8	7,0	2,0043	2,8	1,7	10,00	1,46
2 % АКОР-1 + 8 % АФ	6,6	6,9	2,0042	3,1	0,9	7,58	3,33
10 % АФ	сигнал не регистрируется						

нейшем повышении содержания более активного ЖГ согласуется с падением содержания вышеупомянутых систем полисопряжения.

Актуальным представляется сопоставление результатов, полученных для композиций АКОР-1 с АФ и С-5А, поскольку последние при существенных различиях в молекулярной структуре проявляют близкие защитные свойства [8].

Прежде всего следует обратить внимание на наличие сигнала ЭПР в АФ, поскольку в самом феноле он не регистрируется, а присоединение длинных алифатических фрагментов фактически снижает содержание ароматических колец приблизительно в 2 раза. Парамагнетизм в АФ объясняется синергетическим эффектом взаимодействия разделенных ароматических колец и водородных связей, придающим ему свойства полимеров с развитой системой сопряженных связей [15]. В присадке С-5А вследствие отсутствия ароматических колец сигнал ЭПР не регистрируется.

Как и в предыдущем случае (табл. 1), введение 2 % АФ к АКОР-1 приводит к падению концентрации ПМЦ (табл. 2), однако дальнейшее увеличение содержания слабопарамагнитного АФ приводит, наоборот, к возрастанию концентрации ПМЦ. Экстремальное поведение данной точки дает основание предполагать и наилучшие защитные свойства. Представленные результаты свидетельствуют о сильном межмолекулярном взаимодействии коллоидных структур исходных компонентов, приводящем, как и в случае композиции АКОР-1 с ЖГ, к формированию «объединенных» систем полисопряжения.

Добавление к АКОР-1 2 % С-5А приводит не к падению, как в предыдущих случаях, а к повышению интенсивности сигнала ЭПР (табл. 3). Из всех исследованных образцов композиций данный характеризуется наибольшей концентрацией ПМЦ, что свидетельствует о значительной жесткости надмолекулярных ассоциатов. Дальнейшее же повышение содержания С-5А приводит к непрерывному падению концентрации ПМЦ. Выполнение закона аддитивности указывает на слабое межмолекулярное взаимодействие коллоидных структур АКОР-1 и С-5А, вследствие чего нет оснований предполагать синергизм их композиций.

Т а б л и ц а 3. Параметры спектров ЭПР композиций АКОР-1 и С-5А

Образец	$\Delta H_{0,1\text{МВт}},$ Гс	$\Delta H_{50\text{МВт}},$ Гс	g-фактор	$N_{\text{эксп.}},$ 10^{16} сп/г	$N_{\text{теор.}},$ 10^{16} сп/г	A/A_0	$K = N_{\text{эксп.}}/N_{\text{теор.}}$
<i>Исходные образцы</i>							
АКОР-1	5,4	5,7	2,0041	46,3	46,3	5,87	1
С-5А	с и г н а л н е р е г и с т р и р у е т с я						
<i>Изопроцентные композиции</i>							
10 % АКОР-1	5,5	6,0	2,0042	3,8	4,6	7,14	0,82
8 % АКОР-1 + 2 % С-5А	5,8	5,5	2,0040	4,1	3,7	5,94	1,11
6 % АКОР-1 + 4 % С-5А	5,7	5,5	2,0042	2,8	2,8	6,55	1,00
4 % АКОР-1 + 6 % С-5А	5,1	6,0	2,0041	1,6	1,9	5,50	0,86
2 % АКОР-1 + 8 % С-5А	5,1	4,9	2,0039	0,9	0,9	5,70	1,00
10 % С-5А	с и г н а л н е р е г и с т р и р у е т с я						

Эффективность межмолекулярных взаимодействий в композициях АКОР-1 с ЖГ и АФ и слабость их в композиции с С-5А можно объяснить наличием ароматических фрагментов в первых и отсутствием их в С-5А. Определенные отличия в поведении спектров ЭПР композиций АКОР-1 с ЖГ и АФ обусловлены структурными особенностями ароматических фрагментов этих компонентов. В АФ находятся только разделенные кольца, а в ЖГ имеются молекулярные фрагменты полисопряжения, а также кислотные группы, что и определяет различный характер их взаимодействия с системами полисопряжения ингибитора АКОР-1.

Оценкой защитной эффективности композиций АКОР-1 с АФ и С-5А установлено, что, несмотря на близость защитных свойств последних [8], их влияние на эту характеристику композиций противоположно.

Вследствие слабости межмолекулярных взаимодействий введение С-5А не приводит к улучшению защитных свойств. Более того, для композиции, содержащей 8 % АКОР-1 и 2 % С-5А, в среде сернистого ангидрида имеет место даже антагонизм (табл. 4), что согласуется с ужесточением коллоидных структур при данном соотношении компонентов, препятствующем взаимодействию их с поверхностью металла.

В то же время добавление АФ приводит к существенному улучшению защитных свойств (рисунок), несмотря на его меньшую эффективность по сравнению с АКОР-1. При всех соотношениях компонентов коэффициент синергизма значительно выше 1 (табл. 4). При этом наилучшими свойствами характеризуются композиции, содержащие 4–6 % АФ.

Сопоставление спектральных параметров и защитных свойств композиций АКОР-1 с АФ свидетельствует, что синергизм обусловлен сильным межмолекулярным взаимодействием исходных компонентов, проявляемым, в частности, в одинаковом «седлообразном» характере изменения защитной эффек-

Т а б л и ц а 4. Влияние синергиста на защитные свойства 10 %-ных растворов композиций на основе АКОР-1

Наименование синергиста	Содержание синергиста в композиции, %	Коэффициент синергизма в условиях воздействия		
		сернистый ангидрид	электролит	бромоводородная кислота
ЖГ	2	1,2	2,2	2,2
	4	1,4	5,0	5,0
	6	1,4	1,3	3,5
	8	1,2	1,1	2,1
С-5А	2	0,7	1,0	1,2
	4	0,9	1,0	1,6
	6	1,1	1,1	1,9
	8	1,1	1,0	1,7
АФ	2	1,3	3,7	1,2
	4	1,6	4,9	1,2
	6	1,7	4,8	1,2
	8	1,5	3,0	1,1

тивности и интенсивности сигнала ЭПР (табл. 2, рисунок). Как упоминалось выше, данные спектрального анализа свидетельствуют, что именно при 4 % АФ в композиции имеет место принципиальное изменение характера взаимодействия компонентов с трансформацией их коллоидных структур. Последнее обстоятельство объясняет, на наш взгляд, улучшение защитных свойств композиций при таком соотношении компонентов. В то же время следует обратить внимание на более низкую интенсивность сигнала ЭПР в данной точке по сравнению с раствором самого АКОР-1, свидетельствующую о меньшей жесткости коллоидных структур. Представленные данные обосновывают необходимость оптимального соотношения между содержанием активных структурных элементов и молекулярной жесткостью коллоидных структур. Действительно, ужесточение коллоидных структур при дальнейшем повышении содержания АФ, фиксируемое по усилению сигнала ЭПР (табл. 2), приводит к ухудшению защитных свойств (рисунок). Однако и в этом случае сохраняются высокие значения коэффициента синергизма (табл. 4).

Столь принципиальные различия в поведении спектральных параметров и защитных свойств композиций АКОР-1 с АФ и С-5А, несмотря на близкую защитную эффективность последних, логично объясняются особенностями их молекулярной структуры. Для АФ, по определению, характерно значительное содержание ароматических фрагментов при отсутствии их в случае С-5А, что было подтверждено данными ИК-спектроскопии [8]. В то же время в [15] установлено, что синергетический эффект, обусловленный взаимодействием даже разделенных ароматических колец с водородными связями, способен приводить к формированию межмолекулярных систем полисопряжения. Очевидно, что в композициях АКОР-1 с АФ имеет место подобное взаимодействие фенольных фрагментов последнего с матрицей АКОР-1, приводящее к образованию коллоидных частиц с обобществленными системами полисопряжения оптимальных размеров и структуры, π -электроны которых эффективно взаимодействуют с поверхностью металла, что и обуславливает высокий синергизм данных композиций. Можно предположить, что при высоком содержании АФ его изолированные ароматические кольца, проникая в глубь коллоидных структур АКОР-1, образуют мостиковые связи между полисопряженными фрагментами последнего, увеличивая тем самым их эффективные размеры, аналогично непарамагнитным поливалентным катионам металла [16], что приводит к повышению концентрации ПМЦ и ухудшению защитных свойств. Отсутствие же в С-5А структурных элементов, способных к взаимодействию с полисопряженными фрагментами АКОР-1, которые в основном и формируют его коллоидные структуры, обуславливает аддитивную зависимость интенсивности сигнала ЭПР от соотношения компонентов и отсутствие синергизма (табл. 3, 4, рисунок).

Полученные результаты свидетельствуют, что основной причиной синергизма композиций АКОР-1 с ЖГ и АФ является межмолекулярное обменное взаимодействие π -электронов, приводящее к трансформации коллоидных структур исходных компонентов с формированием обобществленных систем полисопряжения, обладающих повышенной способностью к взаимодействию с поверхностью металла.

С другой стороны, различия в строении ароматических фрагментов ЖГ и АФ логично объясняют неодинаковый характер взаимодействия их с системами полисопряжения коллоидных частиц АКОР-1 и соответственно отличия в защитных свойствах композиций. Наличие полисопряженных структур в ЖГ обуславливает его более сильное растворяющее действие по отношению к коллоидным частицам АКОР-1 по сравнению с АФ, содержащим только разделенные ароматические кольца. При этом изменение не только интенсивности, но и параметров спектра ЭПР композиции АКОР-1 с ЖГ указывает на существенную трансформацию обобществленных систем полисопряжения по сравнению с исходным образцом АКОР-1. Самое высокое содержание таких обобществленных систем полисопряжения при 4 % ЖГ в композиции объясняет и ее наилучшие защитные свойства. Действительно, параметры сигнала ЭПР композиции, содержащей 2 % ЖГ (табл. 1), свидетельствуют о преобладании избыточных свободных ассоциатов АКОР-1, практически не взаимодействующих с ЖГ, которые и вносят основной вклад в парамагнетизм данного образца. Дальнейшее повышение содержания ЖГ приводит к уменьшению концентрации вышеупомянутых обобществленных систем полисопряжения из-за разрушения коллоидных структур АКОР-1, о чем свидетельствует ослабление сигнала ЭПР. При этом довольно неожиданно, что при 4 %-ном содержании ЖГ в композиции наблюдается и максимум ее вытесняющей способности, поскольку в [17] было показано, что укрупнение коллоидных структур приводит к ухудшению этой характеристики, т. е. дальнейшее разрушение ассоциатов при более высоком содержании ЖГ должно было бы, согласно [17], приводить к улучшению вытесняющих свойств. Полученный результат является убедительным экспериментальным доказательством эффективности взаимодействия обобществленных систем полисопряжения с поверхностью металла.

При использовании в качестве синергиста АФ формирование обобществленных систем полисопряжения так же, как упоминалось выше, начинается с содержания его 4 %. Ухудшение защитных свойств композиции при содержании АФ более 6 % объясняется укрупнением коллоидных структур. В то же время высокая способность вышеупомянутых систем полисопряжения к взаимодействию с поверхностью металла обуславливает значения коэффициента синергизма более 1 при всех соотношениях компонентов. Крупные размеры коллоидных структур объясняют и более низкие вытесняющие свойства данных композиций по сравнению с композициями с участием ЖГ (рисунок).

Выводы

Установлено, что синергизм комбинированных маслорастворимых ингибиторов коррозии обусловлен межмолекулярным взаимодействием коллоидных частиц исходных компонентов с образованием коллоидных структур, обладающих повышенной способностью к взаимодействию с поверхностью металла. Основным механизмом взаимодействия ингибитора коррозии АКОР-1 с синергистом является обменное взаимодействие π -электронов систем полисопряжения и ароматических фрагментов синергиста.

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования ЭПР-спектроскопии для прогнозирования синергетического эффекта. Для композиций с синергетическим эффектом характерна неаддитивная

зависимость спектральных параметров от соотношения компонентов. В точке с экстремальным изменением параметров ожидается наибольший эффект синергизма. При аддитивной зависимости спектральных параметров композиций от соотношения компонентов синергизм не наблюдается.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках проекта X07-342.

Литература

1. Плескачевский Ю. М. // Наночастицы в конденсированных средах: Сб. науч. ст. Минск, 2008. С. 261–281.
2. Майко Л. П., Царюк Т. Я., Мулярчик В. В. // Природопользование. 2007. Вып. 13. С. 149–153.
3. Шехтер Ю. Н., Крейн С. Э., Тетерина Л. Н. Маслорастворимые поверхностно-активные вещества. М., 1978. — 304 с.
4. Дребенкова И. В. Консервационное масло с ингибитором коррозии на основе жирных кислот растительного сырья: Дисс. ... канд. техн. наук. Минск, 2006. — 210 с.
5. Каменчук А. Я., Писарева С. И., Андреева Л. Н., Унгер Ф. Г. // Химия и технология топлив и масел. 2006. № 1. С. 29–31.
6. Ларин Г. М., Минин В. В., Шульгин В. Ф. // Успехи химии. 2008. Т. 77, № 5. С. 476–490.
7. Eгchak D. P., Efimov V. G., Stelmakh V. F. // Physica Status Solidi. B. 1997. Vol. 2003, N 2. P. 529–548.
8. Лиштван И. И., Царюк Т. Я., Майко Л. П. и др. // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. 2002. № 1. С. 30–37.
9. Любченко Л. С., Мисин В. М., Черепанова Е. С., Черкашин М. И. // Журн. физ. химии. 1985. Т. 59, № 12. С. 3079–3092.
10. Прохоров С. Г. Научные и прикладные аспекты ЭПР-спектроскопии битумов: Дисс. ... канд. техн. наук. Минск, 1997. — 150 с.
11. Химический энциклопедический словарь. М., 1983. С. 493.
12. Роров А. Ф., Nosyrev I. E., Strigutsky V. P. et al. // Fuel. 1993. Vol. 72, N 1. P. 59–63.
13. Терентьев А. А., Стригуцкий В. П., Прохоров С. Г., Холодинская Е. Н. // Химия твердого топлива. 1994. № 1. С. 26–29.
14. Кудина Е. Ф., Плескачевский Ю. М., Буря А. И. // Вестн. Фонда фундаментальных исследований. 2008. № 3. С. 16–28.
15. Лиштван И. И., Стригуцкий В. П., Долидович Е. Ф. и др. // Журн. физ. химии. 1990. Т. 64, № 9. С. 2493–2497.
16. Лиогонький Б. И., Лиштван И. И., Любченко Л. С. и др. // Докл. АН СССР. 1986. Т. 288, № 6. С. 1411–1415.
17. Царюк Т. Я., Дребенкова И. В., Стригуцкий В. П. // Вестн. Полоцкого государственного ун-та. Сер. В. Прикл. науки. 2007. № 8. С. 129–132.

I. I. LISHTVAN, V. P. STRIGUTSKY, T. Y. THARIOUK, I. V. DREBENKOVA

INFLUENCE OF OIL-SOLUBLE SURFACTANTS COLLOIDAL STRUCTURES TRANSFORMATION ON THEIR COMPOSITIONS SYNERGISM

Summary

It is established that synergism of compositions on the basis of commodity oil-soluble inhibitor of corrosion AKOR-1 is caused by exchange interaction of the initial components π -electrons, leading to formation of colloidal structures with the raised ability to interaction with a metal surface. Use of spectral methods allows to predict synergism and to reduce thereby necessary volume of experiments by working out of new compositions.

УДК 381.3

М. М. ТАТУР, В. В. ОСТРОВСКИЙ

**МЕТОДОЛОГИЯ ПОСТРОЕНИЯ БАЗ ДЛЯ СИНТЕЗА
И АНАЛИЗА КЛАССИФИКАТОРОВ**

Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники

(Поступила в редакцию 26.01.2009)

Предложена математическая модель элементарного классификатора, которая может быть адаптирована к различным прикладным задачам распознавания. На базе данной модели сформулированы характерные признаки классификации, на основании которых определены 8 типовых задач. Для каждой задачи могут быть сгенерированы численные тестовые базы в виде значений функции при случайных либо детерминированных входных данных. Эти базы используются для разработки и тестирования классификаторов и алгоритмов обучения. Предложена методика постановки экспериментов над классификаторами. Исследована проблема корректной сравнительной оценки классификаторов. В качестве критерия эффективности использованы достоверность (для четких) и точность (для нечетких) классификаторов.

Введение

Распознавание образов является устоявшимся словосочетанием и имеет наиболее широкое приложение, поскольку понятие образа не привязывается к природе объекта. Распознавание состоит из трех взаимосвязанных процедур (процессов): предварительной обработки, классификации и обучения [1] (рис. 1).



Рис. 1. Схема абстрактной системы распознавания

Основные функции предварительной обработки (в широкой трактовке): получение изображения объекта либо сцены; выделение полезных сигналов на фоне шумов; выделение информативных признаков.

Функции классификации состоят в вычислении меры сходства анализируемого образа с моделью класса и принятии решений. Если рассматривать классификатор как черный ящик, то «наблюдаемыми» параметрами являются число входов (информативных признаков), число выходов (классов) и способ представления данных. Тогда «скрытыми в ящике» характеристиками являются способ вычисления меры подобия и способ принятия решения. Алгоритм обучения не является непосредственной частью классификатора, но, безусловно, связан с математикой реализации классификатора и ключевым образом определяет его эффективность [2]. Также обязательной частью исходных данных на проектирование являются обучающие и тестовые выборки.

Задача проектирования классификатора формулируется как выбор (разработка) такого сочетания способа вычисления меры сходства, критерия принятия решения и алгоритма обучения, чтобы точность либо достоверность классификации были максимальными [3]. Иногда дополнительными условиями выступают ограничения на сложность вычислений, время и сходимость обучения, возможность распараллеливания вычислительного процесса при аппаратной поддержке и др.

Тестирование классификаторов (анализ эффективности), как правило, осуществляется косвенно, в составе завершенных систем распознавания. При этом используются тестовые базы данных из конкретных прикладных областей (фотопортреты, снимки отпечатков пальцев, базы медицинских диагнозов и т. п.). Эти базы объективно зашумлены, а этап предобработки должен быть идентичен в различных системах распознавания при обеспечении корректности сравнения классификаторов [4]. Данные условия выполнить весьма сложно. Единой методики оценки эффективности классификаторов вообще не существует. Как следствие, разработка конкретных систем распознавания удорожается, растягивается во времени, научные результаты в области разработки классификаторов и алгоритмов обучения плохо поддаются систематизации и сравнительному анализу, качество разрабатываемых систем зависит от субъективного опыта (ошибок) разработчика.

В работах [5–7] излагается концепция проектирования систем распознавания, основная идея которой состоит в следующем.

Классификаторы представляют собой абстрактные автоматы, структура и обучение которых не связаны с конкретной прикладной задачей. Классификаторы «работают» с числовыми образами, а не исходными изображениями. Следовательно, разрабатывать и исследовать классификаторы можно и нужно, независимо от конечного применения.

Для систематизации, структурирования и максимального использования накопленного опыта в области проектирования классификаторов, проведения корректного сравнительного анализа эффективности должна быть создана *единая тестовая база и единая методика сравнительной оценки* [8]. В настоящей работе предлагается способ построения таких баз данных и вариант методики анализа эффективности классификаторов.

1. Обоснование обобщенной математической модели элементарного классификатора

Задача идентификации может рассматриваться как частный случай задачи классификации, т. е. когда решается вопрос о степени принадлежности вектора информативных признаков всего лишь одному классу. И наоборот, задача классификации может рассматриваться как композиция задач идентификации. Поэтому в дальнейшем, с целью наглядности изложения, вопрос о типовых задачах классификации будем рассматривать относительно одного класса (т. е. задачи идентификации). Но поскольку в сочетании терминов «классификация—классификатор», «идентификация—идентификатор», «идентификатор» не принято использовать как устройство или программу идентификации, будем использовать термин «элементарный классификатор» для обозначения модели, программы или устройства, решающих задачу идентификации.

Обычно задача классификации интерпретируется как аппроксимация функции, а качество аппроксимации оценивается как минимальная среднеквадратичная ошибка. При этом исходными данными является обучающая выборка, состоящая из совокупности векторов и соответственных им значений функции. «Построение классификатора» означает выбор некоторой функции и ее подстройка по данным обучающей выборки. Результат настройки (обучения) обычно представлен набором параметров, являющихся «эталоном» для данного образа. Но если аппроксимация — это обратная задача, то есть и прямая задача — назовем ее задачей формирования (в смысле формирования значений функций).

Обоснование модели элементарного классификатора будем проводить «от частного к общему» с иллюстрацией на простых примерах.

1. Возьмем самый простой вариант задачи идентификации — задачу сортировки багажа по суммарному значению габаритов: длине, ширине и высоте. Тогда прикладная (прямая) задача классификации (функция принятия решения $f(X)$) может быть представлена в виде:

$$f(X) = \begin{cases} 1, & \sum_{i=1}^3 x_i > P, \\ 0, & \sum_{i=1}^3 x_i < P, \end{cases} \quad (2.1)$$

где x_1, x_2, x_3 — габаритные размеры багажа; P — установленный порог.

Подставив значения аргументов x_1, x_2, x_3 и P , несложно вычислить значения функции $f(X)$. Для удобства формальной записи выражений обозначим функцию «подготовки» к принятию решения через $g(X)$:

$$g(X) = \sum_{i=1}^3 x_i.$$

В общем случае, число информативных признаков $X (1:n)$, а в качестве образующей функции помимо суммы может быть алгебраическое произведение, максимум либо минимум. Тогда выражение (2.1) примет вид:

$$f(X) = \begin{cases} 1, & g(X) > P, \\ 0, & g(X) < P. \end{cases} \quad (2.2)$$

Графически его удобно отобразить в следующем виде (рис. 2):

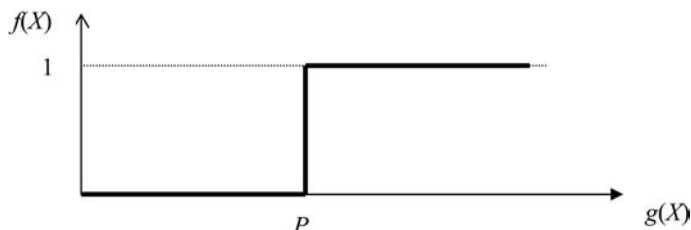


Рис. 2. Четкое принятие решения

Очевидно, что в случаях, когда сумма измерений стремится к порогу $g(X) \rightarrow P$, то возрастает вероятность неправильного принятия решения вследствие возникновения ошибок первого и второго рода. Традиционными способами решения данной проблемы являются введение подкласса выбросов, когда решение не принимается, либо использование размытого (нечеткого) решения.

В случае нечеткого принятия решения (при условии линейной функции)

$$f(X) = \begin{cases} 1, & g(x) > P_2, \\ \frac{g(X) - P_1}{P_2 - P_1}, & P_1 \leq g(X) \leq P_2, \\ 0, & g(X) < P_1. \end{cases} \quad (2.3)$$

Графически это удобно отобразить в следующем виде (рис. 3):

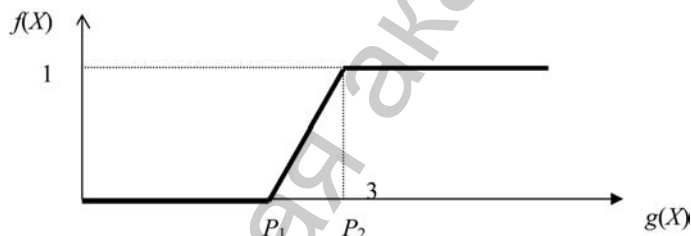


Рис. 3. Нечеткое принятие решения

Подставив значения аргументов X, P_1 и P_2 , можем вычислить (сформировать) значения функции $f(X)$.

2. Усложним исходную задачу сортировки объектов. Предположим, информативные признаки X имеют различный физический смысл и/или в разной степени влияют на процесс принятия решения. Тогда, в результате экспертных оценок, различные характеристики объекта (например, вес, объем, влажность и т. д.) могут быть приведены к единому показателю через линейные весовые коэффициенты W ($1 \div n$):

$$g(X) = \sum_{i=1}^n w_i x_i. \quad (2.4)$$

Подставив значения аргументов X , W , P_1 и P_2 , можем вычислить (сформировать) значения функции $f(X)$.

3. Еще усложним задачу. Пусть информативные признаки x_i образа объекта параметризованы, т. е. должны находиться в определенных рамках. Причем, эти рамки могут быть заданы как четко (в частном случае), так и нечетко (в общем случае) — функциями $\varphi(x_i)$. Например, при идентификации личности по фотопортрету, информативный признак «расстояние между уголками рта» имеет относительно широкий диапазон, а «расстояние между зрачками» — практически константа.

Выбрав для простоты линейную функцию аппроксимации нечеткого задания параметров, в общем случае получим:

$$g(X) = \sum_{i=1}^n w_i \varphi(x_i), \quad (2.5)$$

где

$$\varphi(x_i) = \begin{cases} 0, & a_i < x_i, x_i > d_i, \\ \frac{d_i - x_i}{d_i - c_i}, & c_i \leq x_i \leq d_i, \\ 1, & b_i < x_i < c_i, \\ \frac{x_i - a_i}{b_i - a_i}, & a_i \leq x_i \leq b_i. \end{cases} \quad (2.6)$$

Графически это удобно отобразить в следующем виде (рис. 4):

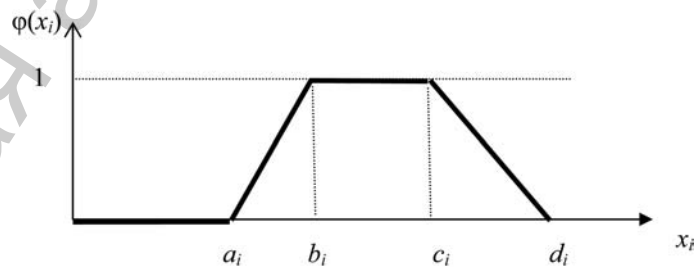


Рис. 4. Параметризация информативных признаков

Подставив значения аргументов X, W, A, B, C, D, P_1 и P_2 , вычислим (сформируем) значения функции $f(X)$.

4. И еще раз усложним задачу. В ряде случаев принятие решения учитывает дополнительные логические условия $g'(X)$, которыми связаны информативные признаки. Часто применяется условие, чтобы все либо ключевые информативные признаки были в заданном допуске параметров. Например, при идентификации личности по фотопортрету информативный признак «расстояние между зрачками» является одним из ключевых. Значит, если он окажется не в допуске, то значение итоговой функции принятия решения $f(X) \rightarrow 0$, независимо от степени совпадения других информативных признаков.

$$g'(X) = \bigg\{ \bigwedge_{i=1}^n \varphi'(x_i), \tag{2.7}$$

где

$$\varphi'(x_i) = \begin{cases} 0, & a_i < x_i, x_i > d_i, \\ 1, & a_i \leq x_i \leq d_i. \end{cases} \tag{2.8}$$

Тогда обобщенная математическая модель классификации как прямой задачи формирования принимает вид:

$$f(X) = \begin{cases} 1, & g(X) > P_2, \quad g'(X) = 1, \\ \frac{g(X) - P_1}{P_2 - P_1}, & P_1 \leq g(X) \leq P_2, \quad g'(X) = 1, \\ 0, & g(X) < P_1, \quad g'(X) = 0. \end{cases} \tag{2.9}$$

Подставив значения аргументов X, W, A, B, C, D , логические условия $g'(X)$ и P_1, P_2 , мы можем вычислить (сформировать) значения функции $f(X)$.

Теоретическое значение модели состоит в том, что путем сочетания настроек параметров $X, W, A, B, C, D, p_1, p_2$ модель демонстрирует плавную трансформацию качественных различий между прикладными задачами классификации. Например:

- при $p_1 = p_2$ получаем вариант четкого принятия решения;
- при $w_i = 1$ для всех i — вариант отсутствия взвешивания признаков;
- при $a_i = b_i, c_i = d_i$ — вариант четких (в противном случае — нечетких) границ параметров для каждого информативного признака;
- при $a_i = b_i = c_i = d_i$ — вариант арифметического или логического совпадения признаков;
- при $a_i = b_i = 0, c_i = d_i = 1$ — вариант отсутствия параметризации признаков вообще;
- при $g'(X) = 1$ — вариант использования логических условий по ключевым признакам.

В модели сочетаются арифметическая и логическая составляющие, способные работать как независимо, так и совместно, позволяя формировать типовые прямые задачи классификации, адекватные (отвечающие по сути) прикладным задачам.

Прикладное практическое значение состоит в том, что подставив значения аргументов $X, W, A, B, C, D, N, p_1, p_2$, можем вычислить (сформировать) значения функции $f(X)$. Таким образом, модель позволяет создавать (вычислять) тестовые численные базы данных. С использованием таких идеальных (в смысле незашумленности и достаточности) баз открывается возможность осуществлять корректный сравнительный анализ классификаторов и алгоритмов обучения, выбирать необходимые методы классификации и разрабатывать алгоритмы обучения.

2. Фрагмент таблиц тестовых баз

Согласно обобщенной модели классификатора предлагается выделить четыре пары типовых задач классификации с четким и нечетким способом принятия решений соответственно. Таким образом, формируются восемь вариантов задач, содержащих функции классификатора. Каждая задача имеет три независимых варианта для более полного анализа эффективности и усреднения конечного результата. В настоящем виде задачи не содержат подкласс выбросов (нераспознаваемых векторов). Ошибки первого и второго рода не различаются.

Тестовая база представляет собой таблицу, в которой содержатся входные векторы информативных признаков и значения функции классификатора по трем вариантам и восьми задачам, причем число информативных признаков — 20, число тестовых векторов — 100.

Входные данные (информативные признаки) нормированы в диапазоне $[0, 1]$. Точность представления входных и выходных данных унифицирована значением 0,01. Ниже представлен фрагмент тестовой базы данных по первой задаче (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Фрагмент тестовой базы данных по первой типовой задаче

№	Входной вектор	Варианты принадлежности к классу		
1	0,74 0,76 0,76 0,73 0,65 0,52 0,40 0,30 0,26 0,25 0,27 0,32 0,42 0,52 0,63 0,70 0,74 0,74 0,74 0,72	1,00	1,00	0,00
2	0,81 0,84 0,65 0,54 0,43 0,34 0,29 0,29 0,33 0,40 0,48 0,58 0,66 0,71 0,72 0,69 0,65 0,58 0,48 0,37	1,00	1,00	0,00
...		

3. Анализ эффективности классификаторов

Для анализа эффективности классификаторов и алгоритмов обучения разработана инструментальная система (рис. 5).

Система позволяет экспериментально оценивать ключевые параметры классификаторов, реализуемых различными методами, чтобы получать гарантированные технические решения разрабатываемых систем распознавания.

Для получения корректных сравнительных оценок испытания классификаторов должны проводиться по единой методике. Ниже приведен вариант методики испытаний.

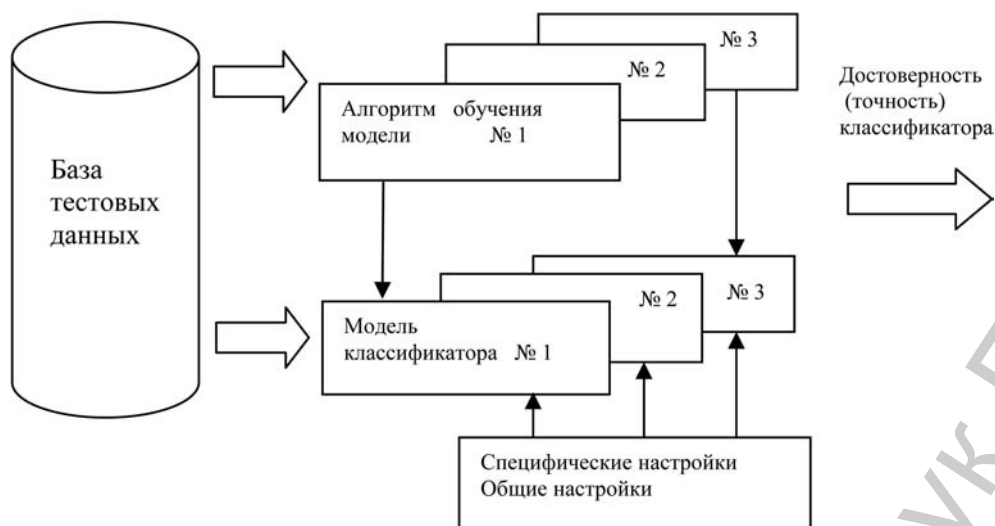


Рис. 5. Обобщенная схема инструментальной системы

1. Исходные данные для эксперимента:

элементарный классификатор (программная модель идентификации, алгоритм обучения классификатора);
тестовая база данных.

2. Модельные ограничения:

классификатор и алгоритм обучения подстраиваются под количественные параметры тестовой базы данных;

эксперименты могут проводиться с ограничением либо без ограничения времени обучения (например, зададим временные рамки обучения одними сутками).

3. Правила использования тестовой базы: последовательность векторов делится на две части (с 1 по 50 и с 51 по 100) и проводится четыре эксперимента по следующей методике:

первая часть используется в качестве обучающей последовательности, а тестирование производится на второй части;

первая часть используется в качестве обучающей последовательности, а тестирование производится по всем векторам;

вторая часть используется в качестве обучающей последовательности, а тестирование производится на первой части;

вторая часть используется в качестве обучающей последовательности, а тестирование производится по всем векторам.

Таким образом, для каждого из трех вариантов задачи ставится четыре эксперимента, т. е. для каждой задачи ставится $4 \times 3 = 12$ экспериментов.

4. Критерии оценки результатов. В ходе эксперимента оцениваются достоверность и точность классификации по следующим правилам:

для задач с четким порогом принятия решения рассчитывается достоверность классификации — отношение правильно классифицированных векторов

к общему числу векторов, участвовавших в эксперименте. Конечным результатом по каждой задаче является средняя и минимальная достоверность из 12 экспериментов;

для задач с нечетким порогом принятия решения рассчитывается точность классификации — разность между тестовым и полученным результатом классификации по всем векторам. Конечным результатом по каждой задаче является средняя и максимальная разность из 12 экспериментов. Результаты экспериментов (с точностью до 0,01) сводятся в таблицу установленной формы (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Сводные результаты эксперимента

Номер задачи:	задача 1			задача 2			задача 3			задача 4		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
эксперимент 1	0,88	0,96	0,96	0,11	0,09	0,17	0,90	0,98	0,94	0,13	0,22	0,05
эксперимент 2	0,87	0,98	0,96	0,13	0,1	0,18	0,86	0,97	0,95	0,15	0,24	0,05
эксперимент 3	0,88	0,94	0,94	0,19	0,11	0,19	0,78	0,94	0,92	0,16	0,25	0,07
эксперимент 4	0,89	0,95	0,92	0,16	0,1	0,18	0,83	0,93	0,89	0,15	0,23	0,07
	средняя: 0,92 минимальная: 0,87			средняя: 0,14 максимальная: 0,19			средняя: 0,9 минимальная: 0,78			средняя: 0,15 максимальная: 0,25		

Номер задачи:	задача 5			задача 6			задача 7			задача 8		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
эксперимент 1	0,54	0,46	0,54	0,42	0,52	0,5	0,52	0,52	0,62	0,46	0,46	0,42
эксперимент 2	0,65	0,51	0,57	0,33	0,38	0,37	0,61	0,56	0,67	0,4	0,42	0,37
эксперимент 3	0,64	0,58	0,58	0,36	0,43	0,35	0,60	0,54	0,68	0,46	0,46	0,38
эксперимент 4	0,70	0,62	0,60	0,31	0,3	0,28	0,6	0,6	0,68	0,48	0,51	0,44
	средняя: 0,58 минимальная: 0,46			средняя: 0,38 максимальная: 0,52			средняя: 0,6 минимальная: 0,52			средняя: 0,44 максимальная: 0,51		

Заключение

Разработана методология синтеза и анализа классификаторов, основная суть которой сводится к следующему.

1. Разработана обобщенная модель классификатора, на основе которой открывается возможность создавать идеальные численные базы данных для разработки, обучения и тестирования классификаторов. При необходимости эти базы могут быть зашумлены с заданной степенью. Предложен вариант таких баз.

2. С помощью предложенной модели можно проводить строгое соответствие между конкретной прикладной задачей распознавания и необходимым фрагментом базы данных. Это позволяет разрабатывать классификатор и алгоритм обучения для конкретной прикладной задачи при отсутствии репрезентативной обучающей выборки.

3. С помощью полученных баз, программной инструментальной системы и общей методики сравнительной оценки классификаторов открывается возможность организовать научно обоснованный конкурсный отбор лучших классификаторов и лучших алгоритмов обучения.

4. Разработанная методология создает теоретический фундамент для создания новых архитектур нейрокомпьютеров и проведения корректной сравнительной оценки их эффективности.

В материалах статьи приведены основные результаты исследований, выполненных в Белорусском государственном университете информатики и радиоэлектроники по проектам Т03-020, Т05МС-045, Т07-141, финансируемым Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований.

Литература

1. Гонсалес Р., Вудс Р. Цифровая обработка изображений. М., 2005. — 1069 с.
2. Белозерский Л. А. Введение в системы автоматического распознавания. Киев, 2005. — 434 с.
3. Шапиро Л., Стокман Дж. Компьютерное зрение. М., 2006. — 751 с.
4. Форсайт Д., Понс Ж. Компьютерное зрение. Современный подход. М., 2004. — 926 с.
5. Tatur M., Rytickov V., Yarashevich A. // Proc. of Int. Conf. Pattern Recognition and Information Processing. 2005. P. 233—235.
6. Татур М. М. // Искусственный интеллект. 2007. Т. 3. С. 333—343.
7. Байрак С. А., Калабухов Е. В., Прытков В. А., Татур М. М. // Искусственный интеллект. 2006. Т. 3. С. 571—574.
8. Байрак С. А., Островский В. В., Татур М. М. // Искусственный интеллект. 2008. Т. 3. С. 501—504.

M. M. TATUR, V. V. OSTROVSKY

METHODOLOGY OF CLASSIFIER'S FORMAL SYNTHESIS AND ANALYSIS

Summary

Mathematical model of elementary classifier, which can be adapted to different applied problems of recognition, is proposed. Characteristic features of classification are formulated on the base of proposed model, and it results in 8 standard tasks. Numerical test bases could be generated for each task. The form of these bases is function values for either random or determined input information. The bases are used for development and testing of classifiers and their teaching algorithms. Procedure of setting the experiments above the classifiers is proposed. Also the problem of correct comparative estimation of classifiers is investigated. Authenticity (for the clear) and accuracy (for the illegible) of classifiers are used as the criterion of effectiveness.

УДК 616.831-005:616-008.9:615.015

*Н. И. НЕЧИПУРЕНКО, А. И. ВЕРЕС, Т. В. ГРИБОЕДОВА,
И. Д. ПАШКОВСКАЯ, Л. А. ТИШИНА, Л. И. МАТУСЕВИЧ*

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ДИСЦИРКУЛЯТОРНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ МЕКСИДОЛОМ

*РНПЦ неврологии и нейрохирургии
Министерства здравоохранения Республики Беларусь*

(Поступила в редакцию 27.03.2009)

Представлены результаты изучения функционального состояния эндотелия посредством проведения теста реактивной гиперемии с помощью ультразвуковой доплерографии. Исследованы продукты метаболизма оксида азота, ферменты антиоксидантной системы, уровень циркулирующих эндотелиальных клеток, осмолярность плазмы и содержание электролитов у больных дисциркуляторной энцефалопатией. Оценено влияние мексидола в составе комплексной терапии на вышеуказанные показатели. Показано, что в группе больных дисциркуляторной энцефалопатией после включения мексидола в комплексную терапию наблюдается улучшение не только клинического состояния больных, но и функции эндотелиоцитов, которое проявляется положительной динамикой эндотелий-зависимой дилатации артерий, тенденцией к снижению уровня десквамированных эндотелиоцитов, некоторым повышением синтеза оксида азота, нормализацией активности эндогенных антиоксидантов — супероксиддисмутазы и каталазы.

Введение

Проблема хронической сосудистой патологии головного мозга, в частности дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭ), привлекает особое внимание неврологов, физиологов, морфологов и биохимиков. Актуальность исследования объясняется, во-первых, широкой распространенностью заболевания среди лиц не только пенсионного, но и более молодого возраста. Во-вторых, ДЭ с когнитивным синдромом часто сопровождается трудовой и социальной дезадаптацией больных, что наносит большой экономический урон обществу. В-третьих, эта патология приводит к формированию инфаркта мозга, в связи с чем совершенствование лечебно-диагностических мероприятий на стадии энцефалопатии является целесообразным и перспективным [1; 2].

ДЭ представляет собой прогрессирующее хроническое диффузное или мультифокальное нарушение мозгового кровообращения, проявляющееся

неврологическими и психическими синдромами. В последние годы в патогенезе ДЭ большое внимание уделяется дисфункции эндотелия и связанному с ним синтезу монооксида азота (NO). Эндотелий сосудов — это активная метаболическая система, поддерживающая сосудистый гомеостаз путем осуществления важных функций, таких как модулирование тонуса сосудов, регуляция транспорта растворенных веществ в клетки сосудистой стенки, рост этих клеток, защита сосудов от возможного неблагоприятного действия циркулирующих клеток и субстанций, регуляция хемотаксических, воспалительных и репаративных процессов в ответ на локальное повреждение [3; 4].

Эволюция представлений о физиологии и патофизиологии сосудистого эндотелия привела к формированию концепции о доминирующей роли эндотелия в патогенезе атеросклероза и его осложнений. Учитывая то, что дисфункция сосудистого эндотелия рассматривается как один из самых ранних маркеров атеросклероза («первая линия сопротивления наступающему атеросклерозу»), его можно рассматривать как орган-мишень двойного назначения. С одной стороны, эндотелий легко повреждается при атеросклерозе, артериальной гипертензии, дислипидемии, сахарном диабете, воздействии эндотоксинов, цитокинов, острых инфекций и т. д. С другой стороны, реализация ряда важнейших функций: поддержание адекватного гомеостаза и сосудистого тонуса, контроль процессов пролиферации, воспаления и стабильности атеросклеротической бляшки позволяет представить эндотелий как мишень для целенаправленной медикаментозной и немедикаментозной коррекции [5; 6].

В физиологических условиях нормальная активность антиоксидантной системы регулирует течение окислительных процессов, однако при патологии, сопровождающейся значительной активацией процессов перекисного окисления липидов, ее недостаточно. Исходя из этого мы применили антиоксидант — мексидол для коррекции функции эндотелия при лечении ДЭ.

Мексидол представляет собой производное янтарной кислоты и 2-этил-6-метил-3-оксипиридина. Он обладает антиоксидантной, мембранопротекторной, антигипоксической и антистрессорной активностью, улучшает кожную и церебральную микрогемодинамику. Мексидол эффективно стабилизирует биологические мембраны, подавляет агрегацию и адгезию тромбоцитов, повышает пластичность эритроцитов, улучшает реологические свойства крови, что способствует уменьшению проявлений церебральной циркуляторной гипоксии. Препарат повышает соотношение простациклин/тромбоксан, тормозит образование лейкотриенов. Также он осуществляет и гиполлипидемическое действие — способен повысить удельное содержание липопротеидов высокой плотности, являющихся сильным фактором антириска инсульта [7; 8].

Цель работы — изучить функциональное состояние эндотелия посредством проведения теста реактивной гиперемии с помощью ультразвуковой доплерографии (УЗДГ), исследовать продукты метаболизма оксида азота, ферменты антиоксидантной системы, уровень циркулирующих эндотелиальных клеток, осмолярность плазмы и содержание электролитов у больных ДЭ, оценить влияние мексидола в составе комплексной терапии на выявленные нарушения.

Материал и методы исследований

Исследования проведены на 22 больных ДЭ от 46 до 77 лет и 24 здоровых добровольцах — от 20 до 43 лет. Эффективность мексидола анализировали в ходе комплексного лечения пациентов с I и II стадией ДЭ, возраст которых составил $66,9 \pm 1,8$ лет. Больные получали базисную терапию, включающую антиагрегантные, нейропротекторные и гипотензивные средства по показаниям, а также мексидол внутривенно на физиологическом растворе по 4—6 мл 5 %-ного раствора ежедневно в течение 10 дней.

Проведено комплексное ультразвуковое обследование на аппарате Philips En-Visor. В программу входило дуплексное сканирование экстракраниальных отделов брахиоцефальных сосудов для определения морфологических изменений артерий, скоростных параметров кровотока. Изучение функции эндотелия выполнено с использованием пробы с реактивной гиперемией [9].

Количество циркулирующих эндотелиальных клеток в плазме крови определяли микроскопически после окраски метиленовым синим во всем объеме камеры Горяева. Находили среднюю величину при подсчете 10 проб и данные выражали в единицах на 1 л плазмы [10].

Уровень NO оценивали количественно по суммарному содержанию в плазме крови конечных метаболитов NO — нитритов и нитратов с помощью реактива Грисса [11]. Активность каталазы в плазме крови исследовали по методу М. А. Королюка [12], супероксиддисмутазы (СОД) — по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина [13]. Содержание восстановленного глутатиона (GSH) — спектрофотометрическим методом в цельной крови [14], натрия и калия в эритроцитах методом пламенной фотометрии, в плазме — на ионоселективном анализаторе, осмолярность рассчитывали по концентрации натрия в плазме [15; 16].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 6.0 с определением достоверности по *t*-критерию Стьюдента. Результаты представлены в виде $M \pm m$.

Результаты и их обсуждение

Клинические исследования показали, что наряду с когнитивными нарушениями и неврастеническими жалобами нередко у больных ДЭ диагностируются атактический, пирамидный, вестибулярный, амиостатический, псевдобульбарный и другие синдромы. Это свидетельствует о наличии клинического полиморфизма ДЭ, что необходимо учитывать при количественной оценке степени выраженности заболевания. Для количественной оценки ДЭ нами разработана интегрированная балльная шкала, включающая 21 признак заболевания.

Включение мексидола в комплексную терапию улучшило неврологический статус больных: средняя балльная оценка ДЭ до лечения составила $26,3 \pm 1,9$ баллов, после лечения — $21,2 \pm 1,7$ ($p > 0,05$). Исследование особенностей артериального кровотока у больных ДЭ с помощью теста реактивной гиперемии показало, что исходный диаметр плечевой артерии у больных ($4,5 \pm 0,2$ мм, $p < 0,01$) больше, чем у здоровых лиц ($3,6 \pm 0,2$ мм) при увеличенной исходной скорости кровотока.

У здоровых лиц установлена выраженная эндотелийзависимая вазодилатация артерии. При ДЭ вследствие поражения атеросклеротическим процессом сосудистой стенки прирост кровотока в плечевой артерии при тестовой нагрузке был достоверно меньше, чем у здоровых лиц (до 106,2 и 132,7 % соответственно). Это свидетельствует о нарушении функции эндотелия, проявляющемся снижением выработки вазодилатирующих веществ и их биологической доступности [17; 18].

У пациентов, получавших мексидол, после кратковременной ишемии несколько возросла дилатация плечевой артерии: если до лечения у больных ДЭ она составляла $5,2 \pm 0,2$ мм, то после лечения — $6,05 \pm 0,9$ мм. Кроме того, под влиянием терапии отмечена тенденция к увеличению прироста скорости кровотока после теста реактивной гиперемии до $111,4 \pm 4,3$ (до лечения он составлял $106,2 \pm 3,5$ %).

Установлено, что общее содержание нитритов и нитратов в плазме крови здоровых лиц составило $44,8 \pm 2,2$ мкМ. Выявлено повышение уровня продуктов обмена монооксида азота в плазме крови у больных ДЭ по сравнению с нормальными данными — их содержание составило $66,4 \pm 8,8$ мкМ ($p < 0,05$). После курса лечения мексидолом этот показатель незначительно увеличился до $70,0 \pm 3,5$ мкМ по отношению к исходным данным. Показано, что активность СОД крови у пациентов с ДЭ уменьшена по сравнению со здоровыми лицами на 31 % ($p < 0,05$). Содержание GSH у этих же больных снижено ($p < 0,05$), выявлено недостоверное увеличение активности каталазы на 36 %. После лечения мексидолом активность СОД не отличалась от нормы, а каталазы — снизилась на 15 %, содержание GSH не изменилось по сравнению с данными больных ДЭ до лечения (рис. 1).

Анализ показателей электролитного обмена у больных с ДЭ на момент госпитализации выявил тенденцию к снижению уровня эритроцитарного калия до $65 \pm 4,2$ ммоль/л, гипернатриемию ($146 \pm 2,9$ ммоль/л, $p < 0,05$) и гиперосмолярность плазмы, составившую 292 ± 5 мОсм/кг ($p < 0,05$) по сравнению с нормальными показателями здоровых лиц. После лечения мексидолом осмолярность плазмы не изменилась, а содержание ионов калия в эритроцитах имело тенденцию к повышению на 8 % и составило $70,6 \pm 14,4$ ммоль/л (рис. 2).

У здоровых лиц количество циркулирующих эндотелиоцитов в плазме крови составило 4060 ± 1150 /л. Десквамированные эндотелиальные клетки под микроскопом в одних случаях были представлены целыми клетками с ясно различимыми ядерными структурами, безъядерными эндотелиоцитами, клетками, подвергающимися фрагментации и отдельными фрагментами. Иногда наблюдались скопления эндотелиоцитов в виде конгломератов. При ДЭ уровень десквамированных эндотелиоцитов недостоверно увеличивался до 7260 ± 1130 /л. После курсового применения мексидола интенсивность десквамации уменьшилась до 6720 ± 320 /л ($p > 0,05$).

Наряду с выполнением вазорелаксирующей функции, **NO может проявлять** антиоксидантный эффект, принимая участие во многих антиатеросклеротических процессах. У больных с ДЭ развивается хроническая ишемия головного мозга, при которой вероятна активация различных изоформ

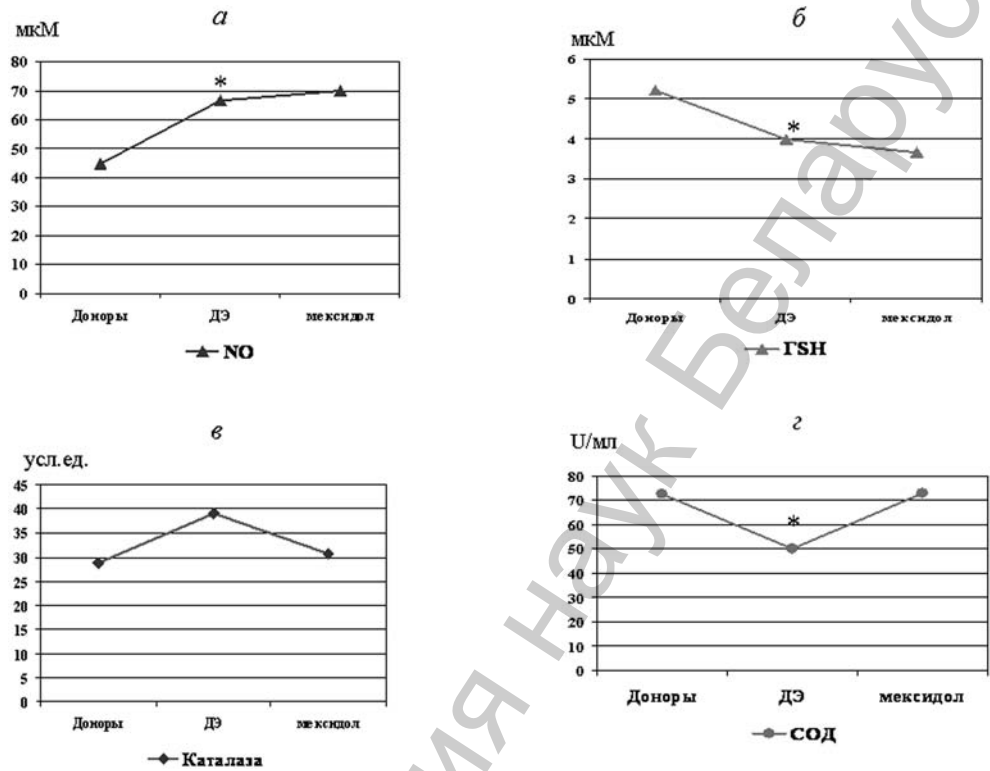


Рис. 1. Содержание нитритов и нитратов (а), GSH (б), активность каталазы (в) и СОД (г) в крови в норме и у больных с ДЭ после лечения мексидолом. На рис. 1–2: * – достоверность различий по сравнению с нормой

NO-синтаз, что подтверждается данными по повышению суммарного количества нитритов и нитратов в плазме крови. Возрастание их содержания в крови может быть обусловлено и тем, что функцию пострадавшего эндотелия берут на себя интактные эндотелиоциты в других участках сосудистой системы, а также увеличением выхода оксида азота из депо. Однако высокий уровень NO в данной ситуации не обеспечивает адекватную сосудистую вазодилатацию, что объективизировано УЗДГ исследованиями с тестом реактивной гиперемии. Видимо, недостаточная вазодилатирующая функция NO обусловлена его частичным расходом на нейтрализацию свободных радикалов, в том числе токсичных детергентов ПОЛ.

Установленное снижение активности СОД в плазме крови пациентов с ДЭ указывает на уменьшение антиокислительного потенциала. Выявлены тенденции к повышению каталазной активности и снижению уровня восстановленного глутатиона. Включение мексидола в комплексную терапию приводило к нормализации активности СОД, снижению каталазной активности при неизменном содержании GSH по сравнению с результатами больных ДЭ до лечения.

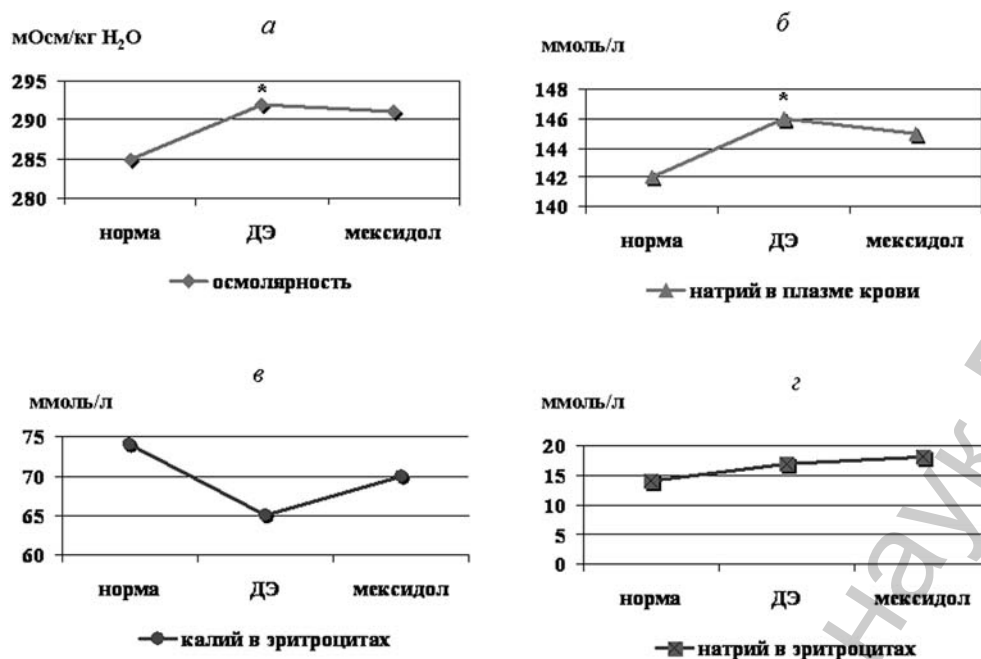


Рис. 2. Осмолярность плазмы (а), содержание ионов натрия в плазме (б) и внутриклеточное содержание ионов калия (в) и натрия (г) в норме и у больных с ДЭ после лечения мексидолом

У пациентов с ДЭ выявлено сниженное количество внутриклеточного калия и гиперосмолярность, что является отражением, с одной стороны, развития хронической церебральной ишемии, а с другой — возможности развития реакций компенсации осмотического гомеостаза за счет гиперосмолярности плазмы. После курса лечения мексидолом произошло недостоверное повышение внутриклеточного калия при сохранении гиперосмолярности плазмы.

Известно, что эндотелиальные клетки мало чувствительны к гипоксии и повреждаются при ишемии значительно меньше других клеток, например, нейронов и кардиомиоцитов [19]. Но при этом происходит изменение функциональных свойств эндотелиоцитов, особенно в отношении синтеза продуцируемых ими веществ, что на первых этапах расценивается как механизм компенсации. Например, защитная реакция эндотелия наблюдается при гипертензивных кризах. Высокое внутриартериальное давление при дилатации сосудистой стенки создает угрозу ее разрыва. В связи с этим интенсифицируется синтез эндотелина, который способствует сокращению гладкомышечных сосудистых клеток, функциональному уплотнению стенки сосуда и тем самым — защите его от разрыва. Это подтверждено исследованиями, установившими повышенную концентрацию эндотелина в первые сутки субарахноидального кровоизлияния [20]. Однако интенсивный синтез эндотелина в таких случаях может вызывать выраженный спазм сосудов и вторичную ишемию мозговой ткани.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о развитии дисфункции эндотелия у больных ДЭ, проявляющейся нарушением эндотелийзависимой дилатации при УЗДГ исследовании с использованием теста реактивной гиперемии, повышенной десквамацией эндотелиоцитов и недостаточностью компенсаторных реакций по синтезу эндотелиального NO, несмотря на повышение общего содержания нитратов и нитритов в крови.

Исходя из химической структуры, мексидол может встраиваться в мембраны клеток, в том числе эндотелиоцитов, делать их структуру более стабильной в результате изменения вязкости биологических мембран [8]. Этим и объясняются результаты наших исследований в группе больных ДЭ, леченных на фоне базисной терапии мексидолом, показавшие улучшение не только клинического состояния больных, но и функции эндотелиоцитов, что проявляется положительной динамикой эндотелийзависимой дилатации артерий, тенденцией к снижению уровня десквамированных эндотелиоцитов, нормализацией активности эндогенных антиоксидантов — СОД и каталазы.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б07-076).

Литература

1. Королева В. В. Патологический анализ ведущих механизмов формирования дисциркуляторной энцефалопатии I стадии. Автореф. ... канд. мед. наук. Челябинск, 2003.
2. Шутов А. А., Байдина Т. В., Агафонов А. В. и др. // Инсульт. 2005. № 14. С. 42—45.
3. Домашенко М. А., Орлов С. В., Костырева М. В. и др. // Невролог. журн. 2007. № 6. С. 10—14.
4. Марков Х. М. // Кардиология. 2005. № 12. С. 62—71.
5. Грицай Н. Н., Мищенко В. П., Мищенко Е. В. // Экспериментальна і клінічна медицина. 2003. № 1. С. 47—49.
6. Ferdinandy P., Schulz R. // Br. J. Pharmacol. 2003. Vol. 138. P. 532—542.
7. Нечипуренко Н. И., Василевская Л. А., Грибоедова Т. В. и др. // Бюлл. экспер. биол. и мед. 2006. Прил. 1. С. 223—229.
8. Петрушина А. Д., Левитина Е. В. // Росс. педиатр. журн. 2001. № 6. С. 4—8.
9. Seligmaier D. S., Sorensen K. E., Goosch V. M. et al. // Lancet. 1992. Vol. 340. P. 1111—1115.
10. Занько С. Н., Киселева Н. И., Солодков А. П., Хотетовская Ж. В. // Современные методы диагностики, лечения и профилактики заболеваний. 2005. Вып. 6. С. 63—65.
11. Веремей И. С., Солодков А. П. // Сб. науч. тр. Витебск, 1999. С. 274—277.
12. Королук М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16—19.
13. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. // Вопр. мед. химии. 1990. Т. 36, № 2. С. 88—91.
14. Набеев Ф. Ф. // Methods in Enzymology. 1972. Vol. 25. P. 457—464.
15. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М., 2004.
16. Дементьева И. И. Клинические аспекты состояния и регуляции кислотно-основного гомеостаза. М., 2002.
17. Верес А. И., Нечипуренко Н. И., Грибоедова Т. В. и др. // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования. Тр. V науч.-практ. конф. Витебск, 2008. С. 127—130.

18. Нечипуренко Н. И., Верес А. И., Грибоедова Т. В. и др. // Функциональные системы организма в норме и при патологии. Минск, 2008. С. 293—296.
19. Петрищев Н. Н., Власов Т. Д. // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования. Тр. III междунар. науч.-практ. конф. Витебск, 2004. С. 26—30.
20. Карпюк В. Б., Черняк Ю. С., Шубич М. Г. // Вопр. нейрохирургии им. Бурденко. 2000. № 1. С. 30—33.

*N. I. NECHIPURENKO, A. I. VERES, T. V. GRIBOEDOVA, I. D. PASHKOVSKAYA,
L. A. TISHINA, L. I. MATUSEVICH*

**SOME METABOLIC DISFUNCTION IN PATIENTS WITH DYSCIRCULATORY
ENCEPHALOPATHY UNDER TREATMENT OF MEXIDOL**

Summary

The function status of vascular endothelium, using ultrasound by the reaction of the brachial artery to reactive hyperemia, levels of NO metabolism products and antioxidant enzymes, the concentration of circulation endothelium cells, plasma and erythrocytes Na⁺ and K⁺ ions levels and blood osmolarity were studied at patients suffering from dyscirculatory encephalopathy. The influence of complex therapy with mexidol on these indicators was estimated. The study established that the therapeutic correction with mexidol enabled one to improvement clinical state of patients and function of endotheliocytes, which was displayed by positive dynamic of endothelium-dependent vasodilation. It was shown the decreasing level of descvamation endotheliocytes, increasing NO production, erythrocytes K⁺ level and normalize superoxidedismutase and catalase activity.

УДК 547.9: 577.175.1

Р. П. ЛИТВИНОВСКАЯ, М. Э. РАЙМАН, В. И. АНИКЕЕВ, В. А. ХРИПАЧ

28-ГОМОБРАССИНОСТЕРОИДЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ОСТАТКОМ ИНДОЛИЛУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

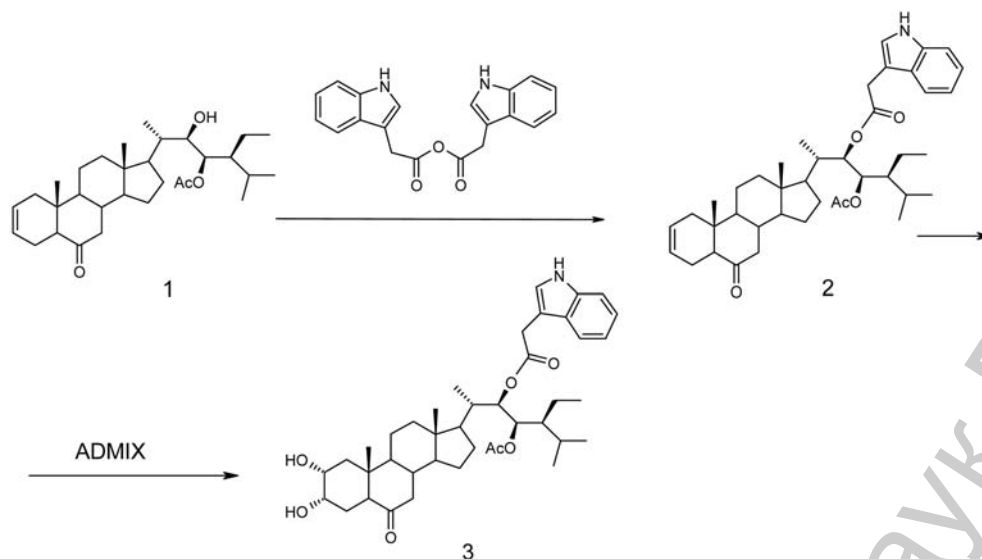
Институт биоорганической химии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 03.02.2009)

Новые производные 28-гомобрасиностероидов, содержащие остаток индолилуксусной кислоты, были получены реакцией ангидрида индолилуксусной кислоты с 28-гомобрасиностероидами.

До недавнего времени к числу растительных гормонов относили ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовую кислоту и этилен. С открытием нового класса природных фиторегуляторов, получивших название брасиностероидов [1], стало ясно, что, управляя ростом и развитием растений, они являются фитогормонами стероидной структуры [2–4]. Сегодня установленным является факт влияния брасиностероидов на баланс классических фитогормонов у всех растительных объектов [5–7]. В ряде работ отмечен синергизм действия брасиностероидов и других фитогормонов, в частности, ауксинов [8–9]. Например, при действии брасиностероидов на этиолированные гипокотили фасоли наблюдается усиление продукции этилена в присутствии индолилуксусной кислоты (ИУК) [10]. С синтетической точки зрения нам представлялось интересным получить брасиностероидные производные, содержащие дополнительную активную составляющую в виде остатка индолилуксусной кислоты. Настоящая работа посвящена разработке методов синтеза (3-индолил)ацетоксипроизводных 28-гомобрасиностероидов.

Синтез 28-гомобрасиностероидов, содержащих фрагмент индолилуксусной кислоты в боковой цепи, был осуществлен на примере описанного нами ранее 23-ацетокси-28-гомосекастерина **1** [11] путем взаимодействия с ангидридом индолилуксусной кислоты, генерированным *in situ* обработкой индолилуксусной кислоты дициклогексилкабродиимидом в безводном диоксане. Образование 22-(3-индолил)ацетоксипроизводного **2** подтверждается отсутствием в ИК спектре полос валентных колебаний гидроксильных групп, присутствием в УФ спектре полос поглощения, характерных для остатка ИУК ($\lambda = 220$ и 280 нм), а также смещением в более слабое поле ($\delta = 5,13$ м. д.) сигнала протона при C^{22} в спектре ЯМР 1H , обусловленным образованием сложной эфирной группировки и наличием сигналов 5 протонов индольного остатка [$\delta = 7,13; 7,19(2H); 7,37; 7,68$ м. д.].

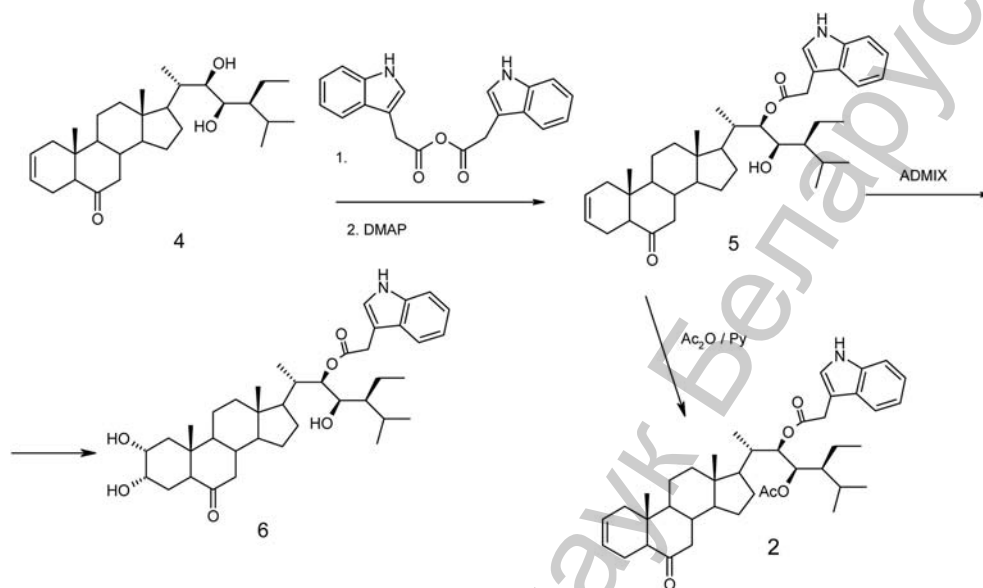


Формирование 2,3-дигидроксифункциональности в цикле А осуществляли с использованием системы $K_2OsO_4 \cdot 2H_2O - K_3[Fe(CN)_6] - K_2CO_3$ -метансульфонамид. В указанных условиях с выходом 69 % образуется $2\alpha,3\alpha$ -дигидроксипроизводное **3**, являющееся эфиром индолилуксусной кислоты 23-ацетокси-28-гомокастастерона по C^{22} положению. Доказательством структуры данного соединения служит наличие сильной полосы валентных колебаний гидроксильных групп ($\nu = 3350 \text{ см}^{-1}$) в ИК спектре, исчезновение в спектре ЯМР 1H сигналов олефиновых протонов и появление двух сигналов ($\delta = 3,77$ и $4,06$ м. д.) в виде мультиплетов, характерных для протонов при C^2 и C^3 брассиностероидной молекулы.

Следует отметить, что попытки избирательного снятия ацетатной группы как в соединении **2**, так и в соединении **3** не привели к желаемому результату — в обоих случаях наблюдалось образование 22,23-дигидроксипроизводного.

Исследование в реакции ацилирования ангидридом индолилуксусной кислоты 22,23-дигидоксибрасиностероида на примере 28-гомосекастерина **4**, полученного в 8 стадий из стигмастерина [12], показало, что образование эфира происходит только по гидроксильной группе при C^{22} , приводя к 22-(3-индолил)ацетоксипроизводному **5**. В спектре ЯМР 1H полученного соединения наблюдается смещение сигнала протона при C^{22} в слабое поле на $\sim 1,1$ м. д. ($\delta = 4,98$ м. д.) и появление характерных для протонов индольного остатка сигналов [$\delta = 7,17; 7,19$ (2H); $7,33; 7,67$ м. д.], упрощается полоса валентных колебаний гидроксильных групп в ИК спектре и наблюдается характерное поглощение в УФ спектре ($\lambda = 220$ и 280 нм). Ацилирование соединения **5** уксусным ангидридом привело к полученному ранее продукту **2**.

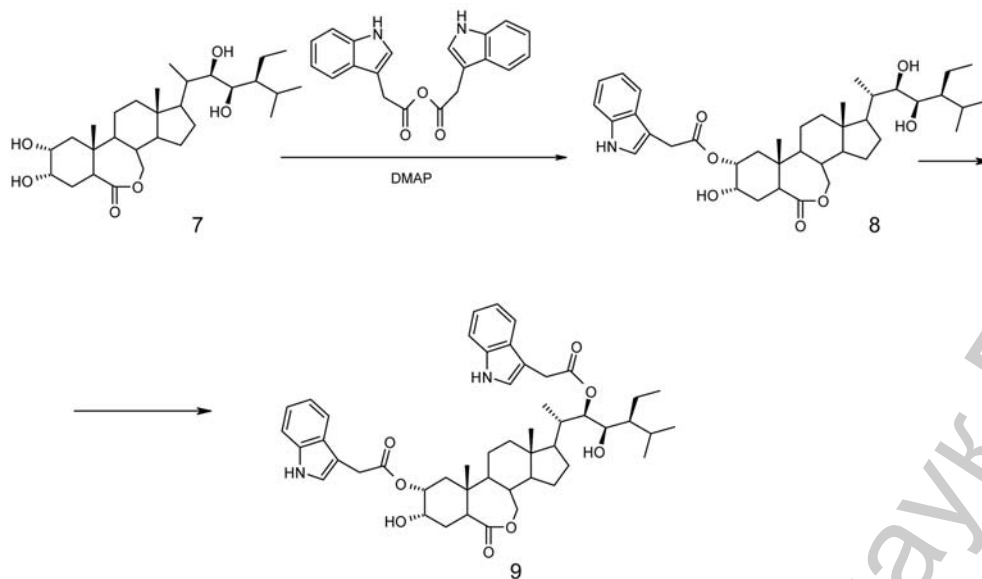
cis-Гидроксилирование двойной связи, как и в случае соединения **3**, привело к единственному продукту — 22-(3-индолил)ацетокси-28-гомокастастерону **6**. Его образование подтверждается появлением в спектре ЯМР 1H двух дополнительных сигналов протонов при угледе, связанном с гидроксильной группой ($\delta = 3,82$ и $4,07$ м. д.), и усложнением полосы валентных колебаний ОН в ИК спектре.



Введение лактонной функции в цикл В окислением 6-кетогруппы соединения **6** по Байеру—Виллигеру [13] наряду с окислением привело к омылению сложноэфирной группировки с образованием 28-гомобрасинолида **7**. Поэтому была предпринята попытка прямой этерификации последнего ангидридом индолилуксусной кислоты. Использование двух эквивалентов реагента в течение 4 ч с невысоким выходом (20 %) обеспечивает региоизбирательное образование производного **8** по гидроксильной группе в положении C². Более длительное выдерживание реакционной смеси или увеличение количества ангидрида индолилуксусной кислоты приводит к сложной смеси трудноразделимых продуктов, среди которых удалось идентифицировать 2,23-ди(3'-индолилацетокси)-производное **9**.

Доказательством структуры соединения **8** служит смещение сигнала протона при C³ в слабое поле ($\delta = 4,84$ м. д.) и появление сигналов протонов индольного остатка ($\delta = 7,17; 7,19; 7,37$ и $7,60$ м. д.) в спектре ЯМР ¹H, поглощение в УФ спектре ($\lambda = 220$ и 280 нм), а также характерная фрагментация в масс-спектре. В спектре ЯМР ¹H соединения **9** присутствуют смещенные в более слабое поле по сравнению с 28-гомобрасинолидом **7** сигналы протонов при C² и C²² ($\delta = 4,76$, $\delta = 5,23$ м. д.), а также наблюдается удвоение сигналов протонов индольного остатка. Фрагментация в масс-спектре соответствует предложенной структуре.

Таким образом, впервые осуществлен синтез ряда эфиров индолилуксусной кислоты на основе 28-гомобрасиностероидов. Первичный скрининг некоторых из полученных соединений в лабораторных тестах на проростках пшеницы показал заметную ростостимулирующую активность, которая оказалась выше, чем в контрольных вариантах, а также в опытах с использованием 28-гомобрасинолида на 10—15 %.



Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C сняты на приборе Bruker A-500 (рабочая частота 500 МГц) в дейтерохлороформе с ТМС в качестве внутреннего стандарта. УФ спектры сняты на приборе Specord UV VIS в метиловом спирте. ИК спектры получены на приборе UR-20 (в пленке). Масс-спектры измерены на приборе LCQTM FLEET с ионной ловушкой (Thermo Electron corp.) с использованием гелия в качестве ионизирующего газа и азота в качестве вспомогательного газа. Протекание реакций контролировали методом ТСХ на пластинах Merck (Kieselgel 60 F₂₅₄). Хроматографическое разделение реакционных смесей осуществляли на силикагеле 40/60 (Kieselgel 60, Merck). Температуры плавления определены на блоке Кофлера.

(22R,23R,24S)-23-Ацетокси-22-(3'-индолилацетокси)-24-этил-5 α -холест-2-ен-6-он (2). К 260 мг (1,49 ммоль) индолилуксусной кислоты в 10 мл сухого диоксана добавили 170 мг дициклогексилкарбодиимида и перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Выпавший осадок дициклогексилкарбомочевины отфильтровали, фильтрат добавили к раствору 300 мг (0,62 ммоль) 23-гидроксистероида **1** и 30 мг диметиламинопиридина в 5 мл безводного диоксана. Реакционную смесь перемешивали сутки, затем диоксан упарили, остаток делили на колонке с силикагелем (элюент—петролейный эфир—этилацетат, 5 : 1). Получено 168 мг (40 %) 3-индолилацетоксипроизводного **2**, т. пл. 131—133 °С (EtOAc). УФ спектр, λ_{max} , нм (ϵ): 220(43974); 280(8303). ИК спектр (плёнка), cm^{-1} : 1735; 1710; 1260; 745. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (CDCl_3): 0,53 с (3H, 18-Me); 0,67 с (3H, 19-Me); 0,88 д (3H, 21-Me, J 7 Гц); 0,95—0,98 м (9H, 26-, 27-, 29-Me); 1,86 с (3H, -OAc); 3,73 д (2H, -OCH₂-, J 11 Гц); 3,77 м (1H, C²H); 4,06 м (1H, C³H); 5,13 д (1H, C²²H, J 9 Гц); 5,33 д (1H, C²³H, 9,2 Гц); 5,59 м (1H, C²H); 5,71 м (1H, C³H); 7,13 д (1H, J 7,2 Гц);

7,19 м (2H); 7,37 д (1H, J 7,8 Гц); 7,68 д (1H, J 7,7 Гц); 8,15 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д. (CDCl_3): 11,5; 12,6; 14,2; 18,8; 19,6; 21,0; 21,1; 21,8; 22,8; 28,3; 29,5; 30,18; 32,0; 37,2; 37,6; 38,8; 39,6; 42,1; 45,6; 46,8; 51,7; 53,1; 54,0; 55,7; 72,9; 74,2; 75,9; 78,1; 109,1; 111,1; 119,4; 119,9; 122,4; 123,5; 124,6; 125,2; 127,5; 136,2; 170,7; 171,3; 212,2.

(22R,23R,24S)-2 α ,3 α -Дигидрокси-23-ацетокси-22-(3'-индолилацетокси)-24-этил-5 α -холест-6-он (3). В 4 мл смеси *трет*-бутанол—вода (1 : 1) растворили 100 мг (0,15 ммоль) Δ^2 -стероида **2**, 150 мг (0,45 ммоль) гексацианоферрата (III) калия, 60 мг (0,45 ммоль) карбоната калия, 40 мг (0,42 ммоль) метансульфонамида и 2 мг (0,005 ммоль) дигидрата осмата калия. Реакционную смесь перемешивали в течение суток, затем промыли насыщенным раствором сульфита натрия, водой, экстрагировали этилацетатом. Экстракт упарили. Остаток делили на колонке с силикагелем элюируя этилацетатом. Получено 70 мг (69 %) **2 α ,3 α -дигидроксистероида 3**, т. пл. 86—88 °С (EtOAc). УФ спектр, λ_{max} , нм (ϵ): 220 (23700); 280 (4400). ИК спектр (плёнка), cm^{-1} : 3350; 1735; 1710; 1310; 1150; 770; 530. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): 0,48 с (3H, 18-Me); 0,68 с (3H, 19-Me); 0,82 д (3H, 21-Me, J 7 Гц); 0,93—0,95 м (9H, 26-, 27-, 29-Me); 1,86 с (3H, -OAc); 3,71 д (2H, -OCH₂-, J 7 Гц); 3,77 м (1H, C²H); 4,06 м (1H, C³H); 5,10 д (1H, C²²H, J 9 Гц); 5,30 д (1H, C²³H, J 9,2 Гц); 7,11 м (1H); 7,19 м (2H); 7,37 д (1H, J 7,8 Гц); 7,67 д (1H, J 7,7 Гц); 8,41 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д. ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): 11,5; 12,5; 13,0; 13,6; 14,3; 18,8; 19,6; 23,6; 26,4; 27,9; 28,3; 32,1; 37,2; 37,6; 38,6; 40,3; 42,2; 42,6; 43,5; 45,6; 46,5; 50,8; 51,6; 53,4; 55,6; 60,5; 68,4; 68,5; 73,0; 75,9; 108,9; 111,3; 119,3; 119,8; 122,3; 123,5; 127,4; 136,2; 170,8; 171,5; 212,5.

(22R,23R,24S)-23-Гидрокси-22-(3'-индолилацетокси)-24-этил-5 α -холест-2-ен-6-он (5). По описанной для соединения **2** методике из 200 мг (0,45 ммоль) 22,23-дигидрокси-2-ен-6-она **4** получили 90 мг (33 %) эфира **5**. Маслообразное вещество. ИК спектр (плёнка), cm^{-1} : 3400; 1710; 1260; 755. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (CDCl_3): 0,53 с (3H, 18-Me); 0,67 с (3H, 19-Me); 0,83 д (3H, 21-Me, J 6,6 Гц); 0,91—0,97 м (9H, 26-, 27-, 29-Me); 3,83 д (2H, -OCH₂-, J 7 Гц); 3,86 м (1H, C²³H); 4,98 д (1H, C²²H, J 9 Гц); 5,60 м (1H, C²H); 5,71 м (1H, C³H); 7,17 м (1H); 7,19 м (2H); 7,33 д (1H, J 8,3 Гц); 7,67 д (1H, J 7,7 Гц); 8,44 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д. (CDCl_3): 11,5; 12,1; 12,7; 13,6; 18,8; 19,4; 21,1; 21,3; 21,8; 23,6; 27,8; 28,9; 32,3; 36,9; 37,6; 38,9; 39,5; 40,0; 42,1; 42,7; 46,6; 46,8; 51,9; 53,1; 53,9; 55,7; 56,7; 72,0; 78,7; 111,4; 119,1; 119,8; 122,3; 123,5; 124,6; 125,1; 127,3; 173,4; 212,3.

(22R,23R,24S)-2 α ,3 α ,23-Тригидрокси-22-(3'-индолилацетокси)-24-этил-5 α -холест-6-он (6). По описанной для соединения **3** методике из 70 мг (0,12 ммоль) дигидроксиенона **5** получили 45 мг (59 %) эфира **6**, т. пл. 70—72 °С (MeOH). УФ спектр, λ_{max} , нм (ϵ): 220 (33354); 280 (6202). ИК спектр (плёнка), cm^{-1} : 3400; 1710; 1260; 755. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (CDCl_3): 0,48 с (3H, 18-Me); 0,67 с (3H, 19-Me); 0,80 д (3H, 21-Me, J 6,6 Гц); 0,91—0,96 м (9H, 26-, 27-, 29-Me); 3,74 м (1H, C²³H); 3,82 м (1H, C²H); 3,85 д (2H, -OCH₂-, J 7 Гц); 4,07 с (1H, C³H); 4,95 д (1H, C²²H, J 9 Гц); 7,13 м (1H); 7,19 м (2H); 7,39 д (1H, J 8,3 Гц); 7,68 д (1H, J 7,7 Гц); 8,69 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д. (CDCl_3): 10,81; 11,85; 12,90; 13,23; 18,87; 19,04; 20,75; 20,88; 23,23; 26,52; 27,59; 29,14; 32,47; 37,10; 37,70; 38,24;

39,74; 41,84; 42,29; 42,48; 46,19; 46,50; 50,93; 51,17; 53,05; 54,96; 67,89; 68,21; 71,11; 108,26; 111,55; 118,84; 119,01; 121,65; 123,79; 127,45; 136,78; 173,21; 214,41.

(22R,23R,24S)-3 α ,22,23-Тригидрокси-2 α -(3'-индолилацетокси)-В-гомо-7-окса-24-этил-5 α -холест-6-он (8). По описанной для соединения **2** методике из 100 мг (0,2 ммоль) 28-гомобрасинолида **7** получили 26 мг (20 %) эфира **8**, т. пл. 80–82 °С (MeOH). УФ спектр, λ_{\max} , нм (ϵ): 220(24368); 280(4526). ИК спектр (плёнка), cm^{-1} : 3400; 1715; 1635; 760. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (CDCl_3): 0,68 с (3H, 18-Me); 0,89 д (3H, 21-Me, J 6,3 Гц); 0,92 с (3H, 19-Me); 0,94–0,98 м (9H, 26-, 27-, 29-Me); 3,58 м (1H, C^{22}H); 3,72 м (1H, C^{23}H); 3,80 д (2H, $-\text{OCH}_2-$, J 7 Гц); 3,98 м (1H, C^3H); 4,02 м (2H, C^7H); 4,84 м (1H, C^2H); 7,16–7,20 м (1H); 7,19 м (2H); 7,37 д (1H, J 8,3 Гц); 7,60 д (1H, J 7,7 Гц); 8,58 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д. (CDCl_3): 11,7; 12,0; 13,6; 14,3; 15,4; 18,9; 19,6; 21,3; 25,0; 25,7; 27,6; 29,0; 31,9; 33,9; 37,1; 38,5; 41,0; 42,5; 46,5; 49,3; 51,2; 52,5; 58,1; 60,5; 65,7; 66,2; 70,5; 72,8; 74,5; 108,2; 111,7; 118,6; 119,8; 122,4; 123,3; 127,2; 136,4; 171,3; 176,2. Масс спектр, m/z : 687,05 $[\text{M}+\text{MeOH}]^+$; 686,02 $[\text{M}-\text{H}+\text{MeOH}]^+$; 651 $[\text{M}]^+$; 650 $[\text{M}-\text{H}]^+$; 633 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$; 494 $[\text{M}-\text{IAA}]^+$.

(22R,23R,24S)-3 α ,23-Дигидрокси-2 α ,22-ди(3'-индолилацетокси)-В-гомо-7-окса-24-этил-5 α -холест-6-он (9). По описанной для соединения **2** методике в течение 2 сут из 100 мг (0,2 ммоль) 28-гомобрасинолида **7** получили 70 мг (44 %) эфира **9**, т. пл. 122–125 °С (EtOAc). УФ спектр, λ_{\max} , нм (ϵ): 220(25555); 280(10476). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (CD_3OD): 0,60 с (3H, 18-Me); 0,72 с (3H, 19-Me); 0,85 д (3H, 21-Me, J 6,3 Гц); 0,93–0,97 м (9H, 26-, 27-, 29-Me); 3,66 м (1H, C^{23}H); 3,72 м (4H, $-\text{OCH}_2-$); 3,81 м (2H, C^7H); 3,92 м (1H, C^3H); 4,76 м (1H, C^2H); 5,23 м (1H, C^{22}H); 7,16–7,20 м (2H); 7,19 м (4H); 7,37 м (2H); 7,60 м (1H); 8,58 с (2H, 2NH). Масс спектр, m/z : 808,08 $[\text{M}]^+$; 790,94 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$; 772,97 $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$; 692,91 $[\text{M}-\text{IndH}]^+$; 616,00 $[\text{M}-\text{IndAc}-\text{H}_2\text{O}]^+$; 598,03 $[\text{M}-\text{IndAc}-2\text{H}_2\text{O}]^+$; 460 $[\text{M}-2\text{IndAc}]^+$; 441,11 $[\text{M}-2\text{IndAc}-\text{H}_2\text{O}]^+$.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (грант X07K-045).

Литература

1. Grove M. D., Spencer G. F., Rohwedder W. K. // Nature. 1979. Vol. 281. P. 216–217.
2. Хрипач В. А., Лахвич Ф. А., Жабинский В. Н. Брасиностероиды. Минск, 1993. — 287 с.
3. Khrpach V. A., Zhabinskii V. N., de Groot A. e. Brassinosteroids: A New Class of Plant Hormones. San Diego, 1999. — 456 p.
4. Sakurai A., Yokota T., Clouse S. Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones. Berlin, 1999. — 253 p.
5. Eun J.-S., Karaishi S., Sakurai N. // Plant Cell Physiol. 1989. Vol. 30. P. 807.
6. Курапов П. Б. Гормональный баланс растений. Методы его изучения и регулирования. Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. М., 1996. — 47 с.
7. Авальбаев А. М., Безрукова М. В., Шакирова Ф. М. // Докл. АН. 2003. Т. 391, № 3. С. 413.
8. Yopp J. H., Colclasure G. C., Mandava N. // Physiol. Plant. 1979. Vol. 46. P. 247–251.
9. Bao F., Shen J., Brady S. R. et al. // Plant Physiology. 2004. Vol. 134. P. 1624–1631.
10. Arteca R. N., De-Sheng T., Schlagnhauser C., Mandava N. B. // Physiol. Plant. 1983. Vol. 59. P. 539.

11. Литвиновская Р. П., Райман М. Э., Хрипач В. А. // ЖОрХ. 2008. Т. 44, вып. 11. С. 1610—1614.
12. Хрипач В. А., Жабинский В. Н., Ольховик В. К. // ХПС. 1994. № 3. С. 385.
13. Takatsuto S., Ikekawa N. // Tetrahedron Lett. 1983. Vol. 24. P. 917—920.

R. P. LITVINOVSKAYA, M. E. RAIMAN, V. I. ANIKEEV, V. A. KHRIPACH

**28-HOMOBRASSINOSTEROIDS MODIFIED WITH A FRAGMENT
OF INDOLYLACETIC ACID**

Summary

By the reaction of 3-indolylacetic acid anhydride with 28-homobrassinosteroids a number of indolylacetoxo derivatives of 28-homobrassinosteroids were obtained.

Национальная академия наук Беларуси

УДК 577.152.3

Д. О. ГЕРЛОВСКИЙ, Г. Н. АНТОНЧИК, Н. М. ЛИТВИНКО, Н. Г. ОГЕЙКО,
И. И. ПЕТРУСЕВИЧ, Ф. А. ЛАХВИЧ

АКТИВНОСТЬ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ A_2 ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ 2-(ЦИС, ЦИС-9,12-ОКТАДЕКАДИЕНОИЛ)- ЦИКЛОГЕКСАН-1,3-ДИОНА

Институт биоорганической химии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 25.05.2009)

Изучено действие 2-(цис, цис-9,12-октадекадиеноил)-циклогексан-1,3-диона (соединение I) на активность панкреатической ФЛА₂. Показано, что соединение I является обратимым ингибитором панкреатической ФЛА₂ ($IC_{50} \approx 4 \cdot 10^{-4} M$) по отношению к субстрату, представленному в виде смешанных мицелл фосфатидилхолина с солями желчных кислот, в условиях, воспроизводящих пищеварение. Начальная скорость гидролиза субстрата в мицеллярной фазе в присутствии соединения I снижается в 1,3 раза. Предполагается больший вклад линолевого радикала молекулы соединения I в ингибирование реакции по сравнению с циклогександионовым фрагментом: в модельном эксперименте скорость реакции снижается в большей степени в присутствии линолевой кислоты (\approx в 1,8 раза) по сравнению с циклогексан-1,3-дионом (в 1,2 раза). Обнаружено, что при увеличении ионной силы реакционной среды с помощью NaCl (0–3,9 M) полного торможения активности фермента соединением I не наблюдается. Это свидетельствует о том, что в суммарный ингибиторный эффект соединения I вносят вклад не только электростатические, но и гидрофобные взаимодействия с активным центром фермента.

Введение

Панкреатическая фосфолипаза A_2 (КФ 3.1.1.4, ФЛА₂) относится к секреторным ферментам [1], участвует в пищеварении, гидролизуя эмульгированные желчными кислотами фосфолипиды пищи до лизофосфолипидов и жирных кислот. Продукты этой липолитической реакции являются сильными модуляторами биохимических процессов. Поэтому с изменением в тканях и биологических жидкостях активности ФЛА₂ и ее количества связан ряд патологических состояний организма, таких как псориаз, ишемический инсульт, ревматоидный артрит, острый некротический панкреатит [2; 3].

В организм человека попадает множество синтетических соединений, обладающих физиологической активностью. К таким соединениям относятся

и кайромоны (феромоны) насекомых ряда производных 2-ацилциклогексан-1,3-дионон, которые могут оказывать за счет взаимодействия с дикетонным фрагментом эффекторное воздействие на биокатализаторы, в том числе на ФЛА₂, и вызывать необратимые последствия. В настоящее время влияние такого ряда соединений на активность фосфолипаз изучено недостаточно: описано ингибирование этого секреторного фермента 1,2-циклогександионом [4]. В присутствии 2-(*цис*, *цис*-9,12-октадекадиеноил)-циклогексан-1,3-диола (соединение I) на начальной стадии реакции показана активация липолиза в мицеллярной фазе под действием ФЛА₂ [5]. Гидролиз липопротеинов яичного желтка с участием ФЛА₂ ингибируется соединением I [6].

С целью оценки экологической безопасности указанных выше феромонных композиций для организмов животных и человека, используемых в борьбе с вредителями сельскохозяйственных культур, нами на примере соединения I проведено исследование их эффекторного действия на активность панкреатической фосфолипазы А₂ в условиях, воспроизводящих пищеварение.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования была использована ФЛА₂ поджелудочной железы свиньи (фирма Sigma), являющаяся модельным объектом для исследования кинетики гидролиза фосфолипидов с участием ферментов данного семейства [7].

Для количественного определения скорости реакции, катализируемой панкреатической ФЛА₂, в качестве субстрата использовали смешанные мицеллы фосфатидилхолина (ФХ, фирма Sigma) с анионным детергентом дезоксихололатом Na (ДХ-Na) в соотношении 1 : 2. Выбор данной формы организации субстрата для проведения кинетических исследований связан с тем, что фосфолипид в мицеллярной фазе полностью доступен для фермента в отличие от липосом (доступность субстрата 60 %). Использование ДХ-Na связано со специфичностью панкреатической ФЛА₂ к отрицательному заряду поверхности раздела фаз «липид—вода» [8], так как в условиях функционирования *in vivo* в двенадцатиперстной кишке фосфолипиды пищи диспергируются желчными кислотами, одной из которых является дезоксихолевоая кислота.

ФХ переводили в мицеллярную фазу путем добавления раствора детергента к фосфолипидной пленке, образующейся после удаления хлороформа из раствора этого фосфолипида. Реакционная среда для исследования влияния на фосфолиполилиз соединения I содержала: 0,51 мМ фосфолипида, 1,02 мМ детергента, 2 мМ CaCl₂ в 0,05 М трис-HCl буферном растворе, pH 7,4. Реакцию проводили при 37 °С. Гидролиз ФХ инициировали внесением в реакционную смесь фермента (5 мкг/мл) и останавливали добавлением раствора этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) до конечной концентрации 15 мМ. Отбирали пробы по 500 мкл. Продукты реакции экстрагировали двукратным объемом смеси хлороформ : метанол (2 : 1) [9]. Нижний слой отделяли, выпаривали и остаток содержащихся в нем фосфолипида и лизофосфолипида разделяли с помощью ТСХ в системе 65 : 25 : 4 (хлороформ : метанол : вода). Разделенные субстрат и продукт проявляли реагентом на фосфолипиды, проявившиеся

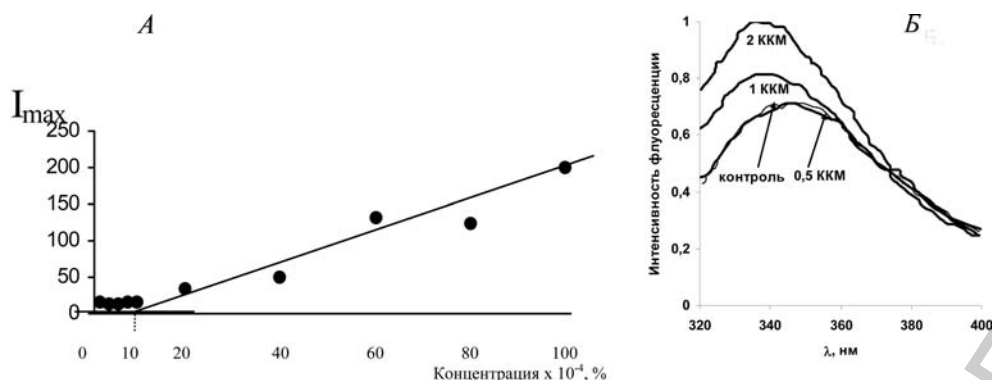


Рис. 1. А — определение ККМ линолевой кислоты (18 : 2); Б — интенсивность флуоресценции ФЛА₂ при взаимодействии с линолевой кислотой (18 : 2) в концентрации, равной 0,5; 1; 2 ККМ, моделирующей процесс перехода в мицеллярную фазу: возбуждении флуоресценции — 280 нм; регистрации испускания в диапазоне 300—500 нм; ширина щели — 4,5 нм

пятна вырезали и анализировали содержание в них фосфора с помощью реактива Васьковского [10].

Исследуемое соединение I или циклогексан-1,3-дион и линолеовую кислоту (18 : 2), как моделирующие его фрагменты, вносили (0,4 мкмоль/мл) в реакционную среду до начала реакции. Скорость гидролиза субстрата оценивали по образованию лизопродукта (мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹). О влиянии исследуемых веществ на ФЛА₂ судили по отношению начальной скорости реакции в присутствии эффектора и без него (v/v_0 , где v_0 — начальная скорость реакции в отсутствие эффектора, а v — в его присутствии). Изменение ионной силы реакционной среды осуществляли добавлением NaCl (от 0 до 3,9 М).

Характеристику перехода в мицеллярную фазу мономолекулярной формы линолевой кислоты (18 : 2) осуществляли путем определения критической концентрации мицеллообразования (ККМ = $0,285 \cdot 10^{-4}$ М, рис. 1, А) с помощью флуоресцентного метода [11]. Собственную флуоресценцию ФЛА₂ измеряли в смеси, содержащей 0,05 М трис-НСl, рН 7,4; 10 мкг/мл ФЛА₂ (общий объем 2 мл). Эксперименты проводили при возбуждении флуоресценции при 280 нм, регистрации испускания в диапазоне 300—500 нм (максимум ~ 340 нм). Использовали спектрофлуориметр «SOLAR» 1211а. Исследование влияния на собственную флуоресценцию ФЛА₂ преинкубации фермента с линолевой кислотой проводили при трех ее разных концентрациях, равных 0,5; 1; 2 ККМ. Перед снятием спектров фермент инкубировали в среде 60 мин [12].

Результаты и их обсуждение

Особенностью действия ФЛА₂ является то, что она осуществляет свою каталитическую функцию не в свободном объеме, как большинство ферментов, а на поверхности раздела фаз «липид—вода» [13]. В связи с этим активный центр ФЛА₂ помимо каталитического участка, где непосредственно происходит гидролиз сложноэфирной связи во втором положении глицеринового

фрагмента молекулы фосфолипида, включает сайт, существующий исключительно для распознавания организованной поверхности раздела «липид—вода», а также два Ca^{2+} -связывающих участка. Сложное строение активного центра ФЛА₂ дает возможность регулировать ее активность на этапе связывания с межфазной поверхностью, с Ca^{2+} или непосредственно с молекулой субстрата, что расширяет спектр химических соединений, которые могут выступать в качестве эффекторов данного фермента [14]. Важным свойством ФЛА₂ является резкое скачкообразное увеличение скорости гидролиза субстрата, представленного в виде организованной межфазной поверхности — мицеллярной, ламеллярной или гексагональной фаз, по сравнению с его мономолекулярной формой.

Из данных таблицы следует, что начальная скорость гидролиза ФХ в мицеллярной фазе, сформированной ДХ-На, в присутствии соединения I снижается в 1,3 раза с $16,9 \pm 0,26$ до $13,1 \pm 0,71$ мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹. Ранее показано, что ненасыщенные жирные кислоты [12] и кетоны [15; 16], являющиеся структурными компонентами исследуемого соединения, обладают эффекторными свойствами по отношению к панкреатической ФЛА₂. В связи с этим целесообразно выяснить, какой из фрагментов соединения I (циклогександионовый или линолевый) ответственен за ингибирование реакции.

Имеются неоспоримые доказательства биоэффекторной роли полиненасыщенных жирных кислот (ПЖК) как вторичных мессенджеров метаболических процессов. ПЖК ω 3- и ω 6-серий специфически ингибируют транскрипцию генов липогенных и гликолитических белков. В организме С₂₀-ПЖК образуются из экзогенных жирных кислот (ЖК), поступающих с пищей: линоленовой, которая дает начало семейству ЖК типа ω 3, и линолевой, которая метаболизируется в ПЖК, имеющие строение ω 6. Линолевая и линоленовая кислоты относятся к разряду незаменимых ПЖК, не синтезирующихся в организме и поступающих исключительно с пищей [17]. Известно, что жирные кислоты, накапливаясь в процессе липолиза, образуют в мембране домены, появление которых стимулирует активность панкреатической ФЛА₂, что может быть зафиксировано

Кинетические характеристики фосфолиполиза с участием ФЛА₂ в начальный период реакции в присутствии 2-(цис, цис-9,12-октадекадиеноил)-циклогексан-1,3-диола, циклогексан-1,3-диола и линолевой кислоты (18 : 2)

Эффектор	Общий гидролиз, %	Скорость гидролиза, мкмоль·мин ⁻¹ ·мг ⁻¹
Отсутствует (контроль)	33 ± 0,5	16,9 ± 0,26
2-(цис, цис-9,12-октадекадиеноил)-циклогексан-1,3-дион	25 ± 1,4	13,1 ± 0,71
Циклогексан-1,3-дион	28 ± 1,5	14,2 ± 0,77
Линолевая кислота	18,6 ± 1,2	9,5 ± 0,60

Примечание. Опыты проводились в 2—3 повторностях со взятием двух параллельных проб, время реакции 2 мин, субстрат — яичный фосфатидилхолин.

изменением собственной флуоресценции белка. Такие домены могут иметь организованную структуру и быть построены по принципу мицелл. Основным критерием перехода мономолекулярной формы амфифильных веществ в мицеллярную фазу является величина ККМ. Нами обнаружены наиболее выраженные изменения собственной флуоресценции ФЛА₂ в присутствии арахидоновой кислоты в мицеллярной фазе при концентрации, равной 2 ККМ [12].

Из спектров, приведенных на рис. 1, Б, видно, что такая же картина наблюдается для линолевой кислоты, поэтому последующие эксперименты проводили при концентрации линолевой кислоты значительно большей 2 ККМ, свидетельствующей о полном переходе мономолекулярной формы этого соединения в структурированную мицеллярную фазу.

Профиль кривых зависимости от времени относительной скорости гидролиза под действием ФЛА₂ ФХ, в присутствии соединения I, циклогексан-1,3-диона и линолевой кислоты, представленных на рис. 2, А, свидетельствует о вкладе обоих структурных компонентов в общий ингибиторный эффект. Таким образом, в случае соединения I, являющегося также винилогеновой кислотой, наблюдается эффект последней и линолевого фрагмента. Однако скорость реакции снижается в большей степени в присутствии линолевой кислоты (≈ в 1,8 раза) по сравнению с циклогексан-1,3-дионом (в 1,2 раза), что позволяет сделать предположение о преобладании воздействия линолевого фрагмента в итоговом результате действия соединения I на фосфолиполиз.

При этом следует обратить внимание на роль заряда в проявлении ингибиторного действия линолевой кислоты на фосфолиполиз ФХ в мицеллярной фазе, включающей анионный детергент. Такой ингибиторный эффект, вероятно, связан с увеличением на межфазной поверхности отрицательно заряженных центров. Наблюдаемое ингибирование реакции, видимо, происходит за счет отвлечения части фермента, специфичного к отрицательно заряженной межфазной поверхности, на связывание с доменом этой жирной кислоты

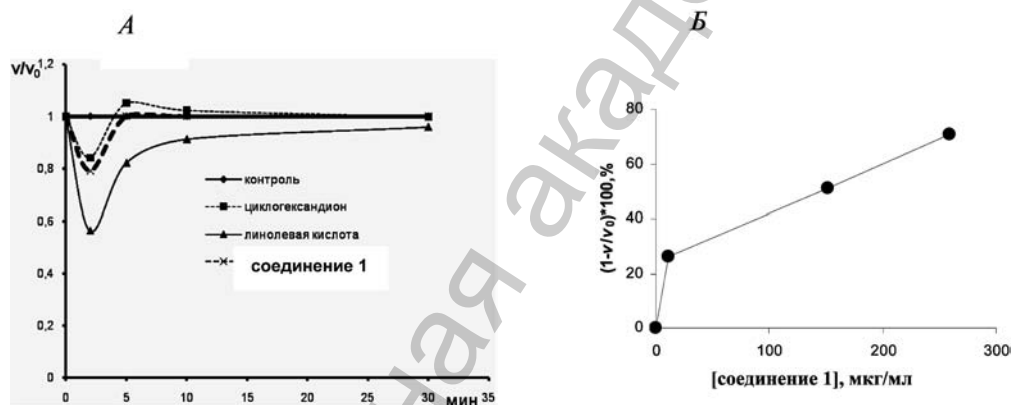


Рис. 2. А — зависимость от времени относительной скорости гидролиза мицелл ФХ:ДХ-На (1 : 2) в присутствии соединения I, циклогексан-1,3-диона и линолевой кислоты (18 : 2); Б — зависимость степени ингибирования реакции (%), катализируемой ФЛА₂, от концентрации соединения I в реакционной среде: С(ФХ) = 0,5 мМ; С(ФХ) : С(ДХ-На) = 1 : 2; С(ФЛА₂) = 5 мкг/мл

и временным образованием каталитически неактивного комплекса. Это предположение подтверждается тем фактом, что относительная скорость реакции через 30 мин практически достигает единицы (рис. 2, А). Ранее при гидролизе панкреатической ФЛА₂ ФХ в мицеллярной фазе, включающей цвиттер-ионный детергент Тритон X-100, в присутствии отрицательно заряженных доменов линоленовой и арахидоновой кислот наблюдался активирующий эффект [12] в связи с облегчением связывания фермента с нейтрально заряженной изначально труднодоступной межфазной поверхностью «липид—вода».

На рис. 2, Б представлен график зависимости степени ингибирования ФЛА₂ от концентрации соединения I, который имеет двухфазный характер. Скорость реакции гидролиза (мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹) измеряли при содержании 10,5; 151,3 и 259,1 мкг/мл соединения I в реакционной среде. При концентрации 10,5 мкг/мл активность фермента снижается на 26,3 %. При дальнейшем увеличении содержания соединения I более чем на порядок, до 151,3 и 259,1 мкг/мл, ингибирование фермента увеличилось в 1,9 и 2,7 раз соответственно. Исходя из представленной на рис. 2, Б зависимости «доза—эффект», IC₅₀ ≈ 4·10⁻⁴ М.

С целью установления роли электростатических сил при взаимодействии 2-(цис, цис-9,12-октадекадиеноил)-циклогексан-1,3-диона с ферментом провели измерение активности фермента при различных значениях ионной силы раствора, поскольку известно, что увеличение ионной силы реакционной среды экранирует электростатические взаимодействия. В результате проведенных экспериментов, как следует из рис. 3, установлено, что при увеличении содержания NaCl в реакционной среде от 0 до 3,9 М ингибирование активности панкреатической ФЛА₂ (1-v/v₀, %) соединением I снижалось с 51,2 % (0 М NaCl) до 10,7 % (3,9 М NaCl). Однако увеличение ионной силы полностью не снимает торможения активности фермента указанным соединением. Предположительно, это связано с тем, что в ингибиторное действие соединения I вносят вклад не только его электростатические, но и гидрофобные взаимодействия с активным центром фермента.

Имеются сведения, что добавление NaCl или анионного детергента увеличивает степень гидролиза цвиттер-ионных фосфолипидов панкреатической ФЛА₂ [18]. Такое стимулирующее фосфолиполиз действие, как полагают [18], происходит за счет взаимодействия катионных остатков в 53 и 56 положениях первичной структуры панкреатической ФЛА₂ с анионной поверхностью раздела фаз. Фермент-субстратный комплекс остается неактивным на цвиттер-ионной поверхности раздела фаз до тех пор, пока положительный заряд аминокислотных

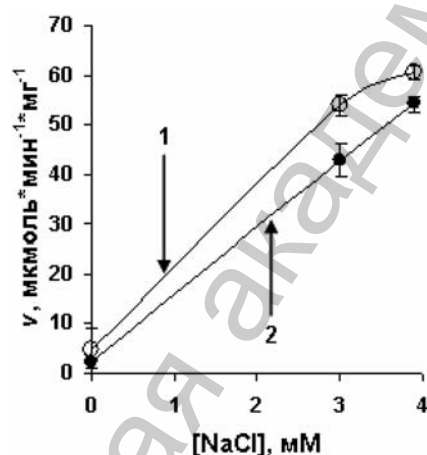


Рис. 3. Зависимость скорости гидролиза ФХ ФЛА₂ от концентрации NaCl в реакционной среде (С(ФХ) = 0,5 мМ; С(ФХ) : С(ДХ-Na) = 1 : 2; С(ФЛА₂) = 5 мкг/мл): 1 — контрольная реакция; 2 — реакция в присутствии соединения I

остатков в 53 и 56 положениях не будет нейтрализован. Отсюда можно предположить, что соединение I является конкурентом ДХ-На и NaCl за связывание данных катионных остатков. Соединение I обладает гидрофильной и гидрофобной частями и выступает в роли детергента. Это согласуется с тем фактом, что при увеличении концентрации соли ингибиторное действие соединения I снижается. Возможен также эффект разбавления ФХ в составе межфазной поверхности благодаря включению соединения I.

Заключение

Исследованное в данной работе производное 2-ацилциклогексан-1,3-диона показало себя обратимым, следовательно экологически безопасным ингибитором панкреатической ФЛА₂ ($IC_{50} \approx 4 \cdot 10^{-4} M$) по отношению к субстрату, представленному в виде смешанных мицелл ФХ с солями желчных кислот, в условиях воспроизводящих пищеварение. Наиболее выраженное ингибиторное действие наблюдается только на начальном этапе реакции (до 5 мин) при pH 8,0, которое сравнимо с кислотно-щелочным балансом в просвете двенадцатиперстной кишки (pH 7,2–8,5) и в протоках поджелудочной железы (pH 9,0). Из полученных результатов следует, что 2-(*цис*, *цис*-9,12-октадекадиеноил)-циклогексан-1,3-дион в практическом плане может быть использован для дальнейших исследований в качестве антипанкреатитного средства со смягченным спектром действия, позволяющим через некоторое время восстановить функцию фермента.

Ранее нами показано, что соединение такого типа с двумя ненасыщенными двойными связями является более эффективным ингибитором, чем соединения с тремя ненасыщенными двойными связями [6]. Это предполагает, что для ингибиторного действия важно не просто число двойных связей, а их четное количество.

Таким образом, установление в настоящей и предыдущих работах блокирующего действия производных 2-ацилциклогексан-1,3-диона позволяет рассматривать их в качестве потенциальных лекарственных средств для регулирования активности ФЛА₂ при различных патологических состояниях.

Коллектив авторов выражает благодарность канд. хим. наук С. В. Бабицкой за оказанную квалифицированную помощь при определении критической концентрации мицеллообразования с помощью флуоресцентного метода.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований по проекту Б07М-188.

Литература

1. Singh N. et al. // Curr. Top. Med. Chem. 2007. Vol. 7(8). P. 757–764.
2. Masuda S. et al. // Febs J. 2005. Vol. 272, N 3. P. 655–672.
3. Nevalainen T. J. // American J. Surg. 2007. Vol. 194 (Suppl.). P. 28–32.
4. Vensel L. A., Kantrowitz E. R. // J. Biol. Chem. 1980. Vol. 255. P. 7306–7310.
5. Лахвич Ф. А. и др. // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. 2009. № 2. С. 77–81.
6. Антончик Г. Н., Литвинко Н. М., Огейко Н. Г., Петрусевич И. И. // Материалы междунар. науч. конф. Минск, 2008. С. 361–363.
7. Volwerk J. J. et al. // Biochemistry. 1986. Vol. 25, N 7. P. 1726–1733.

8. Yu B. Z. et al. // *Biochemistry*. 2000. Vol. 39(40). P. 12312—12323.
9. Bligh E. G., Dyer W. J. // *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959. Vol. 37. P. 91.
10. Vaskovsky V. E. et al. // *J. of Chromatography*. 1975. Vol. 114, N 1. P. 129—141.
11. Chattopadhyay A., London E. // *Anal. Biochem.* 1984. Vol. 139, N 2. P. 408—412.
12. Литвинко Н. М. и др. // Докл. НАН Беларуси. 2004. Т. 48, № 6. С. 57—61.
13. Jain M. K., Berg O. G. // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2006. Vol. 10(5). P. 473—479.
14. Уэбб Л. Ингибиторы ферментов и метаболизма. М., 1966. — 894 с.
15. Conde-Frieboes K. et al. // *J. Am. Chem. Soc.* 1996. Vol. 118, N 24. P. 5519—5525.
16. Кучуро С. В. и др. // Докл. НАН Беларуси. 2004. Т. 48, № 1. С. 65—68.
17. Когтева Г. С., Безуглов В. В. // *Биохимия*. 1998. Т. 63. С. 6—15.
18. Ballantyne C. M. et al. // *Arch. Intern. Med.* 2005. Vol. 165, N 21. P. 2479—2484.

*D. O. GERLOVSKIY, G. N. ANTONCHIK, N. M. LITVINKO, N. G. OGEYKO,
I. I. PETRUSEVICH, F. A. LAKHVICH*

**PANCREATIC PHOSPHOLIPASE A₂ ACTIVITY UNDER ACTION
OF 2-(CYS-, CYS-OCTADECADIENOYL)CYCLOHEXANE-1,3-DIONE**

Summary

Pancreatic PLA₂ activity under action of 2-(cys-, cys-octadecadienoyl)cyclohexane-1,3-dione (substance I) was studied. Substance I, as was shown, has been reversible inhibitor ($IC_{50} \approx 4 \cdot 10^{-4} M$) of pancreatic PLA₂ activity toward mixed micelles of phosphatidylcholine and bile acids salts under modeling of food utilization conditions. Initial rate of substrate hydrolysis in presence of substance I decrease in 1.3 times. Linolic radical of substance I, as was supposed, has made more contribution into this inhibition than cyclohexanic fragment: at model experiment reaction rate decreases in presence of linolic acid in 1.8 time and in presence of cyclohexane-1,3-dione — in 1.2 time. It was found, that full inhibition of enzyme activity by substance I under increasing of ionic power by NaCl (0—3.9 M) have not been observed. That is evidence for participation of electrostatic and hydrophobic interactions with active site of enzyme during summary inhibitor effect of substance I.

УДК 548:537.611.44; 548:537.611.46

В. И. МИТЮК, В. М. РЫЖКОВСКИЙ, Т. М. ТКАЧЕНКО

ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ТВЕРДЫХ РАСТВОРОВ НА ОСНОВЕ АНТИМОНИДА МАРГАНЦА СО СТРУКТУРОЙ ТИПА В8

Научно-практический центр НАН Беларуси по материаловедению

(Поступила в редакцию 11.02.2009)

В работе получены твердые растворы антимонида марганца с немагнитными переходными металлами — цинком и медью, имеющие структуру типа В8, пространственная группа $R\bar{6}3/mmc$. По данным рентгеновского дифракционного анализа область существования фазы типа В8 в системе составляет: $0 \leq x \leq 0,1$ для $Mn_{1-x}Zn_xSb$ и $0 \leq x \leq 0,1$ для $Mn_{1-x}Cu_xSb$. Проведены исследования температурной зависимости намагниченности и определены температуры магнитных фазовых переходов полученных твердых растворов. Методом эффекта Мессбауэра уточнен характер магнитных взаимодействий. По результатам магнитных и мессбауэровских исследований сделан вывод о преимущественной локализации немагнитных атомов Zn или Cu в тригонально-бипирамидальных междуузлиях структуры типа В8.

1. Введение

Антимонид марганца $MnSb$ и твердые растворы на его основе имеют структуру типа В8 ($NiAs$ и Ni_2In) [1].

В идеальной $NiAs$ структуре атомы металлоида As образуют плотнейшую гексагональную упаковку, октаэдрические позиции заняты атомами металла — Ni (MeI), а имеющиеся в структуре тригонально-бипирамидальные междуузлия — MeII — остаются полностью свободными. При заполнении атомами металла междуузлий MeII образуется структура типа Ni_2In . Так как антимонид марганца имеет протяженную область гомогенности $Mn_{1-x}Sb$ ($0 \leq x \leq 0,3$), атомы марганца занимают все октаэдрические позиции и часть тригонально-бипирамидальных междуузлий, причем степень их заполнения, т. е. степень отклонения состава от эквиатомного, существенно влияет на физические свойства [2–4]. Что касается магнитного упорядочения, то фазы $Mn_{1-x}Sb$ обладают результирующим магнитным моментом и в зависимости от величины x классифицируются как ферромагнетик ($x = 0$) или ферримагнетик ($x > 0$), а температура магнитного фазового перехода T_C может принимать значения в широком диапазоне температур в зависимости от x ($300 \text{ K} \leq T_C \leq 600 \text{ K}$).

Практический интерес к антимониду марганца в настоящее время сохраняется. Это связано с тем, что помимо традиционно известного применения его в качестве материалов магнитооптики [5–7], найден ряд новых применений. Так, в [8–10] предложено оригинальное использование антимонида марганца, наряду с антимонидами других переходных металлов, в качестве материала отрицательного электрода для литиевых аккумуляторных батарей.

Антимонид марганца образует твердые растворы с переходными металлами [11; 12], при этом магнитные свойства растворов могут существенно отличаться от свойств незамещенного соединения, расширяя границы его практического использования. Но замещение марганца на немагнитные Cu или Zn в пределах фазы типа B8 и влияние такого замещения на свойства антимонида марганца практически не изучено.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы является:

- 1) получение сплавов антимонида марганца с немагнитными Cu и Zn;
- 2) определение пределов существования фазы типа B8 в твердых растворах антимонида марганца $Mn_{1-x}Sb$ с медью или цинком;
- 3) исследование структурных и магнитных характеристик полученных твердых растворов;
- 4) поиск корреляций между составом твердого раствора и его свойствами.

2. Получение твердых растворов

Замещение марганца в антимониде проводили по расчетной формуле $Mn_{1-x}Me_xSb$ (где Me — Cu или Zn, $0 \leq x \leq 0,5$). Поскольку антимонид марганца никельарсенидного типа имеет протяженную область гомогенности $Mn_{1-x}Sb$, также были проведены исследования растворимости меди и цинка при полном общем избытке металла относительно эквимолярного состава $x = 0,1$ и $0,2$. Исходный синтез проводился по технологии, близкой к описанной в [1] для незамещенного антимонида марганца. В результате большого количества экспериментов оптимальным был признан синтез по схеме:

медленный (в течение 24 ч) разогрев гомогенной смеси исходных компонент, взятых в требуемых весовых соотношениях, в откачанных до 10^{-3} мм рт. ст. кварцевых ампулах, до температуры плавления $T = 900–950$ °C;

сплавление при $T = 900–950$ °C в течение 4 ч;

охлаждение в течение нескольких часов от 950 °C до 840–860 °C (температура образования в системе никельарсенидной фазы);

отжиг при $T = 840–860$ °C в течение 24 ч;

закалка образца в воде со льдом.

3. Структурные исследования сплавов

Определялся фазовый состав продуктов каждого синтеза. Рентгенофазовый анализ проводили на дифрактометре ДРОН-3М с использованием $Cu K_\alpha$ -излучения, рентгенограммы обрабатывались по методу Ритвельда с помощью программы Fullprof [13].

Т а б л и ц а 1. Фазовый состав продуктов синтеза при замещении марганца медью в антимониде марганца со структурой типа В8

Состав	Тип фазы, структура	Фазовое состояние
$Mn_{1,1}Sb$	P 63/m m c (194) — hexagonal	Однофазное
$Mn_{1,05}Cu_{0,05}Sb$	P 63/m m c (194) — hexagonal	Однофазное
$Mn_{1,03}Cu_{0,07}Sb$	P 63/m m c (194) — hexagonal	Однофазное
$Mn_{1,0}Cu_{0,1}Sb$	P 63/m m c (194) — hexagonal	Однофазное
$Mn_{0,9}Cu_{0,2}Sb$	P 63/m m c (194) — hexagonal + Fm3m — cubic (MnSb+Cu)	Двухфазное, несущественное увеличение второй фазы
$Mn_{0,8}Cu_{0,3}Sb$	P 63/m m c (194) — hexagonal+ Fm3m — cubic (MnSb+Cu)	Двухфазное, заметное увеличение второй фазы
$Mn_{0,7}Cu_{0,4}Sb$		Многофазное

В работе был проведен синтез твердых растворов антимонида марганца с замещением марганца медью в матрице $Mn_{1,1}Sb$. Количество вводимой в $Mn_{1,1}Sb$ меди варьировалось от 0 до 50 ат. %. Последующая рентгенографическая аттестация полученных сплавов позволила определить их фазовый состав. Было установлено, что однофазных твердых растворов с содержанием меди более 10 ат. % не образуется. Результаты анализа рентгенограмм представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, сплавы $Mn_{1,1-x}Cu_xSb$ при $x < 0,1$ являются однофазными с гексагональной кристаллической структурой типа В8 (пространственная группа P63/mmc (194)), а при $x > 0,1$ — двухфазными с примесью кубической фазы Cu, количество которой растет при увеличении x . На рис. 1 представлена рентгенограмма сплава на основе антимонида марганца, содержащего 20 % меди. Наряду с рефлексами основной гексагональной фазы, характеризующей твердый раствор со структурой В8, на рентгенограмме видны рефлексы, относящиеся к кубической меди (пространственная группа Fm3m). Таким образом, сплавы $0,1 < x < 0,4$ $Mn_{1,1-x}Cu_xSb$ состоят из следующих двух фаз: фаза со структурой типа В8 (P 63/m m c (194)); кубическая фаза Cu (Fm3m).

Аналогично рассмотренному выше замещению

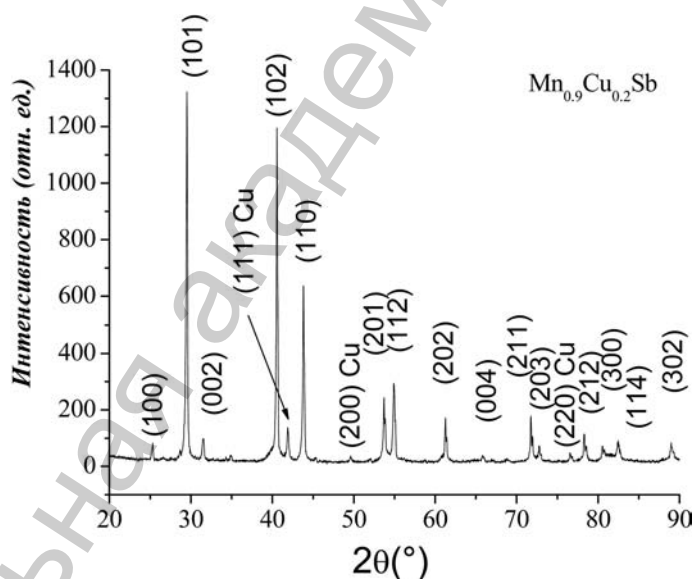


Рис. 1. Рентгенограмма образца $Mn_{0,9}Cu_{0,2}Sb$

медью, было исследовано замещение марганца цинком в антимониде марганца состава $Mn_{1-x}Sb$. По данным рентгеновской дифракции был сделан вывод о замещении марганца цинком в количестве не более 10 ат. %.

Исследовалась также растворимость немагнитных меди и цинка в антимониде марганца с другим отклонением состава исходного соединения от эквиатомного — при избыточном содержании марганца $x = 0,2$, т. е. в качестве исходного брали антимонид марганца состава $Mn_{1,2}Sb$, который находится вблизи границы существования фаз структурного типа В8 в системе при нормальных условиях. При таком составе исходного образца было установлено, что растворимость Zn или Cu также составляет не более 10 ат. %.

На рис. 2 приведены рентгенограммы образцов гексагонального цинк- и медьзамещенного антимонида марганца и результаты их обработки методом Ритвельда. На рисунках обозначены экспериментальные данные (кружки), рассчитанная кривая (сплошная линия) и их разность (нижняя сплошная линия), вычисленные положения рефлексов (вертикальные штрихи). Отметим, что рентгенограммы для $Mn_{1,2-x}Me_xSb$ и $Mn_{1,1-x}Me_xSb$, где Me —

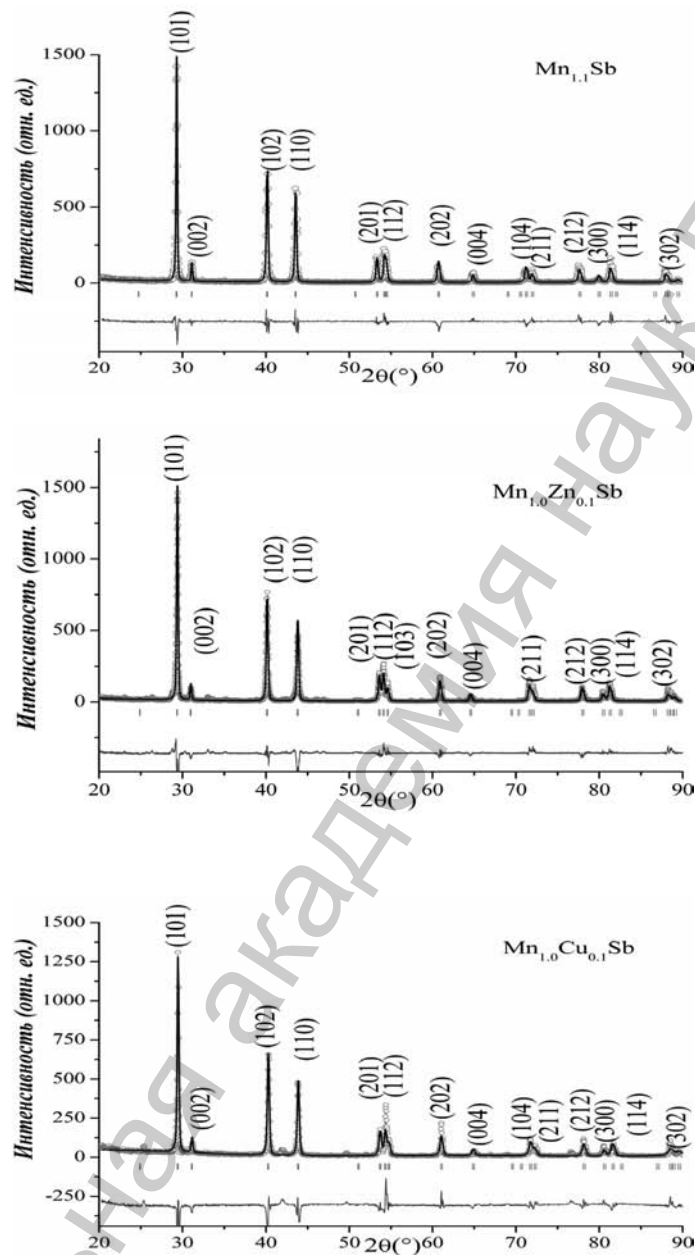


Рис. 2. Рентгенограммы образцов состава $(Mn_{1,0}+Me_{0,1})Sb$, где Me — Mn, Zn, Cu

Zn, Cu с различным избытком металла относительно эквиатомного содержания — 0,1 и 0,2, и с одинаковым содержанием замещающего марганец металла — 10 ат. % цинка или меди, качественно идентичны.

Обобщая результаты синтеза, можно сделать вывод, что растворимость немагнитных металлов цинка или меди в антимониде марганца со структурой типа арсенида никеля составляет не более 10 ат. %, причем полная растворимость по цинку составляет 10 ат. %, по меди — 10 ат. %. При этом исходный антимонид марганца может иметь состав с любым отклонением от эквиатомного, но лежать в пределах области гомогенности $Mn_{1+x}Sb$, где $0 < x < 0,3$.

По результатам структурной аттестации для проведения последующих магнитных измерений были отобраны образцы с разным избытком металла относительно эквиатомного состава ($x = 0,1$ и $0,2$) и одинаковым содержанием замещающего немагнитного металла — меди или цинка (10 ат. %).

Для проведения сравнительных исследований к каждой паре Zn- и Cu-замещенных образцов дополнительно включался незамещенный антимонид марганца с соответствующим отклонением от эквиатомного состава, т. е. $Mn_{1,1}Sb$ и $Mn_{1,2}Sb$. Итого было отобрано 6 образцов полученных твердых растворов. Их основные структурные характеристики приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Структурные характеристики никель-арсенидной фазы в твердых растворах $MnMeSb$ (Me — Zn, Cu)

Состав	a, нм	c, нм	c/a
$Mn_{1,1}Sb$	0,4157	0,5757	1,385
$Mn_{1,0}Zn_{0,1}Sb$	0,4150	0,5758	1,387
$Mn_{1,0}Cu_{0,1}Sb$	0,4133	0,5770	1,396
$Mn_{1,2}Sb$	0,4197	0,5723	1,364
$Mn_{1,1}Zn_{0,1}Sb$	0,4175	0,5726	1,372
$Mn_{1,1}Cu_{0,1}Sb$	0,4164	0,5775	1,387

4. Магнитные измерения

Магнитные измерения цинк- и медьсодержащих сплавов на основе антимонида марганца проводились в поле 8,6 кЭ. Эксперимент осуществлялся на установке, работающей по методу Фарадея с измерением пондеромоторной силы, что позволяло использовать малые количества образца. На рис. 3 показаны температурные кривые намагниченности для образцов составов $Mn_{1,1}Me_{0,1}Sb$ (где Me — Zn, Cu) и $Mn_{1,0}Me_{0,1}Sb$ (Me — Zn, Cu). Измерения проводились при нагревании от 77 до 700 К и при обратном ходе — охлаждении образца. Ход кривых в циклах нагрев—охлаждение для образцов, как правило, не совпадал. Это мы видим на температурной зависимости намагниченности $Mn_{1,1}Zn_{0,1}Sb$ (рис. 3). Такое поведение намагниченности мы связываем с дефектностью структуры никель-арсенидного типа и связанными с ней диффузионными процессами при воздействии температуры. Нагревание в цикле измерений намагниченности одновременно является термообработкой образца, приводящей к частичному необратимому отжигу дефектов: атомы металла из междуузлий MeII переместились в регулярные позиции MeI. При последующих циклах «нагрев—охлаждение» характеристики практически не изменяются.

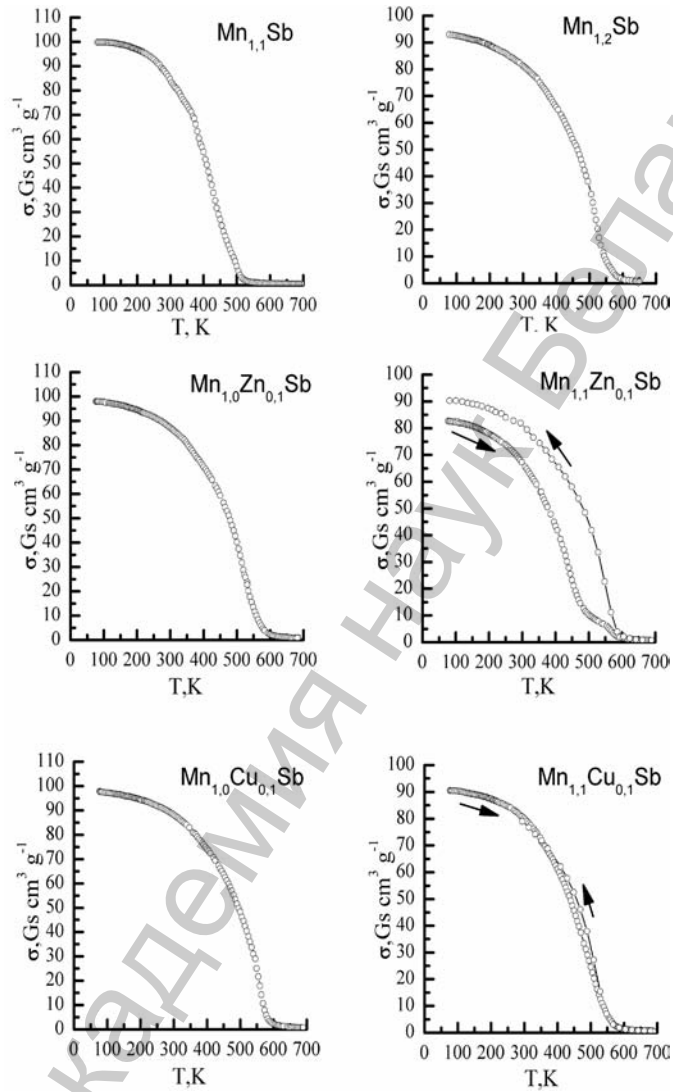


Рис. 3. Кривые намагниченности образцов $Mn_{1,0}Me_{0,1}Sb$ и $Mn_{1,1}Me_{0,1}Sb$ ($Me - Zn, Cu$)

Т а б л и ц а 3. Величины удельных намагниченностей и температур Кюри твердых растворов $Mn(Zn/Cu)Sb$

Состав	σ , $G \cdot cm^3 \cdot g^{-1}$ ($T = 77$ K)	T_C , K
$Mn_{1,1}Sb$	99,7	520
$Mn_{1,0}Zn_{0,1}Sb$	97,9	570
$Mn_{1,0}Cu_{0,1}Sb$	97,8	590
$Mn_{1,2}Sb$	92,9	540
$Mn_{1,1}Zn_{0,1}Sb$	90,2	570
$Mn_{1,1}Cu_{0,1}Sb$	90,5	580

В табл. 3 представлены величины удельных намагниченностей и температур магнитных фазовых переходов T_C для отобранных по результатам структурных исследований шести образцов твердых растворов $Mn(Zn/Cu)Sb$.

5. Мессбауэровские исследования

Для получения дополнительных сведений о магнитном состоянии исследуемых объектов проведены исследования методом эффекта Мессбауэра. Мессбауэровские измерения выполнены в геометрии прохождения в режиме постоянных ускорений, температура измерений составляла 291 К. Использован источник резонансного γ -излучения ^{57}mCo (Rh). Изомерные сдвиги рассчитаны относительно α -Fe. Для проведения мессбауэровских исследований были выбраны образцы: (1) $\text{Mn}_{1,08}\text{Fe}_{0,02}\text{Sb}$; (2) $\text{Mn}_{0,98}\text{Fe}_{0,02}\text{Zn}_{0,1}\text{Sb}$; (3) $\text{Mn}_{1,03}\text{Fe}_{0,02}\text{Cu}_{0,05}\text{Sb}$. Во всех трех образцах общий избыток металла относительно металлоида составлял $x = 0,1$. В процессе синтеза образцов Mn частично замещался мессбауэровским изотопом ^{57}Fe (2 ат. %). Процедура приготовления образцов не отличалась от процедуры для образцов без содержания мессбауэровского изотопа. Рентгенографические исследования не показали существенной разницы по фазовому составу и параметрам решетки между образцами, содержащими мессбауэровский изотоп и ранее исследованными образцами без него.

Все спектры обработаны при помощи программы уточнения параметров Recoil program и при комнатной температуре представляют собой магнитно расщепленные линии (рис. 4), что соответствует результатам проведенных магнитных измерений. Уточненные параметры спектров приведены в табл. 4.

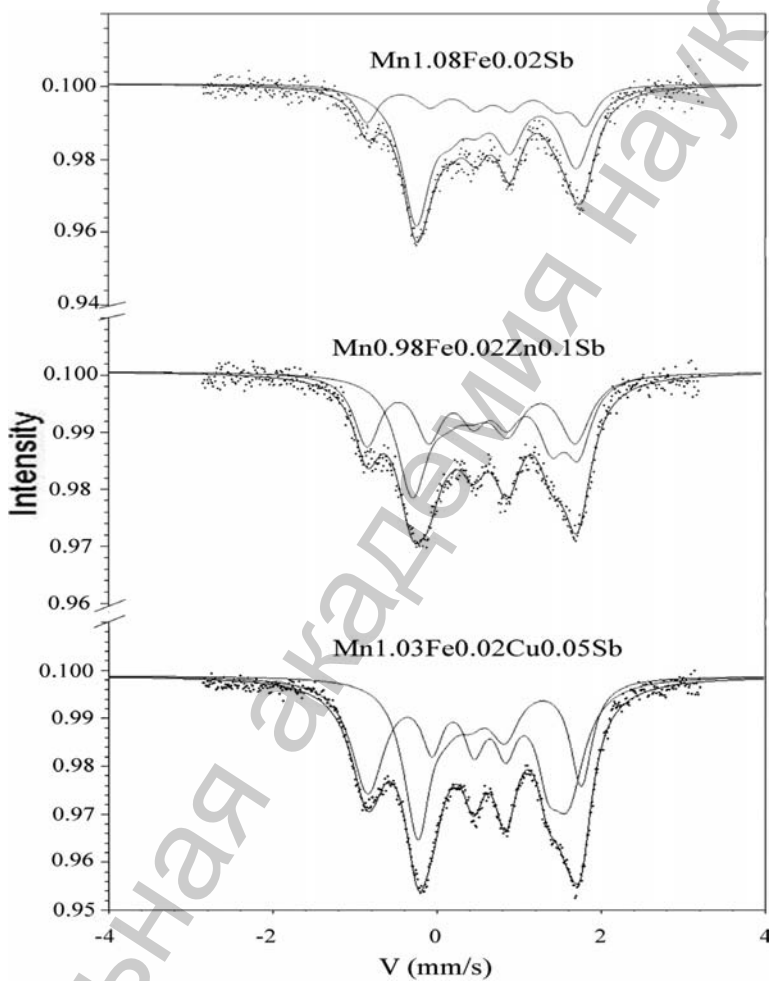


Рис. 4. ЯГР-спектры образцов $\text{Mn}_{1,1}\text{Me}_{0,1}\text{Sb}$ (Me — Zn, Cu)

Таблица 4. Параметры мессбауэровских спектров образцов

Образец	Подспектр N									
	1					2				
	IS, mm/s	QS, mm/s	H _{eff} , T	W, mm/s	A (%)	IS, mm/s	QS, mm/s	H _{eff} , T	W, mm/s	A (%)
Mn _{1,08} Fe _{0,02} Sb	0,50	0,19	6,1	0,21	74	0,55	-0,10	8,2	0,17	26
Mn _{0,98} Fe _{0,02} Zn _{0,1} Sb	0,49	0,20	6,1	0,22	49	0,53	-0,11	8,0	0,16	51
Mn _{1,03} Fe _{0,02} Cu _{0,05} Sb	0,44	0,33	6,3	0,33	22	0,51	-0,12	7,8	0,15	78

Примечание. IS — изомерный сдвиг подспектра относительно металлического железа при комнатной температуре; QS — квадрупольное расщепление; H_{eff} — значение сверхтонкого магнитного поля на ядре; W — ширина линии; A — площадь подспектра относительно общей площади спектра.

6. Анализ результатов

Анализ результатов синтеза и структурных исследований показал существование ограниченной растворимости немагнитных металлов — меди и цинка — в антимониде марганца со структурой типа B8, пределы составляют: по цинку Zn — 10 ат. %, по меди Cu — 10 ат. %. Возможно, такая низкая растворимость связана с неспособностью немагнитных металлов меди и цинка образовывать соединения с сурьмой со структурой типа NiAs [14].

Анализ кривых намагниченности твердых растворов MnMe_{0,1}Sb (где Me — Zn, Cu) и Mn_{1,1}Me_{0,1}Sb (Me — Zn, Cu) проводили в сопоставлении с кривыми исходных незамещенных антимонидов марганца с аналогичным отклонением состава от эквиатомного. Такой анализ показал, что при замещении магнитного марганца на немагнитные медь и цинк, во-первых, наблюдается незначительное снижение намагниченности, во-вторых, происходит повышение температуры перехода в парамагнитное состояние по сравнению с незамещенным антимонидом марганца с тем же x, т. е. с тем же превышением количества металла над металлоидом. Так, для незамещенного антимонида марганца Mn_{1,1}Sb температура Кюри T₁ ≈ 520 К, для Mn_{1,0}Zn_{0,1}Sb — T₂ ≈ 570 К и для Mn_{1,0}Cu_{0,1}Sb — T₃ ≈ 590 К (см. сравнительные данные в табл. 3).

Такие результаты по магнитным свойствам полученных растворов можно интерпретировать исходя из представлений Гуденафа [15] и особенностей кристаллической структуры никель-арсенидного типа (рис. 5). По Гуденафу, косвенный обмен должен приводить к магнитным взаимодействиям ферромагнитного типа. В никель-арсенидных фазах, в отсутствие Ян-Теллеровских искажений кристаллической структуры, 3d⁴ электронная конфигурация иона марганца Mn³⁺, находящегося в позициях MeI, приводит

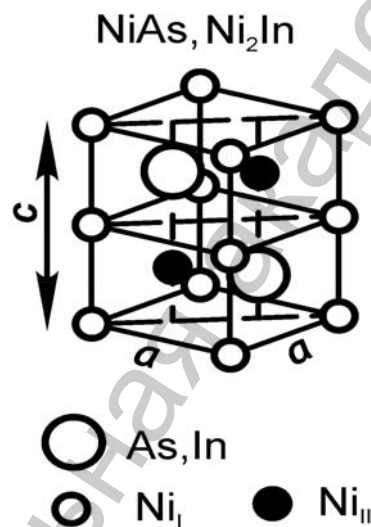


Рис. 5. Структура типа B8

к образованию связей с ионами сурьмы под углом 135° , через которые осуществляется косвенный обмен между соседними ионами марганца в октаэдрических позициях. Ионы марганца в позициях MeI через ионы сурьмы взаимодействуют с соседними ионами марганца в позициях MeI и это взаимодействие приводит к упорядочению ферромагнитного типа, т. е. в цепочках MeI–Sb–MeI осуществляется ферромагнитное взаимодействие. Прямое обменное взаимодействие металл–металл, по Гуденафу, должно приводить к магнитному упорядочению антиферромагнитного типа. В нашем случае каждый атом металла, расположенный в тригонально-бипирамидальном междуузлии MeII никельарсенидной структуры, непосредственно взаимодействует с шестью ближайшими атомами металла, расположенными в октаэдрических позициях MeI. Таким образом, прямое магнитное взаимодействие атомов марганца в позициях MeI–MeII — антиферромагнитное. Понятно, что увеличение заселенности междуузлий MeII избыточным по сравнению с эквивалентным составом марганцем ведет к росту антиферромагнитной составляющей магнитного взаимодействия в целом, что проявляется в снижении результирующей намагниченности. В нашем случае наблюдающееся некоторое повышение температуры Кюри было бы возможно, если предположить, что атомы Cu или Zn преимущественно замещают только атомы Mn, расположенные в междуузлиях никельарсенидной структуры MeII. В этом случае магнитное взаимодействие атомов марганца в позициях MnI и немагнитных атомов Cu или Zn в позициях MnII отсутствует, так как эти металлы не имеют магнитных моментов. В таком представлении в замещенных твердых растворах антиферромагнитная составляющая магнитного взаимодействия ниже, чем антиферромагнитная составляющая незамещенного антимонида марганца, где такая составляющая существенна.

Причиной отсутствия существенных различий в величине намагниченности, кроме исключения антиферромагнитной составляющей за счет замещения позиций MeII немагнитными Cu или Zn, является влияние еще одного фактора. В литературе есть информация, что для антимонидов марганца с кристаллической структурой типа B8 заполнение тригонально-бипирамидальных позиций изменяет магнитные моменты атомов в октаэдрических позициях, а именно уменьшает их вследствие изменения электронной конфигурации последних. Таким образом, здесь имеет место действие совокупности факторов.

Одной из наиболее вероятных причин наблюдаемых особенностей магнитных характеристик твердых растворов меди и цинка в антимониде марганца, в частности, изменения T_C , может быть следующее. Известно, что существует взаимосвязь между температурой магнитного разупорядочения T_C и отношением параметров кристаллической решетки c/a в магнитных сплавах никельарсенидного типа. Наличие такой корреляции отмечалось в работах [1; 16]. Изменение параметров решетки, ведущее к уменьшению соотношения c/a , вызывает ослабление межатомных обменных связей и, соответственно, снижение T_C , так как энергия обменного взаимодействия $E_{обм} \sim k \cdot T_C$. В нашем случае при замещении марганца в антимониде марганца медью или цинком соотношение c/a увеличивается (табл. 2), что, соответственно, должно

повышать значение T_C . Намагниченность насыщения имеет близкие значения для твердых растворов всех трех составов и составляет $\sigma \approx 100 \text{ Гс} \cdot \text{см}^3 \cdot \text{г}^{-1}$.

В пользу предпочтительного попадания атомов немагнитных компонент Zn и Cu в тригонально-бипирамидальные позиции структуры типа B8 свидетельствуют также полученные нами результаты мессбауэровских измерений.

Ранее [17] методом эффекта Мессбауэра на изотопе ^{57}Fe был исследован незамещенный антимонид марганца MnSb со структурой типа B8. Измеренные авторами мессбауэровские спектры для образцов с различным содержанием марганца в пределах фазы были обчислены в модели одного секстета. Однако авторы [17] признали, что в результате такого описания в спектрах некоторых образцов осталась неопределенность, которая не описывалась параметрами одного секстета и в то же время не относилась к какой-либо идентифицированной второй фазе. В нашей работе при обработке спектров мы исходили из модели двух секстетов. Такая модель, на наш взгляд, более соответствует кристаллографическим особенностям структуры типа B8 (рис. 5) и данным нейтронографических исследований антимонида марганца состава $\text{Mn}_{1,15}\text{Sb}$, проведенных ранее [18]. В соответствии с [18], атомы металла в структурно неэквивалентных позициях являются также и магнитно неэквивалентными, обладая различными величинами магнитных моментов. В пользу нашей схемы обсчета спектров в модели двух секстетов служит и модель магнитного упорядочения, развитая в работе [2] на базе теории Гуденафа [15]. В соответствие с результатами [18], магнитный момент атома марганца Mn в октаэдрической позиции составляет $3,6 \mu_B$, тогда как магнитный момент атома Mn в тригонально-бипирамидальной позиции — $3,0 \mu_B$. По этой причине мы полагали, что подспектр с меньшей величиной эффективного сверхтонкого магнитного поля на ядре H_{eff} , составляющего около 6 Т в каждом спектре, относится к атомам, занимающим тригонально-бипирамидальные позиции MeII. Второй подспектр с большей величиной сверхтонкого магнитного поля $H_{\text{eff}} \sim 8 \text{ Т}$ соответствует атомам Fe, занимающим регулярные октаэдрические позиции MeI.

Мессбауэровские данные показывают, что введение меди или цинка в состав антимонида марганца существенно не влияет на величины эффективных магнитных полей на ядрах атомов. Поля на ^{57}Fe во всех твердых растворах имеют две различимые величины — порядка 8 и 6 Тл. Все величины изомерных сдвигов также существенно не различаются от раствора к раствору, а для двух подспектров в каждом спектре имеют значения порядка 0,4—0,45 мм/с и 0,5—0,55 мм/с. Небольшие изменения связаны с изменением состава раствора при введении немагнитных компонент. Квадрупольные расщепления отражают локальную симметрию ближайшего окружения и имеют величины порядка 0,2—0,3 мм/с и 0,1 мм/с. Это соответствует атомам, находящимся в тригонально-бипирамидальных и октаэдрических позициях соответственно. В целом существенных изменений в основных параметрах мессбауэровских спектров при замещении небольших количеств марганца на немагнитные медь и цинк не происходит.

Из сравнения мессбауэровских параметров спектров антимонида марганца и его твердых растворов с немагнитными компонентами очевидно, что наиболее ощутимые изменения претерпевают площади подспектров, составляющих спектр. Величины площадей подспектров A — интегральные вероятности

эффекта Мессбауэра — пропорциональны вероятности эффекта для атомов, располагающихся в соответствующих позициях, а также количеству атомов в этих позициях [19]:

$$A = \alpha f_a (\pi \tau/2) C_a \exp(-C_a/2)[I_0(C_a/2) + I_1(C_a/2)],$$

где τ — ширина уровня; A — часть гамма квантов, прошедших через поглотитель; f_a — вероятность резонансного поглощения; C_a — эффективная толщина поглотителя; I_0, I_1 — функции Бесселя.

Заметно меняющейся величиной при изменении состава твердого раствора является соотношение площадей подспектров, составляющих полный спектр каждого твердого раствора. Несмотря на то что избыток металла относительно сурьмы во всех твердых растворах одинаков, а именно $x = 0,1$, количество резонансных ядер на образец тоже постоянно (изотопом ^{57}Fe замещали по 2 ат. % марганца в каждом растворе), соотношение между площадью первого и второго подспектров в спектрах всех растворов различны.

Для незамещенного антимонида марганца состава $\text{Mn}_{1,08}\text{Fe}_{0,02}\text{Sb}$ соотношение площадей составляет $A_{\text{FeII}}/A_{\text{FeI}} = 0,74/0,26$, для твердого раствора антимонида марганца с цинком $A_{\text{FeII}}/A_{\text{FeI}} = 0,49/0,51$ и для твердого раствора с Cu соотношение площадей составляет $A_{\text{FeII}}/A_{\text{FeI}} = 0,22/0,78$. Это означает, что число атомов Fe, занимающих октаэдрические и тригонально-бипирамидальные позиции при одной и той же концентрации металла, меняется от раствора к раствору. Исходя из полученного нами соотношения площадей, можно заключить, что в антимониде марганца $\text{Mn}_{1,1}\text{Sb}$ в междуузлия MeII попадает большее число атомов Fe, чем в растворах антимонида с медью и цинком $\text{Mn}_{1,1}(\text{Cu}, \text{Zn})\text{Sb}$. Возможно, это вызвано тем, что растворенные атомы меди и цинка предпочтительно занимают тригонально-бипирамидальные позиции MeII структуры B8, а не статистически распределяются по всем возможным позициям MeI и MeII в растворе. Несмотря на то что такое предположение требует дополнительного исследования, на данный момент мы рассматриваем как вероятную версию о предпочтительном замещении атомами меди и цинка атомов марганца в тригонально-бипирамидальных позициях структуры типа B8. Замещающие марганец атомы Fe в $\text{Mn}_{1,08}\text{Fe}_{0,02}\text{Sb}$ в отсутствие других замещающих атомов также преимущественно попадают в позиции MeII. Это проявляется в соотношении площадей подспектров, соответствующих атомам Fe в позициях MeII к MeI. Оно отличается от концентрации избыточного металла x . Однако при одновременном с железом введении немагнитных атомов меди или цинка в антимонид марганца $\text{Mn}_{1,10}\text{Sb}$ происходит перераспределение атомов по позициям подрешеток. Немагнитные атомы Zn или Cu стремятся занять междуузлия, таким образом вытесняя атомы Fe в регулярные (октаэдрические) позиции MeI.

7. Выводы

Определена область существования твердых растворов антимонида марганца с цинком и медью со структурой типа B8. Для $\text{Mn}_{1,1-x}\text{Zn}_x\text{Sb}$ она составляет $0 \leq x \leq 0,1$ и для $\text{Mn}_{1,1-x}\text{Cu}_x\text{Sb}$ — $0 \leq x \leq 0,1$.

По данным рентгеноструктурных исследований в антимониде марганца при замещении марганца на цинк или медь в пределах фазы типа В8 наблюдается снижение параметра кристаллической решетки a и, соответственно, рост соотношения c/a .

По результатам магнитных измерений обнаружено, что замещение в $Mn_{1-x}Sb_x$ марганца на медь и цинк ведет к возрастанию температуры Кюри.

Мессбауэровские данные по антимониду марганца состава $Mn_{1-x}Sb_x$ подтверждают, что атомы металла, находящиеся в двух структурно неэквивалентных позициях (октаэдрических и тригонально-бипирамидальных), являются не только структурно неэквивалентными, но также и магнитно неэквивалентными.

По результатам магнитных и мессбауэровских исследований сделан вывод о преимущественной локализации атомов меди и цинка в тригонально-бипирамидальных междуузлиях структуры типа В8. Преимущественное заполнение междуузлий MeII немагнитными атомами Cu или Zn проявляется в возрастании температуры Кюри замещенных твердых растворов относительно T_C незамещенного антимонида марганца. В пользу этого предположения свидетельствуют также сравнительные данные по соотношениям площадей подспектров мессбауэровских спектров твердых растворов.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Ф07-088).

Литература

1. Teramoto I., Van Run A. J. G. // Phys. Chem. Solids. 1968. Vol. 99. P. 347–355.
2. Sawatzky E., Street B. // Intermag Conference. 1971. Paper 3.3.
3. Yamaguchi Y., Watanabe H., Suzuki T. // J. Phys. Soc. Japan. 1976. Vol. 41. P. 703–704.
4. Рыжковский В. М., Гончаров В. С. // Физика и техника высоких давлений. 2007. Т. 17, № 2. С. 53–58.
5. Magneto-optical recording materials for short — wavelength light: patent number: JP10228683 European Patent Office, G11B11/10 /Akinaga Hirodyuki; Miyanishi Shintaro; Applicant Agency Ind. Science & Techn. — № JP19970027520 19970212; publication date: 25.08.1998. [Electronic resource]. — Mode of access: <http://v3.espacenet.com/textdoc?DB=EPODOC&IDX=JP10228683&F=0>. — Date of access: 15.12.2008.
6. Sintered target for material for high-strength magneto-optical recording medium: patent number: JP9272969 European Patent Office, C23C14/34; C22C1/04; C22C12/00; C22C30/00; C23C14/14; H01F10/12; H01L21/285 /Harada Takeshi, Hijikata Kenichi; Applicant Mitsubishi Materials Corporation. — № JP19960083706 19960405; publication date: 21.10.1997. [Electronic resource]. — Mode of access: <http://v3.espacenet.com/textdoc?DB=EPODOC&IDX=JP9272969&F=0>. — Date of access: 15.12.2008.
7. Magneto-optical recording medium and its production: patent number: JP7272334 European Patent Office, G11B11/10; G11B11/10 / Noguchi Kiyoshi, Honda Yuji; TDK CORP. — № JP19940087858 19940331; publication date: 20.10.1995. [Electronic resource]. — Mode of access: <http://v3.espacenet.com/textdoc?DB=EPODOC&IDX=JP7272334&F=0>. — Date of access: 15.12.2008.
8. Negative electrodes for lithium cells and batteries: United States Patent: 6,855,460 H01M 4/58 (20060101); H01M 4/38 (20060101); H01M 004/38 (); H01M 004/49 /Vaughney; John T. (Elmhurst, IL), Fransson; Linda M. L. (Uppsala, SE), Thackeray; Michael M. (Naperville, IL); Applicant The University of Chicago (Chicago, IL). — № 429/218.1,232,231.1,231.95,220; publication date: 15.02.2005. [Electronic resource]. — Mode of access: <http://patft.uspto.gov/netacgi/nphParser?Sect1=PTO1&Sect2=HITOFF&d=PALL&p=1&u=%2Fnethtml%2FPTO%2Fsrchnum.htm&r=1&f=G&l=50&s1=6,855460.PN.&OS=PN/6,855,460&RS=PN/6,855,460>. — Date of access: 15.12.2008.
9. Ionica C. M., Lippens P. E., Fourcade J. O., Jumas J.-C. // J. of Power Sources. 2005. Vol. 146. P. 478–481.

10. Thackeray M. M., Vaughey J. T., Johnson C. S. et al. // J. of Power Sources. 2003. Vol. 113, N 1. P. 124–130.
11. Hansen M., Anderko K. // Constitution of binary alloys. McGraw-Hill Book Comp., Inc. 1958.
12. Ren S. K., Gao J., Lang X. L. et al. // J. Alloys and Compounds. 2004. Vol. 384. P. 22–24.
13. Rietveld H. M. // J. Appl. Crystallogr. 1969. Vol. 2. P. 65–71.
14. Сирота Н. Н. // Физ.-химич. природа фаз переменного состава. Минск, 1970. С. 68.
15. Goodenough J. B. // Magnetism and Chemical Bond. New York, 1963.
16. Гражданкина Н. П., Медведева И. В., Пашеев А. В., Берсенева Ю. С. // ЖЭТФ. 1981. Т. 81, № 3(9). С. 1064–1070.
17. Blaauw C., MacKay G. R., Leiper W. // J. Phys C: Solid State Phys. 1977. Vol. 10. P. 5071.
18. Bouwma J., van Bruggen C. F., Haas C., van Laar B. // J. de Physique. 1971. Vol. 32. P. 1–78.
19. Шпинель В. С. Резонанс гамма-лучей в кристаллах. М., 1969. — 407 с.

V. I. MITSYUK, V. M. RYZHKOVSKIY, T. M. TKACHENKA

**THE MANGANESE ANTIMONY WITH COPPER OR ZINC SOLID SOLUTIONS
WITH B8-TYPE AND THEIR PROPERTIES**

Summary

The solid solutions of B8-type (space group $P63/mmc$) between the manganese antimony and the nonmagnetic transition metals — zinc and copper — have been obtained in the work. X-ray diffraction has determined the B8-phase existence regions: for $Mn_{1-x}Zn_xSb$ it is $0 \leq x \leq 0.1$ and $0 \leq x \leq 0.1$ for $Mn_{1-x}Cu_xSb$. Temperature investigations of the magnetization have been performed and the Curie temperatures of solid solutions have been extracted. The character of the magnetic interactions has been specified. On the basis of magnetic and Mossbauer data the conclusion was made about the preferable occupation by Cu and Zn atoms of the trigonal-bipyramidal interstitials of B8 structure.

ИТОГИ КОНКУРСОВ

ПЕРЕЧЕНЬ НАУЧНЫХ ТРУДОВ, ИЗДАННЫХ ПРИ ФИНАНСОВОЙ ПОДДЕРЖКЕ БРФФИ В 2008 г.

1. **Бабосов Е. М.** Социально-стратификационные факторы обеспечения устойчивого социально-экономического развития Республики Беларусь. Минск: Право и экономика, 2008. — 157 с.
2. **Соколова Г. Н., Сечко Н. Н., Таранова Е. В., Кобяк О. В.** Социальные сети в системе трудовых отношений / Под науч. ред. Г. Н. Соколовой. Минск: Право и экономика, 2008. — 135 с.
3. **Гулак А. А.** Пётр Аляксеевіч Бяссонаў: славяназнаўца і фалькларыст. Минск: Зорны верасень; Паркус плюс, 2008. — 104 с.
4. **Лин Д. Г., Предыбайло С. Д.** Сельское население Беларуси: демографический анализ. Гомель: Барк, 2008. — 274 с.
5. **Доўгаль А. В.** Сродкі выражэння эмоцый у сучаснай беларускай мове. Минск: Тэхналогія, 2008. — 176 с.
6. **Анищик В. М., Борисенко В. Е., Жданок С. А., Толочко Н. К., Федосюк В. М.** Наноматериалы и нанотехнологии / Под ред. В. Е. Борисенко, Н. К. Толочко. Минск: Изд. центр БГУ, 2008. — 375 с.
7. Академик М. А. Ельяшевич. Воспоминания учеников и современников, избранные статьи (к 100-летию со дня рождения) / Редкол.: С. Я. Килин (гл. ред.) и др. — Минск: Голиафы, 2008. — 206 с.
8. **Берестов Е. И., Смоляр А. П.** Сопротивление грунтов резанию. Могилев: Беларус.-Рос. ун-т, 2008. — 179 с.
9. **Русак В. П., Астапчук А. М., Еўсіевіч Н. П., Ліхадзіёўская Л. А., Русак В. У., Татур В. Л., Чарняўскі А. Р., Шэмет Т. Я.** Раслінны свет. Матэрыялы Агульнаславянскага лінгвістычнага атласа. Мінск: Права і эканоміка, 2008. — 174 с.
10. **Свиридович В. А.** Финансы и экономическое развитие Республики Беларусь. Минск: Право и экономика, 2008. — 216 с.
11. **Кочкин Ю. Н., Марукович Е. И., Станюленис Ю. Л.** Градиентные материалы в технике. Могилев: Беларус.-Рос. ун-т, 2008. — 163 с.
12. **Лексіка гаворак Беларускага Прыпяцкага Палесся: Атлас. Слоўнік / Уклад. Г. Ф. Вештарт, Ф. Д. Клімчук, У. А. Кошчанка, І. І. Лапуцкая, І. І. Лычыц-Федарэц. Мінск: Права і эканоміка, 2008. — 353 с.**
13. **Путь в науку: Очерки о докторах и кандидатах наук — уроженцах Гомельщины. Вып. V / Сост. С. В. Щербаков. Гомель: ИММС им. В. А. Белого НАН Беларуси, 2008. — 348 с.**

ПЕРЕЧЕНЬ РЕСПУБЛИКАНСКИХ И МЕЖДУНАРОДНЫХ НАУЧНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ, ПОДДЕРЖАННЫХ БРФФИ В 2008 г.

1. Международный симпозиум «Сварка и родственные технологии» (Минск, 26 марта), Государственное научно-производственное объединение порошковой металлургии НАН Беларуси.
2. Международная научная конференция «Перспективные материалы и технологии» (Витебск, 27–28 марта), Институт технической акустики НАН Беларуси.
3. VI Международная конференция «Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы» (Минск, 4–5 апреля), Белорусский государственный университет.
4. I Международная научная конференция «Наноструктурные материалы-2008: Беларусь–Россия–Украина (НАНО-2008)» (Минск, 22–28 апреля), Научно-практический центр НАН Беларуси по материаловедению.
5. V Международный симпозиум «Фуллерены и фуллеренподобные структуры в конденсированных средах» (Минск, 22–25 апреля), Институт тепло- и массообмена им. А. В. Лыкова НАН Беларуси.
6. II Республиканский семинар «Молекулярно-генетические методы в генетике человека» (Минск, 14–15 мая), Институт генетики и цитологии НАН Беларуси.
7. VI Минский международный форум по тепло- и массообмену (Минск, 19–23 мая), Институт тепло- и массообмена им. А. В. Лыкова НАН Беларуси.
8. XV Международный семинар «Нелинейные явления в сложных системах» (Минск, 20–23 мая), Объединенный институт энергетических и ядерных исследований — Сосны НАН Беларуси.
9. VIII Международная научная конференция «Сахаровские чтения 2008 года: экологические проблемы XXI века» (Минск, 22–23 мая), Международный государственный экологический университет им. А. Д. Сахарова.
10. VI Международная конференция «Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии» (Минск, 2–6 июня), Институт микробиологии НАН Беларуси.
11. Конференция молодых ученых и специалистов «Современные проблемы физики» (Минск, 10–12 июня), Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси.
12. Международная научно-практическая конференция «Энергосберегающие технологии и технические средства в сельскохозяйственном производстве» (Минск, 12–13 июня), Белорусский государственный аграрный технический университет.
13. VII Международная конференция «Лазерная физика и оптические технологии» (Минск, 17–19 июня), Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси.

14. Международная научная конференция «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» (Минск, 25–27 июня), Белорусский государственный университет.

15. Международная научно-практическая конференция «Проблемы современного картофелеводства» (п. Самохваловичи, Минская область, 15–17 июля), Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству.

16. Международная научная конференция «Стратегия развития аквакультуры в современных условиях» (Минск, 11–15 августа), Институт рыбного хозяйства НАН Беларуси.

17. VII Минский международный семинар «Тепловые трубы, тепловые насосы, холодильники, источники энергии» (Минск, 8–11 сентября), Институт тепло- и массообмена им. А. В. Лыкова НАН Беларуси.

18. IV Международная научная конференция «Природная среда Полесья: особенности и перспективы развития» (Брест, 10–12 сентября), Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси.

19. Международная научная конференция «Теория вероятностей, случайные процессы, математическая статистика и приложения» (Минск, 15–19 сентября), Белорусский государственный университет.

20. VII Симпозиум Беларуси и Сербии «Физика и диагностика лабораторной и астрофизической плазмы (ФДП-VII'2008)» (Минск, 22–26 сентября), Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси.

21. III Международная научная конференция «Материалы и структуры современной электроники» (Минск, 25–26 сентября), Белорусский государственный университет.

22. III Международная научная конференция «Химия, структура и функция биомолекул» (Минск, 1–3 октября), Институт биоорганической химии НАН Беларуси.

23. III Международный водный форум «Международное сотрудничество в решении водно-экологических проблем» (Минск, 2–3 октября), Центральный научно-исследовательский институт комплексного использования водных ресурсов.

24. Международная научная конференция «Взаимодействие литератур в мировом литературном процессе. Проблемы теоретической и исторической поэтики» (Гродно, 3–5 октября), Гродненский государственный университет им. Я. Купалы.

25. VII Международная научно-техническая конференция «Квантовая электроника» (Минск, 13–16 октября), Белорусский государственный университет.

26. IV Международная научная конференция, посвященная 100-летию со дня рождения проф. В. А. Дементьева, «Современные проблемы ландшафтоведения и геоэкологии» (Минск, 14–17 октября), Белорусский государственный университет.

27. V Международная научно-техническая конференция «Информационные технологии в промышленности (ITI'2008)» (Минск, 22–24 октября), Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси.

28. Симпозиум «Системная регуляция функций организма в норме и при патологии» (Минск, 23—24 октября), Институт физиологии НАН Беларуси.

29. II Конгресс физиков Беларуси (Минск, 2—3 ноября), Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси.

30. Международная научная конференция «X Белорусская математическая конференция» (Минск, 3—7 ноября), Институт математики НАН Беларуси.

31. II Международная научно-практическая конференция «Коммуникация в социально-гуманитарном знании, экономике, образовании» (Минск, 13—15 ноября), Белорусский государственный университет.

32. III Международная научно-техническая конференция «Современные методы проектирования машин. Расчет, конструирование, технологий» (Минск, 2—5 декабря), Белорусский национальный технический университет.

33. Международная научная конференция «Генетика и биотехнология XXI века. Фундаментальные и прикладные аспекты» (Минск, 3—6 декабря), Белорусский государственный университет.

34. Международная научная конференция «Славянские языки: аспекты исследования» (Минск, 5—6 декабря), Белорусский государственный университет.

35. Международная научно-практическая конференция «Беларусь: этапы становления государственности (к 90-летию со дня образования БССР)» (Минск, 18 декабря), Институт истории НАН Беларуси.

МЕЖДУНАРОДНЫЕ СВЯЗИ

ПРОТОКОЛ

6-го заседания совместной комиссии НЦНИ и НАН Беларуси*

Париж, 9—15 июня 2009 г.

I. Совместная комиссия Национального центра научных исследований (НЦНИ) и Национальной академии наук Беларуси (НАН Беларуси), состоящая из М. Ф. Бенольеля, д-ра М. Реновеля, д-ра Ф. Паттю, д-ра Ж.-Л. Теффо (французская сторона) и проф. С. Жданка, проф. В. Орловича, д-ра В. Подкопаева при участии Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (белорусская сторона), обсудила и подтверждает следующее:

1) 13 проектов 1-го франко-белорусского совместного конкурса были успешно выполнены в 2009 г.

2) 10 совместных проектов успешно реализуются в рамках 2-го совместного конкурса НЦНИ—НАН Беларуси (БРФФИ) на 2009—2010 гг.



*Неофициальный перевод с английского языка.

3) Финансирование научных визитов с обеих сторон эффективно предоставляется для реализации проектов.

4) НЦНИ может обеспечить 2 экспертизы в год научных проектов Национальной академии наук Беларуси.

5) Существует необходимость расширения сотрудничества и включения новых форм и механизмов осуществления совместной деятельности.

II. Стороны обсудили все вопросы повестки дня и договорились о следующем:

1) Совместный конкурс на организацию научных семинаров в 2009 г. дал отличные результаты: было подано по 4 проекта как во Франции, так и в Беларуси. Было отобрано 3 проекта. Соответствующий перечень семинаров прилагается к Протоколу.

2) Первые результаты совместного конкурса в 2009 г. для заявок PICS являются удовлетворительными: 4 проекта были поданы одновременно в НЦНИ и НАН Беларуси. Соответствующий перечень проектов прилагается к Протоколу. НЦНИ и НАН Беларуси обменяются результатами рассмотрения заявок в срок до октября 2009 г. и примут совместное решение о поддержке проектов в срок до декабря 2009 г.

3) Предоставить двустороннее финансирование совместной деятельности в рамках Международной научной сети «Лазеры, оптика и информационные технологии, нанотехнологии».

4) Организовать следующие совместные конкурсы:

— для исследовательских проектов НЦНИ–БРФФИ на 2011–2012 гг., который будет объявлен до 1 июня 2010 г., окончание срока подачи заявок — 30 сентября 2010 г.;

— на 2010–2012 гг., двусторонний научный семинар, который будет объявлен до 31 января 2010 г., окончание срока подачи заявок — 15 апреля 2010 г.;

— на 2011 г. для проектов PICS, который будет объявлен до февраля 2010 г., окончание срока подачи заявок — 31 мая 2010 г.;

5) Следуя рекомендациям предыдущих заседаний Совместной комиссии содействовать участию белорусских и французских ученых в 7-й Рамочной программе Европейского Союза (FP7), НЦНИ и НАН Беларуси сочли целесообразным подать совместную заявку в рамках нового конкурса ERA WIDE, запланированного к проведению летом 2009 г. НАН Беларуси выбрала Институт тепло- и массообмена в качестве потенциального координатора данной заявки.

6) Следующее заседание будет проведено в г. Минске в срок до июня 2010 г.

С французской стороны:

Ф. Беньель

С белорусской стороны:

*С. Жданок
В. Орлович*

ВЕСТНИК ФОНДА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ, № 3, 2009

на русском и белорусском языках

Редактор Т. П. Петрович

Компьютерная верстка Н. И. Кашуба, О. Л. Смольская

Подписано в печать 23.09.2009. Выход в свет 28.09.2009. Формат 70 × 100¹/₁₆. Бум. офсетная. Гарнитура Times ET.
Усл. печ. л. 6,83. Усл. кр.-отт. 7,48. Уч.-изд. л. 5,6. Тираж 160 экз. Заказ 429.

Цена номера: индивидуальная подписка — 17160 руб.; ведомственная подписка — 42720 руб.

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».
ЛИ № 02330/0131569 от 11.05.2005. Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, Минск.

Отпечатано в РУП «Издательский дом «Беларуская навука».