

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

Издается с III квартала 1997 г.



№ 1 [47], 2009

**ВЕСТНИК  
ФОНДА  
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ**

Учредитель —  
**Белорусский  
республиканский  
фонд  
фундаментальных  
исследований**

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

*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	

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

Минск, 2009

## СОДЕРЖАНИЕ

### 80 ЛЕТ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

Поздравление Президента Республики Беларусь с 80-летием со дня основания Национальной академии наук Беларуси.....	5
Тезисы выступления Премьер-министра Республики Беларусь С. С. Сидорского на торжественном собрании научной общественности, посвященном 80-летию со дня основания Национальной академии наук Беларуси (23 января 2009 г., г. Минск).....	6
Тезисы выступления Председателя Президиума НАН Беларуси М. В. Мясниковича на торжественном собрании научной общественности, посвященном 80-летию со дня основания НАН Беларуси (23 января 2009 г., г. Минск).....	14

### МЕЖДУНАРОДНЫЕ СВЯЗИ

<b>Орлович В. А., Прокошин В. И., Титова Е. Т.</b> Международное сотрудничество белорусских ученых в рамках конкурсов БРФФИ развивается.....	17
Протокол рабочей встречи представителей Российского фонда фундаментальных исследований, Российского гуманитарного научного фонда, Государственного фонда фундаментальных исследований Украины, Научно-технологического фонда Монголии и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований.....	27
Протокол встречи представителей Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Национального центра научных исследований Франции.....	29
Протокол официальной встречи руководителей Российского фонда фундаментальных исследований и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований.....	31
Протокол официальной встречи руководителей Российского гуманитарного научного фонда и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований.....	32
Протокол совещания о проведении совместного межрегионального конкурса в приграничных областях Российской Федерации и Республики Беларусь.....	33
Протокол официальной встречи руководителей Государственного фонда фундаментальных исследований Украины и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований.....	34
Протокол официальной встречи представителей Научно-технологического фонда Монголии и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований.....	35
Соглашение о сотрудничестве между Национальной академией наук Беларуси, Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований и Румынской академией.....	36
Дополнительный договор № 1 к Соглашению о сотрудничестве между Национальной академией наук Беларуси, Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований и Румынской академией.....	39
Протокол договоренности о планируемой тематике и сроках проведения совместного конкурса фундаментальных научных исследований «БРФФИ — АНМ-2009» на основании Соглашения между Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований и Академией наук Молдовы.....	43
Протокол по результатам переговоров Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Вьетнамской академии наук и технологий.....	44

### НАУЧНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ

<b>Бабицкая В. Г., Смирнов Д. А., Черноок Т. В., Иконникова Н. В., Пучкова Т. А., Щерба В. В.</b> Компонентный состав липидов мицелиальных грибов.....	45
<b>Тарун Е. И., Рубинов Д. Б., Рубинова И. Л.</b> Замещенные 3-ацил-2,4(1 <i>H</i> , 3 <i>H</i> )-пиридиндионы — ингибиторы уреазы.....	51
<b>Байков В. И., Бородуля В. А., Малевич В. Л., Синкевич А. Е.</b> Определение оптимальных параметров тепло- и массопереноса при глубоком охлаждении в теплообменнике из пучка оребренных труб продуктов сгорания топлива.....	60
<b>Вакула С. И., Корень Л. В., Шостак Л. М., Титок В. В.</b> Термогравиметрический анализ биологически активных компонентов семян льна культурного ( <i>Linum usitatissimum</i> L.).....	69
<b>Еремин А. Н., Потапович М. В., Осока О. М., Михайлова Р. В.</b> Пероксидазная активность культуральной жидкости гриба <i>Phellinus robustus</i> K в окислении пирогаллола и тетраметилбензидаина в водной и водно-органической среде.....	79
<b>Бабенко А. С., Субоч Е. И., Гилеп А. А., Усанов С. А.</b> Оценка относительного уровня экспрессии протоонкогена ERBB2 методом ПЦР в режиме реального времени.....	93

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

Issued since the 3<sup>rd</sup> quarter of 1997



**N 1 [47], 2009**

The founder —  
**The Belarusian  
Republican  
Foundation  
for Fundamental  
Research**

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

**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. Tsyркun
A. I. Lesnikovich	P. A. Vityaz
A. A. Makhnach	

**Minsk, 2009**

## CONTENTS

### THE 80th ANNIVERSARY OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

Congratulations by the President of the Republic of Belarus on the 80th anniversary of the National Academy of Sciences of Belarus foundation.....	5
Abstracts of the Prime Minister of the Republic of Belarus Sergei S. Sidorsky speech at the solemn meeting of scientific community dedicated to the 80th anniversary of the National Academy of Sciences of Belarus foundation (January 23, 2009, Minsk) .....	6
Abstracts of the Chairman of the Presidium of NAS of Belarus Mikhail V. Myasnikov speech at the solemn meeting of scientific community dedicated to the 80th anniversary of the National Academy of Sciences of Belarus foundation (January 23, 2009, Minsk) .....	14

### INTERNATIONAL RELATIONS

<b>Orlovich V. A., Prokoshin V. I., Titova E. T.</b> The international cooperation of Belarusian scientists within the framework of BRFFR competitions is developed.....	17
Protocol of working meeting of representatives of the Russian Foundation for Basic Research, the Russian Humanitarian Foundation, the Fundamental Researches State Fund of Ukraine, the Mongolian Foundation for Science and Technology and the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research.....	27
The Minutes of Meeting of the representatives of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research and the National Center for Scientific Research.....	29
Protocol of meeting of representatives of the Russian Foundation for Basic Research and the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research.....	31
Protocol of official meeting of representatives of the Russian Humanitarian Foundation and the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research.....	32
Protocol of the meeting for a joint inter-regional competition in the border areas of the Russian Federation and the Republic of Belarus.....	33
Protocol of official working meeting of representatives of the Fundamental Researches State Fund of Ukraine and the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research.....	34
Protocol of official meeting of representatives of the Mongolian Foundation for Science and Technology and the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research.....	35
The Agreement on Cooperation between the National Academy of Sciences of Belarus, Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research and the Romanian Academy .....	36
Supplementary Contract N 1 to the Agreement on Cooperation between the National Academy of Sciences of Belarus, Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research and the Romanian Academy .....	39
Protocol of understanding on the proposed thematics and dates of joint competition of fundamental scientific projects «BRFFR—ASM-2009» on the basis of the Agreement between the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research and the Academy of Sciences of Moldova .....	43
Protocol on the basis of negotiations between Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research and Vietnamese Academy of Science and Technology .....	44

### SCIENTIFIC PUBLICATIONS

<b>Babitskaya V. G., Smirnov D. A., Chernook T. V., Ikonnikova N. V., Puchkova T. A., Shcherba V. V.</b> Component composition of mycelial mushrooms lipids.....	45
<b>Tarun E. I., Rubinov D. B., Rubinova I. L.</b> Substituted 3-acil-2,4(1 <i>H</i> , 3 <i>H</i> )-pyridindiones as inhibitors of urease .....	51
<b>Baykov V. I., Borodulja V. A., Malevich V. L., Sinkevich A. E.</b> Analysis of optimum parameters heat and mass transfer in a finned tubes bundle heat exchanger at the expense of combustion flue gases deep cooling .....	60
<b>Vakula S. I., Koren L. V., Shostak L. M., Titok V. V.</b> Thermogravimetric analysis of flaxseed ( <i>Linum usitatissimum</i> L.) biologically active components.....	69
<b>Eryomin A. N., Potapovich M. V., Osoka O. M., Mikhailova R. V.</b> Peroxidase activity of cultural liquid of <i>Phellinus robustus</i> K fungus in oxidation of pyrogallol and tetramethylbenzidine in water and water-organic medium .....	79
<b>Babenko A. S., Suboch H. I., Gilep A. A., Usanov S. A.</b> The estimation of ERBB2 protooncogene relative expression level by real time PCR.....	93

## **80 ЛЕТ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ**

**Коллективу Национальной академии наук Беларуси**

Дорогие друзья!

От всей души поздравляю вас со знаменательным юбилеем — 80-летием со дня основания Национальной академии наук Беларуси.

Вместе со страной ваше старейшее научное учреждение прошло большой и славный путь. За годы своей истории академия превратилась в крупный интеллектуальный и гуманитарный центр, внесла огромный вклад в развитие отечественной экономики, науки и культуры. В ее стенах сформировалась плеяда выдающихся ученых, прославивших Беларусь.

Сегодня академия занимает лидирующие позиции на многих приоритетных направлениях исследований, расширяет связь науки с производством. Мы по праву гордимся достижениями белорусских ученых, ценим их профессионализм, творческую энергию и преданность своему призванию.

Пусть ваш замечательный коллектив и в дальнейшем работает с таким же вдохновением и самоотдачей, способствуя укреплению Беларуси в мировом сообществе и приумножению духовных богатств нашего народа.

Желаю вам крепкого здоровья, новых научных достижений и ярких открытий, счастья и успехов в труде на благо Отечества.

*Александр Лукашенко*

23.01.2009

## ТЕЗИСЫ ВЫСТУПЛЕНИЯ

**Премьер-министра Республики Беларусь С. С. Сидорского  
на торжественном собрании научной общественности,  
посвященном 80-летию со дня основания  
Национальной академии наук Беларуси  
(23 января 2009 г., г. Минск)\***

Уважаемые ученые, гости, дорогие друзья!

Позвольте мне от имени Правительства Республики Беларусь и от себя лично сердечно поздравить ученых Академии наук, отраслевой и вузовской науки и всех, кто работает в научной сфере, с Днем белорусской науки и знаменательным юбилеем — 80-летием со дня основания Национальной академии наук Беларуси!

Созданная на базе Института белорусской культуры Академия наук за 80 лет своей славной истории превратилась в крупнейший научно-образовательный и научно-производственный комплекс Беларуси, объединяющий свыше 120 организаций, в которых работает более 16 тыс. человек.

Сегодня на этом юбилее мы с благодарностью вспоминаем тех людей, которые стояли у истоков белорусской науки в начале двадцатого века. Это прежде всего Всеволод Макарович Игнатовский, Павел Осипович Горин и Иван Захарович Сурта — основатели и первые руководители Академии. В драматичные военные годы и сложнейший восстановительный период неопределимый вклад в сохранение и приумножение интеллектуального богатства нации внесли Константин Васильевич Горов, Антон Романович Жебрак, Николай Иванович Гращенко и многие другие.

Хочу лично поблагодарить за значительный вклад в становление белорусской науки присутствующих в нашем зале ученых и руководителей Академии наук, которые олицетворяют собой исторические этапы ее развития.

Это признанные во всем мире белорусские ученые: Николай Александрович Борисевич — участник Великой Отечественной войны, автор более 270 научных работ, Герой Социалистического Труда и почетный президент Национальной академии наук, известный зоолог Леонид Михайлович Сушня и многие другие ученые.

Спасибо Вам за ваш труд, доброго Вам здоровья и новых творческих свершений!

Последние пять лет экономика Беларуси демонстрирует небывалые темпы роста — 10—12 процентов в год. Конечно, в этом есть значительный вклад науки.

Всем понятно, что сегодня на мировых рынках могут конкурировать только новые, наукоемкие товары с высокой долей добавленной стоимости и низкой

\* Источник: Сайт Совета Министров Республики Беларусь  
([http://www.government.by/public/shared/rus/docs/report\\_sidorsky\\_20090123\\_nasb.pdf](http://www.government.by/public/shared/rus/docs/report_sidorsky_20090123_nasb.pdf))

энерго- и материалоемкостью. Техническое перевооружение и модернизация действующих производств — это важно, но не решает проблему построения инновационной экономики в принципе. Мы должны строить новые инновационные производства на базе новых научных достижений и разработок.

Выбор инновационного пути развития, переход к экономике знаний полностью подтверждается опытом технически развитых стран мира, где на долю наукоемкой продукции и оборудования, инновационных технологий приходится до 80 процентов и более прироста валового внутреннего продукта.

Значительный вклад в создание инновационной экономики в республике вносит Академия наук. В 2007 году академическими организациями были созданы 124 передовые производственные технологии — треть от общего числа созданных в стране. При этом одна из шести принципиально новых белорусских технологий 2007 года — академическая. В 2008 году учеными Академии наук или с их участием создано уже в 2 раза больше — более 260 передовых технологий, из них 20 принципиально новых.

В настоящее время практически все разработки по научно-техническим программам внедряются в производство. Срок окупаемости бюджетных затрат на выполнение научно-исследовательских, опытно-конструкторских и опытно-технологических работ за прошлую пятилетку составлял до полутора лет, а в 2007—2008 годах — менее года. В среднем на один рубль бюджетных средств, вложенных в научные разработки, производится до 18 рублей инновационной продукции.

Возьмем, например, химическую отрасль, которая обеспечивает около 15 процентов белорусского экспорта. В 2006—2008 годах по результатам выполнения программы «Химические продукты и технологии» создано 12 передовых технологий и более 80 объектов новой техники. В первую очередь это разработка и организация производства новых полимерных материалов, лекарственных препаратов, химических добавок и реагентов. Экономический эффект от внедрения химических реагентов только по ПО «Беларуськалий» составил в 2007 году около 12 млрд. рублей.

Предприятиями Минпрома на основе разработанной в Академии наук технологии организовано производство новых алмазных инструментов. Их применение позволяет в 2—4 раза уменьшить удельный расход импортируемых алмазов и на 15—20 процентов увеличить производительность обработки.

Новый технологический процесс формирования композиционных покрытий позволяет повысить износостойкость деталей до двух раз, снизить себестоимость изготовления более чем на 15 процентов. За последние два года по разработанной в Академии технологии на Минском заводе автоматических линий освоено продукции на сумму более 400 тысяч долларов при затратах на разработку из республиканского бюджета 16,4 тысячи долларов.

За 2006—2008 годы в соответствии с Государственной комплексной целевой научно-технической программой «Электроника и оптика» учеными разработано и создано более 120 объектов новой техники. Получено свыше 160 патентов, из них более 30 — в России. Стоимость продукции, выпускаемой по программе, — около 6 рублей на 1 рубль затрат на исследования.

В интересах развития сельскохозяйственного производства за последние два года получено более 200 новых сортов культур, новые формы комплексных

удобрений, отечественные препараты для защиты растений. Созданы новые гибриды кур и уток, импортозамещающий эффект при этом составил более 1 млн. долларов США в год.

Значительный вклад внесли ученые Академии наук в развитие атомной энергетики, создание транспортно-логистической системы. Эти и многие другие инициативы в полной мере соответствуют той роли, которая придается Главой государства Академии наук и белорусской науке в целом в деле становления экономики знаний.

В основе инновационных проектов — результаты фундаментальных научных исследований, которые должны быть вписаны в потребности экономического развития страны.

Для этого государством созданы необходимые механизмы, которые прописаны в Государственной программе инновационного развития Республики Беларусь и одиннадцати государственных комплексных целевых научно-технических программах. Работа ученых Академии наук по этим программам уже к 2010 году позволит создать в стране 84 новых производства, 389 инновационных технологий. Состав заданий по программам постоянно актуализируется исходя из требований динамично растущей экономики.

Ученые должны непрерывно отслеживать, насколько отдельные задания этих программ востребованы экономикой, исключать дублирование в исследованиях и бесперспективные направления.

Национальная академия наук Беларуси является сегодня высшей государственной научной организацией страны. Это не только высокая честь, но и большая ответственность перед республикой.

Декретами Президента Республики Беларусь Академия наук ориентирована на организацию, проведение и координацию всего комплекса фундаментальных и прикладных научных исследований и разработок в стране. Перспективы ее дальнейшего развития сформулированы в тезисе, прозвучавшем в выступлении Президента Республики Беларусь Александра Григорьевича Лукашенко на Первом съезде ученых Республики Беларусь: «Национальная академия должна стать главным арбитром, планирующим и контролирующим органом, отвечающим за всю науку страны». Эту свою задачу Академия выполняет в полной мере.

Сегодня Академией наук созданы условия для развития отечественных научных школ, подготовки научных работников высшей квалификации. Белорусская наука, благодаря сформировавшимся научным школам, имеет ряд достижений мирового уровня.

Так, в Институте физики имени Степанова успешно ведутся исследования по таким перспективным направлениям, как квантовая оптика и квантовые компьютеры, нелинейная спектроскопия, полупроводниковые лазеры и другим.

Развито новое научное направление — линейная и нелинейная оптика беселевых световых пучков, созданы новые типы приборов (профилеметры) для измерения профиля и контроля качества, например изделий машиностроения. Получен ряд принципиально новых результатов в международной научной лаборатории оптической диагностики, где исследуются процессы доставки лекарств в живую клетку.

Крупные научные школы работают в области материаловедения. В Физико-техническом институте под руководством академиков Станислава Александровича Астапчика и Анатолия Илларионовича Гордиенко выполнены основополагающие исследования в области тепловой теории литейных процессов, фазовых и структурных превращений, формирования физико-химических и специальных свойств сплавов при различных видах воздействия. Полученные результаты являются пионерскими и находятся на уровне мировых достижений в этой области.

Разработан уникальный композиционный материал, который в мировом моторостроении считается лучшим заменителем дорогостоящих антифрикционных бронз.

Широкую мировую известность получила научная школа по тепло- и массообмену, которая прежде всего ассоциируется с ведущим научным центром в этой области знаний — Институтом тепло- и массообмена имени Лыкова. Традиции школы плодотворно развивают академики Сергей Александрович Жданок, Олег Григорьевич Мартыненко и другие.

В последние годы была разработана технология получения новых нанокатализаторов с характеристиками на уровне мировых образцов, но намного дешевле аналогов.

О широком признании в мире говорят и более 60 договоров о международном научно-техническом сотрудничестве Академии наук с научными центрами из 40 государств.

Интересен тот факт, что на работы белорусских академических исследователей ученые других стран делают ссылки 3,8 тыс. раз ежегодно — это более 10 раз каждый день.

Результаты работы академических ученых получают заслуженное признание государства. За последние пять лет 65 работников Академии наук были награждены государственными наградами Республики Беларусь. Среди них Герои Беларуси — академики Михаил Степанович Высоцкий и Михаил Андреевич Савицкий.

Ученые Академии вносят большой вклад в расцвет белорусской культуры, решение вопросов гармоничного социального развития и рационального использования природных ресурсов и охраны окружающей среды.

Научные исследования, выполненные в Институте социологии НАН Беларуси на базе широких и многолетних социологических опросов граждан, убедительно показали, что произошедшие в последнее время в Беларуси социальные, экономические и социокультурные изменения вывели белорусское общество на стадию устойчивого развития и приобрели необратимый характер.

В Институте истории создана уникальная археологическая научно-музейная экспозиция, которая стала основой научно-информационного и образовательного центра для подготовки специалистов в сфере изучения и сохранения историко-культурного наследия Беларуси.

Вместе с новыми технологиями сегодня формируется новый облик нации — культурный, созидательный, творческий. В этом процессе неопределимая роль принадлежит ученым-гуманитариям, медикам.

Глубоко символично, что накануне юбилея высокую оценку получила многолетняя работа ученых Института искусствоведения, этнографии и фольклора имени Кондрата Крапивы, которые были удостоены премии «За духовное возрождение» за десяти томное издание труда «Беларусы».

Целенаправленная деятельность Правительства и руководства Академии наук позволила переломить тенденцию «утечки мозгов», сокращения в науке доли молодежи.

Сегодня молодежь идет в науку. В 2008 году численность академических исследователей в возрасте до 29 лет превысила 21 процент (2002 г. — около 15 %), больше стало молодых кандидатов (более чем в 1,5 раза в 2008 г. к 2002 г.) и докторов наук.

Огромную роль в данном вопросе сыграли современные инструменты стимулирования труда — стипендии Президента Республики Беларусь аспирантам и талантливой молодежи, специальные надбавки, устанавливаемые на конкурсной основе.

Считаю, что система глубоко дифференцированной оплаты труда в науке должна развиваться и дальше, затрагивать не только молодых, но и все слои ученых. Сегодня необходимо реально привязать заработную плату к объему и эффективности научной работы. Обращаю внимание всех министров, что многие механизмы, например возможность выплаты ученым вознаграждения из прибыли, созданы, но они работают на недостаточном уровне. Сегодня, если ученый вносит значительный вклад в производство, он должен получать соответствующий доход, даже если кому-то он покажется очень большим.

Уважаемые товарищи!

Влияние мирового финансово-экономического кризиса на экономику республики оказалось не столь пагубным, как для многих других стран, не только, как говорят, по причине «малой включенности» Беларуси в мировой финансовый рынок. Уже задолго до начала финансового кризиса у нас были приняты и начали реализовываться программы обновления и модернизации экономики, проведена реконструкция ряда предприятий.

Мы продолжаем политику увеличения объемов финансирования науки. Если в 2005 году прирост показателя внутренних затрат на научные исследования и разработки в сопоставимых ценах составлял 18,3 процента, в 2006 году — 7,1 процента, то в 2007 году — 59,2 процента. Республика Беларусь остается в числе лидеров среди государств СНГ по наукоемкости ВВП (в 2005 г. — 0,8; в 2006—2007 гг. — 0,7). Опережают республику по этому показателю только Россия и Украина (2007 г. — 1,3 и 0,9).

Прямое бюджетное финансирование Национальной академии наук в 2008 году (219,7 млрд. руб.) было на 54,9 процента больше, чем в 2007 году (141,8 млрд. руб.), и в 6 раз больше, чем в 2002 году. Такую же политику мы будем продолжать и в дальнейшем.

Инновационная деятельность требует создания соответствующей инновационной инфраструктуры. Сегодня в Беларуси функционируют более 80 различных организационных структур в сфере информационного, финансового, консультационного и иного обеспечения инновационной деятельности.

Нарращивает свою работу Парк высоких технологий, где созданы уникальные льготные условия, безналоговый режим работы.

В соответствии с решениями Президента Республики Беларусь в Парке высоких технологий могут проводиться не только разработка программного продукта, но и научные исследования. Считаю, ученые должны использовать эту возможность для развития таких прорывных направлений, как биотехнологии, нанотехнологии и другие. Но пока большой активности со стороны ученых не наблюдается.

Думаю, ученым надо ломать стереотипы, смелее включаться в новые формы научно-инновационной деятельности. Уже на стадии планирования направлений своих исследований надо помнить, что для воплощения идеи в жизнь нужно финансирование, то есть — заинтересованный заказчик. Для фундаментальных и стратегических научных проектов — это есть и будет государство. Но для финансирования прикладных исследований и разработок надо шире использовать новые, рыночные механизмы.

Государством созданы условия, позволяющие на деле установить непосредственную связь науки и производства, обеспечить их согласованные действия и на этой основе — взаимное развитие. Ведь, как сказал великий русский ученый Дмитрий Иванович Менделеев: «Если без науки не может быть современной промышленности, то без промышленности не может быть современной науки».

Взаимодействие науки и производства — это не «улица с односторонним движением», а единый процесс научно-технического развития, в котором ученый играет решающую роль, основываясь на достижениях в сфере материального производства. «Присутствие» ученого в производстве порой незаметно, но явно заметно его «отсутствие».

Мы намерены более активно поддерживать науку в регионах. Сегодня научные организации сосредоточены в основном в Минске — более 60 процентов от их общего количества, в то время как в областях — 4—8,5 процента.

Такая же картина и с объемами финансирования научных разработок: более его половины приходится на Минск (53,4% в 2007 г). Уровень инновационной активности предприятий в регионах в 2—3 раза ниже, чем в столице.

В ближайшей перспективе необходимо больше внимания уделять вопросу развития регионов, малых и средних городов и инновационной деятельности в них.

Дорогие друзья!

Сегодня перед нами стоит задача сделать качественный рывок в реализации принятых программ, формировании и выполнении новых, еще более амбициозных, которые обеспечат выход на новый этап научно-технического и экономического развития, формирование нового облика белорусской экономики и белорусского общества.

Например, один из самых масштабных проектов — это завершение в течение года работы по созданию полноценной системы дистанционного зондиро-

вания Земли. Развитие этого направления — это не просто лозунг, а Национальная программа исследования и использования космического пространства в мирных целях на 2008—2012 годы, принятая Правительством. В программе системно, на долгосрочной основе выстроена работа многих ведущих научных, производственных и других коллективов. Таким образом, Беларуси в 2009 году предстоит войти в клуб космических держав.

В связи с ростом мировых цен на ресурсы нами принята программа освоения минерально-сырьевых ресурсов страны, которые еще в недавнем прошлом считались малоэффективными. Мы должны сосредоточиться на ее выполнении, поскольку недра Беларуси становятся тем ресурсом, которым надо эффективно распорядиться. И мы это обеспечим. Таких масштабных программ у нас еще не было. Однако я в определенной мере обеспокоен традиционным пассивным подходом к ее реализации со стороны ряда министерств и науки.

Перед учеными стоит задача принять самое деятельное участие в развитии атомной энергетики.

В этом году начинаются практические работы по строительству белорусской атомной электростанции. Это масштабный проект, который обеспечит повышение энергоэффективности экономики, снижение энергозависимости государства и одновременно позволит реализовать в экономике ряд принципиально новых технологий как в строительстве, так и в водородной энергетике и других областях.

Следует отметить еще одну важную задачу — дальнейшее развитие отечественной микроэлектроники. В прошлом году мы завершили создание субмикронного производства. В ноябре 2008 года между НАН Беларуси и компанией «Филипс» заключен Меморандум о взаимопонимании, в рамках которого разработан бизнес-план поэтапного создания в Беларуси производства светодиодов и светотехнических устройств на их основе. Сейчас стоит задача быстро реализовать его на практике.

Коренная модернизация отечественной биотехнологической отрасли должна быть реализована согласно Национальной программе «Инновационные биотехнологии».

Новые биоэнергетические технологии и производства к 2010 году должны заместить более 8 процентов дизельного и не менее 12 процентов бензинового топлива и сэкономить до 6 процентов общего объема энергопотребления страны.

Новое качество роста агропромышленного комплекса должно быть обеспечено в результате развития селекции и семеноводства, создания новых средств защиты растений, что предусмотрено в новых государственных программах.

Процесс выполнения всех этих программ находится под пристальным вниманием Правительства.

В 2009 году на финишную прямую выходит реализация Государственной программы инновационного развития 2007—2010 годов. Считаю, что уже сегодня надо думать о дальнейших шагах по модернизации экономики, формировании новой аналогичной программы.

Биотехнологии, микроэлектроника, информатизация, космос, атом, недра — это далеко не полный перечень принципиально новых направлений белорусской экономики и науки.

Здесь найдут применение своему творческому потенциалу и математики, и физики, и механики, и химики, и биологи, и многие другие ученые, способные мыслить нестандартно, оперативно внедрять свои разработки, формируя тем самым новый облик белорусской экономики.

Также хочу обратиться к присутствующим в зале руководителям организаций и ведомств реального сектора экономики. Министерства и предприятия должны более самостоятельно, не дожидаясь решений сверху, ставить задачи перед наукой по разработке инновационной продукции и технологий. Оказывать всяческую поддержку науке, финансировать ее и требовать результат — значит оказывать поддержку себе и всей экономике страны.

Главой государства поставлена задача либерализации экономики. Мы ждем предложений от Академии наук, всех ученых страны по вопросам совершенствования макроэкономической политики, определению новых векторов и принципов развития экономики, деbüroкратизации и повышения эффективности работы органов государственного управления.

Уважаемые коллеги!

Ученые Национальной академии наук Беларуси, ее руководство постоянно работают над повышением эффективности научно-инновационной деятельности.

В целом, считаю, что к своему юбилею Национальная академия наук Беларуси подошла мощной, структурно обновленной научной организацией, которая в полной мере готова стать органичной частью новой экономики Республики Беларусь. Залог этому — ее коллектив, элита белорусской науки и общества.

Еще раз поздравляю с праздником, дорогие друзья! Желаю крепкого здоровья, благополучия и творческого вдохновения в выполнении намеченных планов и новых больших дел на благо родной Беларуси!

## ТЕЗИСЫ

**выступления Председателя Президиума НАН Беларуси  
М. В. Мясниковича на торжественном собрании научной общественности,  
посвященном 80-летию со дня основания НАН Беларуси  
(23 января 2009 г., г. Минск)**

Уважаемый Премьер-министр, Глава Администрации  
Президента Республики Беларусь, Высшие должностные лица страны,  
члены Правительства, Высокие зарубежные гости!  
Дамы и господа! Дорогие друзья и коллеги!

От имени всех работников Национальной академии наук Беларуси я благодарю Президента и Правительство Республики Беларусь за созданные условия для эффективной научной деятельности, за внимание к проблемам Академии наук, за ту помощь, которая оказывалась ученым и организациям Академии, всей белорусской науке в непростых условиях становления молодой белорусской государственности.

Друзья!

Многие из нас находятся под глубоким впечатлением от встречи с Президентом Республики Беларусь Александром Григорьевичем Лукашенко, которая состоялась сегодня. Мы с пониманием и ответственно восприняли задачи, которые поставил перед наукой в своем выступлении Премьер-министр Республики Беларусь Сергей Сергеевич Сидорский. Хочу заверить руководство страны в том, что белорусские ученые, Академия наук сделают все возможное для реализации намеченных амбициозных проектов. Для этого у нас в Академии наук есть реальные интеллектуальные силы — замечательные ученые: академики Астапчик, Витязь, Волотовский, Высоцкий, Гусаков, Демидчик, Казак, Орлович, Решетников, Жданок, члены-корреспонденты Абламейко, Залуцкий, Крутько, Марукович, Мрочек, доктора наук Кадыров, Федосюк и многие другие.

Моя уверенность основана не только на кадровом потенциале. Уже получены неплохие научные результаты, развивается научная база, есть хорошая и устойчивая динамика. В экономике страны сегодня используются около 18 тысяч передовых производственных технологий, из которых 70 процентов внедрены в последнем десятилетии. Поэтому разговоры о том, что Беларусь «живет на советской базе», уже давно не соответствуют действительности. И в это обновление белорусские ученые, заводские конструкторы и технологи внесли огромный вклад. На принципиально новом уровне модернизировали подавляющее число производств, успешно объединив отечественные разработки с достижениями мировой науки. Спасибо директорам тракторного, автомобильных заво-

дов, руководителям химических и горных предприятий за взаимовыгодную деятельность. Пользуясь этой высокой трибуной, я просто обязан сказать слова благодарности министру промышленности Русецкому, председателю Госкомвоенпрома Азаматову, министру сельского хозяйства Шапиро, министру образования Радькову, председателю ГКНТ Матюшкову, министру здравоохранения Жарко, всем членам Правительства за эффективную совместную работу и внимание к науке и Академии наук в частности.

Мы очень благодарны нашим зарубежным друзьям. За долголетнее плодотворное сотрудничество. За ваше внимание к Национальной академии наук Беларуси. В зале присутствуют представители 21 страны. Мы горячо приветствуем вице-президента Российской академии наук Алферова, Президента НАН Украины Патона, президентов академий наук Азербайджана, Армении, Молдовы, Румынии, Черногории, Чехии, высоких представителей научной сферы Франции, США, Германии, Китая, Польши, стран Балтии, других государств и международных организаций. *I wish you to enjoy your staying in Belarugus. Давайте поблагодарим высоких гостей!*

У нас есть потенциал для международного научного сотрудничества и инновационного развития нашей страны. Согласно отчету Всемирной организации интеллектуальной собственности, по числу поданных патентных заявок в расчете на 1 млрд. долларов валового внутреннего продукта Беларусь занимает 4-е место в мире. Наши ученые способствуют созданию в стране новых отраслей: атомной и водородной энергетики, наноматериалов, космических технологий и субмикронных производств. Крупные системные проекты академических институтов по информатизации, машиностроению, материаловедению реально меняют качество и производительность труда в промышленности, социальной сфере. У нас ведутся не только научные исследования. Налажено производство наукоемкого продукта для АПК, промышленности, медицины, благодаря чему Академия наук стала научно-производственной корпорацией, элементом национальной инновационной системы. Этого требуют задачи модернизации экономики, программа инновационного развития Беларуси, которая была разработана под руководством Премьер-министра и утверждена Президентом страны.

Сегодня практически ни одно важное решение в республике не принимается без учета мнения науки. Это очень важно и ответственно. Академия наук ориентирует свою деятельность на решение задач, поставленных Первым съездом ученых Республики Беларусь, программами и планами социально-экономического развития страны.

За 80 лет мы сделали многое, но сегодня отчетливо видишь, что прошлого багажа недостаточно. Результаты пока не всегда адекватны ожиданиям. Может ли наука делать больше, качественнее, более эффективно? Да, это нам по силам!

В наших планах создание и научное обеспечение производств по генно-инженерному конструированию биологических препаратов; создание солнечных элементов и фотоэлектрических систем, светоизлучающих диодов; микроэлектроники, аминокислот, новых машин и оборудования, прорывных технологий в агропромышленном комплексе; развитие белорусского языка, литературы и культуры.

Мы отдаем себе отчет в том, что цели, которые поставили перед собой, являются чрезвычайно сложными в научном и практическом плане. Главная задача — не только реализовать научные проекты, но и сделать инновационный путь развития белорусского государства необратимым.

Коллеги!

Самое главное богатство нашей страны, основной потенциал формирующейся «экономики знаний» — это люди, их интеллектуальный багаж, высокая квалификация и умение трудиться. В этот славный юбилей хочу высказать особую благодарность членам Белорусской академии Агабекову, Бабосову, Богдевичу, Гордиенко, Конопле, Логинову, Олехновичу, Парфенову, Роману, Афанасьеву, Гапоненко, Ивашкевичу, Мышкину, Плескачевскому, Усанову, докторам наук Бильдюкевичу, Ильющенко, Ковалене, всем ученым и сотрудникам Национальной академии наук Беларуси и поздравить 17-тысячный коллектив с юбилеем, пожелать крепкого здоровья, благополучия, новых творческих успехов на благо белорусской науки и белорусского народа, сильной и процветающей Беларуси!

Спасибо!

## **МЕЖДУНАРОДНЫЕ СВЯЗИ**

*В. А. ОРЛОВИЧ, В. И. ПРОКОШИН, Е. Т. ТИТОВА*

### **МЕЖДУНАРОДНОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО БЕЛОРУССКИХ УЧЕНЫХ В РАМКАХ КОНКУРСОВ БРФФИ РАЗВИВАЕТСЯ**

В своей повседневной деятельности Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований (БРФФИ, Фонд) уделяет особое внимание международному сотрудничеству. Необходимость тесной кооперации белорусских ученых с зарубежными коллегами становится все более очевидной, она вытекает уже из самого интернационального характера науки. Такая кооперация дает возможность совместно использовать уникальное научное оборудование, приборы, современные информационные системы и вычислительные комплексы, которые есть в той или другой стране. В настоящее время исследования, особенно экспериментальные, являются весьма дорогостоящими. Кооперирование усилий двух и более стран позволяет удешевлять стоимость исследований либо привлекать дополнительные средства для решения важнейших научных проблем. Создается возможность объединения интеллектуального потенциала на наиболее передовых научных направлениях, а также на стыке разных научных дисциплин, что значительно увеличивает научную и практическую значимость получаемых результатов, одновременно способствуя повышению квалификации белорусских ученых. От этого уровень и отдача отечественной науки, а значит, и ее вклад в развитие белорусской экономики становятся более высокими и ощутимыми.

Роль и значение международной научной кооперации непрерывно возрастает в условиях усиления процессов глобализации. Такое взаимодействие способствует активной интеграции белорусских ученых в международное научное сообщество и, в частности, стимулирует их участие в Рамочных программах Евросоюза, расширяется обмен опытом и информацией о состоянии и тенденциях развития современной науки, что позволяет своевременно отказываться от неперспективных направлений исследований.

Международное сотрудничество Фонда реализуется по многим направлениям. На первых порах оно было сконцентрировано на сотрудничестве с учеными стран СНГ, прежде всего России. Как известно, в условиях социально-экономического реформирования на территории бывших советских республик была нарушена прежняя система традиционно тесных связей как научных учреждений, так и отдельных ученых Беларуси и России. В значительной степени затруднялось выполнение совместных взаимодополняющих исследований в рам-

ках единых научно-технических программ в связи с резким снижением финансирования, сокращением численности научных кадров, падением престижа научного труда и другими негативными явлениями.

Именно фонды фундаментальных исследований — БРФФИ, а также Российский фонд фундаментальных исследований (РФФИ) и Российский гуманитарный научный фонд (РГНФ) — начали активную поддержку научной инициативы и творческих усилий ученых, предоставляя условия для реализации научных идей и успешно применяя материальные стимулы, что сыграло заметную роль в налаживании и расширении двухстороннего сотрудничества ученых России и Беларуси. Для достижения этих целей были заключены Соглашения о сотрудничестве с РФФИ (декабрь, 1997) и РГНФ (ноябрь, 1998).

Совместные с РФФИ конкурсы проектов фундаментальных исследований проводятся, начиная с 1999 г., с периодичностью 1 раз в два года и с финансированием двухгодичного цикла работ. По первым четырем конкурсам общее число поданных заявок составило 757, из которых было отобрано для финансирования 344 проекта. В пятом конкурсе «БРФФИ—РФФИ-2008», в рамках которого идет выполнение проектов в настоящее время, было зарегистрировано рекордное количество заявок — 229, по результатам многоэтапной экспертизы был выделен 141 грант финансовой поддержки.

В 1999 г. был объявлен и первый совместный конкурс с РГНФ; уже закончены исследования по 9 таким конкурсам. На участие в них поступили 222 совместные заявки наиболее инициативных ученых обеих стран, было выделено 110 грантов. В настоящее время проходят экспертизу 45 заявок на конкурс «БРФФИ—РГНФ-2009». В последние годы наблюдается устойчивая тенденция роста как числа подаваемых заявок, так и числа выделяемых грантов. Это характеризует всевозрастающее стремление ученых-гуманитариев Беларуси и России к совместному решению большого круга актуальных научных проблем.

Следует отметить, что серьезное влияние на расширение сотрудничества БРФФИ с учеными и организациями СНГ оказало подписание Соглашения о сотрудничестве с Международной ассоциацией академий наук (март, 2000) и активное участие Фонда в деятельности МААН в качестве ассоциированного члена этой авторитетной организации.

В июле 2004 г. было заключено Соглашение о сотрудничестве с Государственным фондом фундаментальных исследований Украины. Начиная с 2005 г. в рамках содружества с ГФФИУ проведено 2 конкурса совместных проектов, на которые были поданы 263 заявки, осуществлено финансирование 91 проекта. В настоящее время проходят независимую экспертизу 122 проекта, представленных на конкурс «БРФФИ—ГФФИУ-2009».

В последние годы сделаны новые шаги по установлению долгосрочного сотрудничества с учеными из других стран СНГ. Так, в мае 2007 г. подписано Соглашение о сотрудничестве с Академией наук Молдовы (АНМ), в августе того же года — с Национальной академией наук Азербайджана (НАНА). На конкурс «БРФФИ—АНМ-2008» поступили 33 заявки, поддержку независимой экспертизы получили 16 проектов. В рамках сотрудничества с НАНА уже выполняется 4 проекта, проходят экспертизу 8 заявок. Прорабатываются вопросы подготовки соглашений со странами Прибалтийского региона и Казахстана.

Большую роль в углублении коллаборации белорусских ученых-ядерщиков с коллегами из многих стран сыграло заключенное в октябре 2005 г. Соглашение о сотрудничестве между БРФФИ и Объединенным институтом ядерных исследований (г. Дубна). В 2006 г. был объявлен первый конкурс совместных проектов с ОИЯИ, посвященный 50-летию ОИЯИ и 15-летию БРФФИ «БРФФИ—ОИЯИ-2006». На конкурс было подано 6 заявок, принято к финансированию 4 проекта. В дальнейшем проведены еще два конкурса с общим количеством отобранных проектов — 13. В настоящее время проходят экспертизу 11 заявок конкурса «БРФФИ—ОИЯИ-2009».

Одновременно Фонд уделяет возрастающее внимание развитию международных связей за пределами постсоветского пространства и плодотворно работает в рамках заключенных Соглашений с Национальным фондом естественных наук Китая (июль, 1993), Немецким научно-исследовательским обществом (март, 1996), Научным фондом Словении (январь, 1996), Национальным научным фондом Болгарии (август, 1995), Триестским университетом, Италия (январь, 1995), Научно-технологическим фондом Монголии, НТФМ (сентябрь, 2002), Национальным центром научных исследований Франции, НЦНИ (июнь, 2006), Веронским университетом, Италия (апрель, 2007), Вьетнамской академией наук и технологий, ВАНТ (октябрь, 2007).

БРФФИ успешно использует еще один динамичный канал международного взаимодействия: в рамках инициативного конкурса «Наука МС» исполнители многих проектов Фонда активно сотрудничают с зарубежными учеными из 30 стран мира (Польша, Германия, США, Финляндия, Канада, Швеция и др.). Однако практика убеждает, что активность и интерес белорусских ученых и их зарубежных коллег к совместным исследованиям усиливаются, когда выполнение совместных проектов осуществляется в рамках конкурсов, объявляемых совместно БРФФИ и соответствующим зарубежным фондом или иностранной научной организацией.

В рамках совместных конкурсов осуществляется сотрудничество белорусских ученых с их французскими, вьетнамскими и монгольскими коллегами. 21 ноября 2003 г. было подписано в Минске Соглашение о научном сотрудничестве между НАН Беларуси и Национальным центром научных исследований Франции (НЦНИ). А в январе 2005 г. были подведены итоги первого совместного конкурса белорусско-французских научных проектов в рамках этого Соглашения. На конкурс были представлены 23 заявки, для финансирования отобрано 11 совместных проектов. Все проекты были успешно завершены к концу 2006 г. В развитие сотрудничества Национального центра научных исследований и НАН Беларуси и реализуя Соглашение между БРФФИ и НЦНИ, Фонд провел в 2007 г. новый конкурс совместных проектов белорусских ученых и их коллег из лабораторий НЦНИ. Было подано 14 заявок, из них 13 получили гранты финансирования.

После ряда встреч представителей БРФФИ и Вьетнамской академии наук и технологий и согласования позиций был проведен в 2007—2008 гг. конкурсный отбор и начато финансирование 7 научных проектов. В рамках конкурса «БРФФИ—ВАНТ-2009» в настоящее время успешно прошли экспертизу 6 белорусско-вьетнамских проектов, а также объявлен конкурс «БРФФИ—ВАНТ-2010».

В 2007 г. на совместный конкурс с Научно-технологическим фондом Монголии были поданы 3 проекта, все они приняты к финансированию. В 2008 г. проведен конкурс «БРФФИ—НТФМ-2009», на который было представлено для прохождения экспертизы 10 белорусско-монгольских заявок, 9 из них отобраны для финансирования.

Одновременно Фонд активно занимается поиском новых подходов в организации и финансировании совместных исследований белорусских и зарубежных ученых, предпринимает меры по совершенствованию процедуры анализа, оценки и отбора проектов.

В первую очередь интенсифицируется сотрудничество с РФФИ, о чем свидетельствуют регулярные контакты представителей сторон в 2007 г.: визиты в Минск делегаций РФФИ (в январе и мае), а также визит делегации белорусской стороны в РФФИ (апрель). По результатам переговоров было подготовлено и подписано обновленное Соглашение о сотрудничестве, а также рассмотрена ближайшая перспектива сотрудничества и достигнута договоренность о проведении юбилейной конференции, посвященной итогам 10-летнего сотрудничества РФФИ и БРФФИ. Совместная тематическая российско-белорусская конференция «Лазерные технологии XXI века», проходившая 13—14 ноября 2007 г. в Москве, стала значимым событием в этом направлении. Следует отметить, что работа фондов осуществляется в тесной увязке с программами Российской академии наук и Национальной академии наук Беларуси, и это было отражено в совместном постановлении президиумов обеих академий № 97/18 от 27 апреля 2007 г. Так, в 2008 г. поддержаны еще 2 конкурсных проекта на проведение совместных научных конференций, состоявшихся в Минске. По просьбе БРФФИ российской стороной было выделено финансирование на командировочные расходы ряду российских ученых для участия в работе Международной конференции НАНО-2008 и VII Международной конференции «Лазерная физика и оптические технологии».

На рабочей встрече представителей РФФИ, РГНФ, ГФФИУ и БРФФИ во время Первого съезда ученых Республики Беларусь была достигнута договоренность об организации трехстороннего регионального конкурса по общим научным проблемам приграничных областей, связанным с последствиями Чернобыльской аварии. В 2008 г. конкурс был проведен. Поступило 12 заявок, которые в настоящее время проходят экспертизу. На этой же встрече особый акцент был сделан на перспективности проведения в будущем совместных конкурсов ориентированных научных исследований, предполагающих, что разработки фундаментального характера должны завершаться результатами, пригодными для прямого включения в инновационный процесс. Несомненно, это повысит эффективность влияния фундаментальной науки на инновационную деятельность в наших странах.

Анализ результатов исследований по закончившимся международным проектам показывает их высокую научную и практическую значимость. Такие проекты отличаются разнообразием и многоплановостью, дают больше научных знаний и нередко инициируют появление новых многообещающих научных направлений. При этом следует отметить, что процент практической реализации завершенных международных проектов устойчиво превышает средние значения по внутренним конкурсам Фонда и из года в год стабильно растет.

Сравнительно большее количество завершенных белорусско-российских проектов (в сравнении с данными по всем конкурсам) получает дальнейшее развитие в государственных программах фундаментальных исследований, государственных комплексных программах научных исследований, государственных программах прикладных исследований, в межгосударственных интеграционных программах, ИНТАС, союзных программах «СКИФ», «Космос-БР», «Космос-СГ».

Высокий научный уровень результатов, полученных в совместных исследованиях, можно проиллюстрировать на нескольких проектах различных научных направлений.

По проекту Ф07Ф-001 (рук. А. П. Чайковский, Институт физики НАН Беларуси совместно с Университетом Лилля, лаборатория НЦНИ) проводятся исследования по дистанционному зондированию атмосферы (мониторинга аэрозоля и облаков) в Антарктическом регионе на белорусской антарктической станции. Французские ученые обеспечили радиометрическую часть аппаратуры — поляризационный спектральный сканирующий солнечный радиометр, а белорусские ученые — методики измерений и соответствующее программное обеспечение. На повестке дня дальнейших исследований — создание общими усилиями многоволнового лазерного лидара, который будет работать в Антарктиде совместно с радиометрической аппаратурой.

Разработаны новые конструкции кардиоимплантатов, включая искусственный клапан сердца, на основе биосовместимых композитов на эластомерной матрице, направленно армированной волокнами, обеспечивающие улучшение гемодинамики и снижение вероятности тромбоза (проект T05MC-035, рук. С. В. Шилько, Институт механики металлополимерных систем НАН Беларуси совместно с Институтом механики полимеров Латвийского ГУ).

В результате исследований по проекту X05MC-058 (рук. Р. Г. Гарецкий, Институт геохимии и геофизики НАН Беларуси совместно с Институтом геологии и географии, Литва) установлен новый регион в республике, перспективный на различные виды полезных ископаемых: нефть, алмазы, цветные и черные металлы, редкие и, возможно, редкоземельные элементы.

Изучены особенности процессов ультра- и микрофльтрации ферментных белков, продуцируемых грибом *Penicillium digitatum*, с использованием керамических, металлокерамических и полимерных мембран для научного обоснования комплексной технологии производства пектолитического ферментного препарата высокой степени очистки. Разработана малоотходная, ресурсосберегающая технологическая схема его производства (проект B05BP-021, рук. А. Г. Лобанок, Институт микробиологии НАН Беларуси совместно со Всероссийским НИИ пищевой биотехнологии).

Изучены распространение и вредоносность парши обыкновенной клубней картофеля, создан сорт картофеля «Веснянка», устойчивый к возбудителям парши, со снижением поражения клубней картофеля на 80—100 % и повышением продуктивности на 15—25 % (проект B04P-089, рук. В. Г. Иванюк, НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству совместно с Институтом биохимии и физиологии микроорганизмов РАН).

Разработаны новые подходы к изучению термодинамических особенностей ДНК, химически модифицированных соединениями платины, которые могут

быть использованы для выявления неизвестных механизмов противоопухолевого действия и создания на их основе новых типов противоопухолевых препаратов. Они могут применяться для предварительного тестирования вновь синтезированных соединений платины на противоопухолевую активность и поиска новых методов тестирования при использовании известных препаратов (проект Х06Р-102, рук. Д. Ю. Ландо, Институт биоорганической химии НАН Беларуси совместно с Институтом цитологии РАН).

Разработан экономический механизм управления недвижимостью, включающий систему норм, правил, принципов, приемов, подходов и методов управления недвижимостью на макро- и микроуровнях, который позволяет активизировать процесс повышения эффективности использования ресурсно-имущественного потенциала государства, вовлечь недвижимость в гражданский оборот (проект Г05МС-057, рук. Н. Г. Синяк, Белорусский государственный технологический университет совместно с Ольштинским университетом, Польша).

В качестве примеров практической реализации проектов различных научных направлений с международным участием приведем следующие.

Результаты исследования по проекту Ф06Р-108 (рук. Л. И. Гурский, Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники совместно с Московским государственным университетом им. М. В. Ломоносова) использованы при выполнении хоздоговора 05-1022 (2007 г.) с УП «Завод Транзистор» НПО «Интеграл» на тему «Разработать составы сплавов и изготовить из них экспериментальные мишени для формирования резистивных пленок интегральных микросхем с многоуровневой разводкой». Разработаны и переданы заводу экспериментальные мишени из резистивного сплава Si-Cr-Co-редкоземельные металлы (лантан, стронций, европий и др.).

Создан принципиально новый индикатор активности акустической кавитации — кавитометр (проект Т06МС-003, рук. Н. В. Дежунов, Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники совместно с Триестским университетом, Италия). Основное преимущество перед известными зарубежными приборами — отсутствие ограничений по частоте поля и температуре рабочей жидкости, а также меньшая стоимость (в 2—3 раза). Разработан новый способ ультразвуковой обработки материалов и изделий, например очистки теплоагрегатов от отложений, и устройство для его реализации. Главное превосходство над известными аналогами — снижение энергозатрат на единицу обработанной продукции. Результаты исследования внедрены на РУП «Минский тракторный завод» и на других предприятиях.

Создан универсальный экспериментальный стенд для исследований разного рода каталитических систем, предназначенных для конверсии углеводородного сырья в области химических производств и в сфере водородной энергетики. Результаты исследования используются для разработки малогабаритного высокоэффективного генератора водорода по крупному международному контракту с Саудовской Аравией (проект Х06Р-189, рук. И. Ф. Буяков, Институт тепло- и массообмена НАН Беларуси совместно с Новосибирским государственным университетом).

Изучены морфология, закономерности пространственной локализации, химический состав самородно-медной и цеолитовой минерализации, намечены

перспективные площади на поиски соответствующих рудопоявлений в образованиях трапповой формации Беларуси. Оценена возможность проявления в связи с траппами Волыньско-Белорусской магматической провинции кимберлитового магматизма. Результаты исследования, касающиеся самородно-медной минерализации в породах трапповой формации, приняты к внедрению в Департаменте по геологии Минприроды и Геофизической экспедиции РУП «Белгеология» (проект Х06Р-136, рук. Н. В. Веретенников, Институт геохимии и геофизики НАН Беларуси совместно с Институтом геологии рудных месторождений, петрографии, минералогии и геохимии РАН).

Разработанная основа для оптимизации природопользования и управления численностью природных популяций на основе прогнозирования репродукции (проект Б06Р-043, рук. Р. В. Новицкий, НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам совместно с Московским государственным университетом им. М. В. Ломоносова) реализована в международных проектах по линии ПРООН: «Создание системы мониторинга животного мира заказника «Званец» в рамках комплексного мониторинга экосистем особо охраняемых природных территорий», 2006—2007 гг.; «Создание системы мониторинга животного мира заказника «Споровский» в рамках комплексного мониторинга экосистем особо охраняемых природных территорий», 2007—2008 гг.; «Подготовка научных обоснований восстановления нарушенных болот (Освейское, Гричино-Старобинское, Оболь-1, Булев Мох) и разработка предложений по оптимизации природоохранной деятельности», 2007 г. Результаты исследования используются также при выполнении ряда других работ.

Оценены состояние и перспективы развития инновационной политики Беларуси и России с учетом строительства Союзного государства и интеграции в мировое инновационное пространство (проект Г05Р-014, рук. В. Ф. Байнев, Белорусский государственный университет совместно с Институтом международных экономических и политических исследований РАН). Разработанные теоретико-методологические основы и меры по осуществлению инновационной политики Беларуси и России используются Постоянным Комитетом Союзного государства, Институтом экономики РАН, Академией управления при Президенте Республики Беларусь.

Всего в 2008 г. завершилась приемка 476 исследовательских проектов, финансирование которых началось в 2006 и 2007 гг. Практическую реализацию получили 270 проектов, или 56,7 %. На базе проведенных исследований по грантам Фонда заключено контрактов на выполнение работ и получено международных грантов на сумму около 5,34 млрд бел. рублей (в 2007 г. — 2,6 млрд бел. руб.)

Помимо практической реализации результаты 261 (58,5 %) завершенного проекта находят использование и дальнейшее развитие в государственных программах фундаментальных исследований, комплексных программах научных исследований, государственных программах прикладных исследований. По результатам исследований подано 57 заявок на изобретения.

В январе 2009 г. по приглашению Президиума НАН Беларуси и научного совета Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в Минск прибыл ряд делегаций академий наук и фондов для участия в праздновании 80-летнего юбилея нашей академии. Состоялись переговоры научного совета

Фонда с руководителями некоторых делегаций. Достиженные договоренности дают новый импульс развитию плодотворного и взаимовыгодного сотрудничества БРФФИ и этих организаций, выводят на новый уровень взаимодействие белорусских ученых с их российскими, украинскими, молдавскими, французскими, американскими, румынскими, чешскими, итальянскими и монгольскими коллегами.

Проведены переговоры с представителями Американского фонда гражданских исследований и разработок (АФГИР, руководитель делегации профессор А. Вествуд). Определены наиболее перспективные направления выполнения совместных белорусско-американских исследований. В ближайшее время предстоит решить некоторые организационные вопросы, а затем подписать Соглашение о сотрудничестве между БРФФИ и АФГИР.

По результатам встречи представителей БРФФИ и НЦНИ (Франция, руководитель делегации профессор Ф. Бенольель) был подписан протокол, в котором подведены итоги экспертизы совместных проектов по конкурсам 2008 г. и отобрано для финансирования 8 из них. Была достигнута договоренность об объявлении совместного конкурса проектов фундаментальных исследований «БРФФИ—НЦНИ(РІСS)-2010». Стороны также пришли к согласию о проведении совместного конкурса двухсторонних научных семинаров во Франции или Беларуси. Намечено изучить возможность подготовки совместных заявок в программы Евросоюза. Стороны констатировали необходимость учредить порядок финансирования действующей (в рамках соглашения по лазерной физике) и организуемых в будущем французско-белорусских ассоциированных лабораторий и исследовательских объединений.

В ходе встречи руководителей РФФИ (Россия, председатель совета академик В. Я. Панченко) и БРФФИ были рассмотрены результаты предварительной экспертизы 12 проектов по совместному трехстороннему межрегиональному конкурсу в приграничных Гомельской, Брянской и Черниговской областях по научным проблемам Чернобыльской катастрофы «БРФФИ—РФФИ—ГФФИУ-2009». Исследования в этом направлении взаимно обогатят и дополнят представления о последствиях аварии на ЧАЭС и мерах их преодоления. Стороны договорились проработать вопрос о проведении двухсторонних межрегиональных конкурсов в приграничных Витебской, Могилевской, Псковской и Смоленской областях.

По результатам встречи руководителей РГНФ (Россия, председатель Совета член-корреспондент Ю. Л. Воротников) и БРФФИ достигнута договоренность об объявлении совместного двухстороннего межрегионального конкурса в приграничных Витебской, Могилевской, Псковской и Смоленской областях по научным проблемам общественно-гуманитарного и экономического профиля.

На встрече руководителей ГФФИУ (Украина, директор Фонда профессор Б. Р. Кияк) и БРФФИ были рассмотрены результаты предварительной экспертизы уже упоминавшихся 12 проектов по совместному трехстороннему межрегиональному конкурсу в приграничных Гомельской, Брянской и Черниговской областях по научным проблемам чернобыльской катастрофы «БРФФИ—РФФИ—ГФФИУ-2009». Стороны обсудили также ход экспертизы 122 заявок по конкурсу «БРФФИ—ГФФИУ-2009».

Состоялась встреча представителей НТФМ (Монголия, руководитель делегации профессор К. Цоохуу) и БРФФИ, на которой обсуждены результаты рассмотрения заявок по конкурсу «БРФФИ—НТФМ-2009» и утверждено 9 проектов для финансирования. Общий научный интерес белорусских и монгольских ученых в области биологических наук лежит в изучении перспектив использования природных источников растительного сырья из Монголии для нужд пищевой и фармакологической промышленности обеих стран. В проектах по химии и наукам о Земле планируется получить новые знания о реакционной способности бурых углей в процессе газификации, о продуктах их термохимических превращений.

На совместной встрече руководителей БРФФИ, РФФИ, РГНФ, ГФФИУ и НТФМ был проведен детальный анализ реализации подписанных ранее соглашений о сотрудничестве, обсуждены мероприятия на 2009—2012 гг. с учетом замечаний и предложений ведомств, научно-исследовательских учреждений и вузов Беларуси, России, Украины и Монголии. Стороны признали необходимым провести подготовительную работу по организации двухсторонних и многосторонних региональных конкурсов приграничных областей по общим научным проблемам, в том числе и тематических конкурсов, а также трех- и четырехсторонних конкурсов РФФИ, РГНФ, НТФМ и БРФФИ. Было признано целесообразным проработать предложения по проведению совместных двухсторонних и многосторонних международных научных конференций. Стороны заявили о намерении посвятить объявляемые в 2009—2010 гг. совместные конкурсы 65-летию Победы в Великой отечественной войне.

Достигнута договоренность между руководством БРФФИ и президентом Академии наук Молдовы академиком Г. Г. Дукой о проведении в 2009—2010 гг. совместного конкурса научных проектов по таким направлениям, как использование человеческих, материальных и информационных ресурсов в целях устойчивого развития; биомедицина и здравоохранение; нанотехнологии, промышленная инженерия, новые вещества и материалы; повышение эффективности и обеспечение безопасности энергетического комплекса.

В процессе переговоров с организацией Центральной Европейской инициативы (ЦЕИ), которую представлял заместитель генерального секретаря М. Меленевский, и Международным центром теоретической физики (МЦТФ, профессор Д. Ниемела) достигнута договоренность о расширении деятельности Международного научного центра ЦЕИ, который создан в Минске в 2006 г. совместными усилиями НАН Беларуси, ЦЕИ и МЦТФ и в котором проводятся исследования с участием белорусских, итальянских, украинских и молдавских ученых. В том же центре началось обучение в аспирантуре молодых ученых из Молдовы и Украины.

Между НАН Беларуси, БРФФИ и Румынской академией (руководитель делегации академик И. Хайдук) заключено Соглашение о сотрудничестве, предусматривающее проведение совместных конкурсов научных проектов и организацию двухсторонних научных мероприятий с целью поддержки исследований в областях, представляющих взаимный интерес.

Весьма продуктивными оказались переговоры с директором Объединенного института ядерных исследований (г. Дубна) академиком А. Н. Сисакьяном.

Были рассмотрены результаты совместного конкурса «БРФФИ—ОИЯИ-2009», достигнута договоренность о проведении следующего (уже пятого) совместного конкурса в 2010 г.

Состоялись также переговоры с президентом Академии наук Чешской Республики академиком В. Пачесом, а также вице-президентом Турецкой академии наук академиком Т. Целиком. Были обсуждены возможности заключения БРФФИ соглашений о сотрудничестве с одним из фондов Чешской Республики и с Советом по научным исследованиям Турции.

Потенциал международной деятельности Фонда еще далеко не исчерпан. Анализ пройденного пути показывает, что существуют неиспользованные резервы и дополнительные возможности, что позволяет с уверенностью прогнозировать расширение зарубежных связей Фонда как по возрастанию их масштабов, так и по созданию новых направлений деятельности. Основные планы на будущее состоят в использовании международной кооперации для получения новых знаний в наиболее актуальных для инновационного развития нашей страны направлениях естественных и гуманитарных наук.

## ПРОТОКОЛ

**рабочей встречи представителей  
Российского фонда фундаментальных исследований,  
Российского гуманитарного научного фонда,  
Государственного фонда фундаментальных исследований Украины,  
Научно-технологического фонда Монголии  
и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований**

В период с 22 по 25 января 2009 года в г. Минске (Республика Беларусь) состоялась рабочая встреча и переговоры представителей Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ), Российского гуманитарного научного фонда (РГНФ), Государственного фонда фундаментальных исследований Украины (ГФФИУ), Научно-технологического фонда Монголии (НТФМ) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ). Состав участников переговоров приведен в Приложении.



В процессе переговоров Стороны рассмотрели и согласовали ход выполнения действующих соглашений о сотрудничестве Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований с указанными партнерами, а также предложения по расширению сотрудничества РФФИ, РГНФ, ГФФИУ, НТФМ и БРФФИ.

В ходе встречи были рассмотрены планируемые мероприятия по успешной реализации дальнейшего сотрудничества пяти фондов на 2009—2012 годы. При этом особое внимание уделено замечаниям и предложениям ведомств, НИИ и вузов России, Украины, Монголии и Беларуси.

Стороны признали необходимым:

— провести совместно подготовительную работу по организации двусторонних и многосторонних региональных конкурсов приграничных областей по общим научным проблемам, в том числе и тематических конкурсов, а также трех- и четырехсторонних конкурсов РФФИ, РГНФ, НТФМ и БРФФИ;

— проработать согласованные предложения по проведению совместных двусторонних и многосторонних международных научных конференций;

— считать почетным долгом посвятить объявляемые в 2009—2010 годах совместные конкурсы БРФФИ с фондами — участниками настоящей рабочей встречи 65-летию Победы в Великой отечественной войне.

Протокол подписан в г. Минске 23 января 2009 года в пяти экземплярах.

За Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований

В. А. Орлович

За Государственный фонд фундаментальных исследований Украины

Б. Р. Кияк

За Российский фонд фундаментальных исследований

В. Я. Панченко

За Научно-технологический фонд Монголии

К. Цоохуу

За Российский гуманитарный научный фонд

Ю. Л. Воротников

## ПРОТОКОЛ

### встречи представителей Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Национального центра научных исследований Франции\*

В период с 22 по 23 января 2009 года в г. Минске состоялась встреча и переговоры представителей Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ) и Национального центра научных исследований Франции (НЦНИ).

В процессе переговоров Стороны обсудили ход реализации сотрудничества в рамках Соглашения БРФФИ и НЦНИ (конкурсы 2008 года: «БРФФИ—НЦНИ(PICS)-2009», «БРФФИ—НЦНИ-2009», конкурс на организацию в 2008 году двусторонних научных семинаров, проводимых во Франции и Беларуси), а также перспективы дальнейшего развития двусторонних контактов. Стороны с удовлетворением отметили, что сотрудничество в рамках финансирующихся проектов осуществляется успешно в плане обмена опытом, информацией, научными визитами, а также анализа полученных результатов.

В ходе встречи были обсуждены предложения по совершенствованию форм сотрудничества с целью успешной реализации соглашения и углубления взаимовыгодных связей.

Стороны договорились:

— по результатам совместной экспертизы поданных заявок отобрать для финансирования 8 проектов (перечень в приложении); 2 проекта (№ 7, 9 перечня) могут быть включены дополнительно после рассмотрения в НЦНИ;

— организовать проведение совместного конкурса проектов фундаментальных исследований «БРФФИ—НЦНИ(PICS)-2010» (объявление конкурса — до 15 февраля 2009 года; окончательный срок подачи заявок — 31 мая 2009 года);

— организовать проведение совместного конкурса двусторонних научных семинаров, проводимых во Франции или Беларуси по тематике, представляющей взаимный интерес (объявление конкурса — до 15 февраля 2009 года; окончательный срок подачи заявок — 30 марта 2009 года);

— проработать возможность подготовки заявок к программам Евросоюза;

— обеспечить оплату пребывания в Беларуси французских ученых, сотрудничающих с неакадемическими коллективами по конкурсу «БРФФИ—НЦНИ-2009»;

— БРФФИ установит в течение 3 месяцев порядок финансирования действующих и организованных в будущем французско-белорусских ассоцииро-

\* Неофициальный перевод с английского языка.



ванных лабораторий и исследовательских объединений (в настоящее время есть соглашение по лазерной физике).

Протокол подписан в г. Минске 23 января 2009 года в двух экземплярах на английском языке.

**За Белорусский республиканский фонд  
фундаментальных исследований**

**В. А. Орлович**

**За Национальный центр научных  
исследований Франции**

**Ф. Бенольель**

## ПРОТОКОЛ

### **официальной встречи руководителей Российского фонда фундаментальных исследований и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований**

22 января 2009 года в г. Минске состоялась официальная встреча председателя Совета Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) В. Я. Панченко и председателя Научного совета Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ) В. А. Орловича.

В ходе встречи были рассмотрены предварительные материалы совместного трехстороннего межрегионального конкурса в приграничных Гомельской, Брянской и Черниговской областях по научным проблемам последствий чернобыльской катастрофы, заявки на который подавались одновременно в фонды трех стран: белорусскими учеными — в БРФФИ, российскими — в РФФИ, украинскими — в Государственный фонд фундаментальных исследований Украины (ГФФИУ). В настоящее время проходит экспертиза 12 трехсторонних заявок конкурса «БРФФИ—РФФИ—ГФФИУ-2009», итоги будут подведены по результатам независимой экспертизы в трех фондах.

Принято решение об объявлении до 1 мая 2009 года совместного конкурса «БРФФИ—РФФИ-2010», посвященного 65-летию Победы в Великой отечественной войне. Стороны согласовали необходимость проработки вопросов проведения двусторонних межрегиональных конкурсов в приграничных Витебской, Могилевской, Псковской и Смоленской областях.

В ходе встречи Стороны проинформировали друг друга о деятельности фондов и о планируемых конкурсах на ближайшие годы. Состоялся обмен мнениями о ходе реализации и перспективах выполнения Соглашения о сотрудничестве между Российским фондом фундаментальных исследований и Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований, а также о выполняемых совместных проектах ученых обеих стран, о путях дальнейшего углубления сотрудничества между РФФИ и БРФФИ.

Протокол подписан 22 января 2009 года в г. Минске в двух экземплярах.

За Российский фонд фундаментальных исследований

В. Я. Панченко

За Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований

В. А. Орлович

## ПРОТОКОЛ

### официальной встречи руководителей Российского гуманитарного научного фонда и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований

22 января 2009 года в г. Минске состоялась официальная встреча председателя Совета Российского гуманитарного научного фонда (РГНФ) Ю. Л. Воротникова и председателя Научного совета Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ) В. А. Орловича.

В ходе встречи были рассмотрены предварительные материалы совместного конкурса «БРФФИ—РГНФ-2009». В настоящее время проводится экспертиза 45 совместных заявок, поступивших в оба фонда по конкурсу «БРФФИ—РГНФ-2009». Достигнута договоренность о финансировании примерно 30—40 лучших проектов по согласованным результатам независимой экспертизы в обоих фондах.

Принято решение об объявлении до 1 мая 2009 года очередного совместного конкурса «БРФФИ—РГНФ-2010», а также совместного двустороннего межрегионального конкурса в приграничных Витебской, Могилевской, Псковской и Смоленской областях по научным проблемам общественно-гуманитарного и экономического профиля. Оба конкурса посвятить 65-летию Победы в Великой отечественной войне.

В ходе встречи Стороны проинформировали друг друга о деятельности фондов и о планируемых конкурсах на ближайшие годы. Состоялся обмен мнениями о ходе реализации и перспективах выполнения Соглашения о сотрудничестве между Российским гуманитарным научным фондом и Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований, а также о выполняемых совместных проектах ученых обеих стран, о путях дальнейшего углубления сотрудничества между РГНФ и БРФФИ.

Протокол подписан 22 января 2009 года в г. Минске в двух экземплярах.

За Белорусский республиканский фонд  
фундаментальных исследований

В. А. Орлович

За Российский гуманитарный  
научный фонд

Ю. Л. Воротников

## ПРОТОКОЛ

### совещания о проведении совместного межрегионального конкурса в приграничных областях Российской Федерации и Республики Беларусь

Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований (БРФФИ) в лице председателя Научного совета БРФФИ В. А. Орловича и Российский гуманитарный научный фонд (РГНФ) в лице председателя Совета РГНФ Ю. Л. Воротникова, исходя из результатов рабочей встречи и переговоров руководителей вышеназванных фондов фундаментальных исследований в городе Минске 22–23 января 2009 года, договорились о нижеследующем:

1. Объявить до 1 мая 2009 года совместный двусторонний межрегиональный конкурс в приграничных Витебской, Могилевской, Псковской и Смоленской областях на проведение фундаментальных исследований по приоритетным для Российской Федерации и Республики Беларусь научным проблемам общественно-гуманитарного и экономического профиля.

2. Установить следующие сроки проведения совместного конкурса:

- прием заявок на участие в конкурсе — по 30 октября 2009 г.;
- экспертиза и утверждение проектов — по 31 марта 2010 г.;
- начало финансирования и выполнения проектов — 2-й квартал 2010 г.;
- окончание выполнения проектов — 1-й квартал 2012 г.

3. Заявки на совместный конкурс должны подаваться в фонды своих стран в соответствии с установленными в них формами, при этом белорусскими учеными — в БРФФИ, российскими — в РГНФ.

4. Согласование и утверждение проектов исследований в рамках указанного конкурса осуществляется после приема совместных заявок и проведения независимых экспертиз каждой из Сторон.

5. В конкурсе обеспечивается приоритетное участие научных коллективов Витебской, Могилевской, Псковской и Смоленской областей.

Каждая Сторона оплачивает расходы своих исследователей в соответствии с утвержденными сметами и калькуляциями расходов.

Протокол подписан в г. Минске 23 января 2009 года в двух экземплярах на русском языке.

За Белорусский республиканский фонд  
фундаментальных исследований

В. А. Орлович

За Российский гуманитарный  
научный фонд

Ю. Л. Воротников

## ПРОТОКОЛ

### **официальной встречи руководителей Государственного фонда фундаментальных исследований Украины и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований**

22 января 2009 года в г. Минске состоялась официальная встреча директора Государственного фонда фундаментальных исследований Украины (ГФФИУ) Б. Р. Кияка и председателя Научного совета Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ) В. А. Орловича.

В ходе встречи были рассмотрены предварительные материалы проводимых совместного конкурса «БРФФИ—ГФФИУ-2009», а также совместного трехстороннего межрегионального конкурса в приграничных Гомельской, Брянской и Черниговской областях на проведение фундаментальных исследований по научным проблемам последствий чернобыльской катастрофы, заявки на который подавались одновременно в фонды трех стран: белорусскими учеными — в БРФФИ, российскими — в Российский фонд фундаментальных исследований (РФФИ), украинскими — в ГФФИУ.

В настоящее время проводится экспертиза 122 совместных заявок, поступивших в оба фонда по конкурсу «БРФФИ—ГФФИУ-2009». Достигнута договоренность о финансировании примерно 50—60 лучших проектов по согласованным результатам независимой экспертизы в обоих фондах. Одновременно проходит экспертиза 12 совместных трехсторонних заявок конкурса «БРФФИ—РФФИ—ГФФИУ-2009», итоги будут согласованы по результатам независимой экспертизы в трех фондах.

В ходе встречи Стороны проинформировали друг друга о деятельности фондов и о планируемых конкурсах на ближайшие годы. Состоялся обмен мнениями о ходе реализации и перспективах выполнения Соглашения о сотрудничестве между Государственным фондом фундаментальных исследований Украины и Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований, а также о выполнении совместных проектов ученых обеих стран, о путях дальнейшего углубления сотрудничества между ГФФИУ и БРФФИ.

Протокол подписан 22 января 2009 года в г. Минске в двух экземплярах.

За Государственный фонд фундаментальных  
исследований Украины

За Белорусский республиканский фонд  
фундаментальных исследований

Б. Р. Кияк

В. А. Орлович

## ПРОТОКОЛ

### официальной встречи представителей Научно-технологического фонда Монголии и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований

22 января 2009 года в г. Минске состоялась официальная встреча секретаря Национального совета по науке и технологиям Монголии К. Цоохуу, представляющего Научно-технологический фонд Монголии (НТФМ), и председателя Научного совета Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ) В. А. Орловича.

В ходе встречи были рассмотрены материалы проводимого в 2009—2011 годах совместного конкурса исследовательских проектов «БРФФИ—НТФМ-2009». По результатам независимой экспертизы в обоих фондах подведены итоги и утверждены 9 двусторонних проектов этого конкурса (прилагается).

Принято решение об объявлении до 1 мая 2009 года совместного конкурса «БРФФИ—НТФМ-2010», посвященного 65-летию Победы в Великой отечественной войне. Стороны согласовали необходимость проработки вопросов проведения совместных двусторонних международных научных конференций.

Во время встречи Стороны проинформировали друг друга о деятельности фондов и о планируемых конкурсах на ближайшие годы. Состоялся обмен мнениями о ходе реализации и перспективах выполнения Соглашения о сотрудничестве между Научно-технологическим фондом Монголии и Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований, а также о выполнении совместных проектов ученых обеих стран, о путях дальнейшего углубления сотрудничества между НТФМ и БРФФИ.

Протокол подписан 22 января 2009 года в г. Минске в двух экземплярах.

За Белорусский республиканский фонд  
фундаментальных исследований

В. А. Орлович

За Научно-технологический  
фонд Монголии

К. Цоохуу

## СОГЛАШЕНИЕ

### **о сотрудничестве между Национальной академией наук Беларуси, Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований и Румынской академией**

Национальная академия наук Беларуси, Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований, с одной стороны, и Румынская академия, с другой стороны, именуемые в дальнейшем — Стороны, руководствуясь взаимным желанием укреплять отношения и развивать традиционные дружественные связи между народами двух государств, исходя из интересов развития науки в Республике Беларусь и Румынии и учитывая взаимную заинтересованность Сторон в реализации совместных научных и научно-технических программ и проектов, заключили настоящее соглашение (далее — Соглашение) о нижеследующем:

#### **Статья 1**

Предметом настоящего Соглашения является содействие развитию сотрудничества между научными коллективами и исследователями Республики Беларусь и Румынии с целью поддержки совместных научных исследований в областях, представляющих интерес для обеих Сторон.

#### **Статья 2**

2.1. В рамках Соглашения Сторонами осуществляется сотрудничество в форме проведения совместных конкурсов:

- инициативных научно-исследовательских проектов, выполняемых совместно коллективами белорусских и румынских ученых;
- проектов по организации совместных белорусско-румынских и румынско-белорусских научных мероприятий (съездов, конференций, семинаров и т. д.), проводимых соответственно на территории Республики Беларусь и Румынии, с финансированием поддержанных проектов.

Научные направления, по которым проводятся конкурсы, положения о конкурсах, сроки и условия проведения, а также объемы и порядок финансирования определяются дополнительными договорами или протоколами к настоящему Соглашению.

2.2. По соглашению Сторон могут быть использованы и другие формы научного сотрудничества.

2.3. Каждая Сторона также имеет право оказывать поддержку научного сотрудничества между учеными Республики Беларусь и Румынии в одностороннем порядке.

### **Статья 3**

Стороны содействуют друг другу в обмене научными материалами и литературой, в том числе изданной при поддержке каждой из Сторон, при этом их взаимная передача будет производиться в соответствии с законодательством, существующим в каждой стране.

### **Статья 4**

Стороны содействуют друг другу в проведении экспертизы научных проектов и привлечении ведущих белорусских и румынских ученых в качестве экспертов.

### **Статья 5**

5.1. Информация и результаты научных исследований, полученные в ходе осуществления конкретной деятельности в соответствии с настоящим Соглашением, распространяются в мировом научном сообществе через обычные информационные каналы в соответствии с принятыми процедурами.

5.2. Защита прав интеллектуальной собственности реализуется положениями, которые определены в Приложении, являющемся неотъемлемой частью данного Соглашения.

### **Статья 6**

Стороны публикуют информацию, связанную с выполнением настоящего Соглашения, в своих периодических изданиях.

### **Статья 7**

7.1. Совместная деятельность по настоящему Соглашению осуществляется согласно соответствующим международным обязательствам и национальному законодательству каждой из Сторон.

7.2. Вопросы, связанные с реализацией Соглашения, решаются путем переписки или на встречах представителей Сторон.

### **Статья 8**

8.1. Условия настоящего Соглашения могут быть дополнены и изменены по взаимному согласию с обязательным составлением письменного документа.

8.2. Дополнения или изменения оформляются дополнительными соглашениями, которые вступают в силу со дня их подписания.

### **Статья 9**

9.1. Срок действия настоящего Соглашения составляет 5 (пять) лет и вступает в силу с момента его подписания.

Если за шесть месяцев до истечения срока действия настоящего Соглашения ни одна из Сторон не предложит в письменном виде прекратить его действие, то срок его действия автоматически продлевается на следующие пять лет.

9.2. Стороны оставляют за собой право на досрочное расторжение настоящего Соглашения. В этом случае каждая из Сторон обязана уведомить другую Сторону за шесть месяцев до даты расторжения. Взаимоотношения Сторон прекращаются путем составления отдельного соглашения или акта о расторжении.

9.3. Настоящее Соглашение составлено в 2 (двух) подлинных экземплярах на русском языке.

**За Национальную академию наук Беларуси**

**Председатель Президиума Национальной академии наук Беларуси**

**М. В. Мясникович**

*23 января 2009 года*

**За Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований**

**Председатель Научного совета Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований**

**В. А. Орлович**

**За Румынскую академию**

**Президент Румынской академии**

**И. Гайдук**

Национальная академия наук Беларуси

**Дополнительный договор № 1**  
**к Соглашению о сотрудничестве между**  
**Национальной академией наук Беларуси,**  
**Белорусским республиканским фондом**  
**фундаментальных исследований и Румынской академией**

**1. Общие положения**

Национальная академия наук Беларуси и Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований, с одной стороны, и Румынская академия, с другой стороны, именуемые в дальнейшем — Стороны, в соответствии с положением статьи 2 Соглашения о сотрудничестве от 23 января 2009 года настоящим Дополнительным договором определяют условия и сроки проведения Сторонами конкурсов проектов фундаментальных исследований, выполняемых совместно коллективами белорусских и румынских ученых (далее — конкурсы), а также порядок финансирования поддержанных проектов.

**2. Условия конкурсов**

2.1. Целью конкурсов является финансовая поддержка инициативных научно-исследовательских проектов, осуществляемых совместно белорусскими и румынскими учеными.

Стороны проводят конкурсы раз в два года, начиная с 2009 года. Конкурсы проводятся по следующим научным направлениям:

- математика, механика и информатика;
- физика и астрономия;
- химия;
- биологические и медицинские науки;
- науки о Земле;
- информационные технологии и вычислительные системы;
- фундаментальные основы инженерных наук;
- науки о человеке и обществе.

К участию в конкурсах не допускаются:

- проекты, представленные на конкурсы по истечении объявленного срока;
- проекты, уже финансируемые из государственного бюджета Республики Беларусь и Румынии;
- проекты, получившие ранее поддержку фондов и организаций Республики Беларусь и Румынии.

Стороны обеспечивают проведение конкурсов, независимой экспертизы заявок и финансирование поддержанных проектов каждая в своей стране.

Стороны принимают к рассмотрению заявки на выполнение проектов от творческих коллективов ученых.

2.2. Соруководители с белорусской и румынской сторон заблаговременно согласовывают тему исследования, распределение обязанностей по проекту и совместный план-график работ. Заявки, поданные по одному проекту, должны иметь одинаковые названия проекта и соруководителей с белорусской и румынской сторон.

Согласованные заявки подаются одновременно: белорусскими соруководителями проекта — в Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований, румынскими — в Румынскую академию. Формы заявок устанавливаются каждой Стороной самостоятельно.

Несо согласованные заявки или заявки, поданные только с одной стороны, не рассматриваются.

Правила участия в конкурсе ученых в качестве руководителей или исполнителей устанавливаются каждой Стороной самостоятельно.

2.3. Каждая Сторона проводит независимую экспертизу заявок согласно процедуре, принятой этой Стороной.

Итоговое решение принимается на основании совместного обсуждения результатов экспертизы. Количество научных проектов, поддерживаемых по результатам экспертизы, будет определяться исходя из возможностей бюджета каждой Стороны.

2.4. Продолжительность выполнения каждого проекта — два года. Правила и формы отчетности устанавливаются каждой Стороной независимо.

Руководители групп белорусских и румынских ученых представляют промежуточные (годовые) и итоговые отчеты в Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований и Румынскую академию соответственно.

### **3. Сроки проведения конкурсов**

3.1. Стороны принимают следующий график проведения конкурсов: проведение конкурсов:

объявление и начало приема заявок на новый конкурс — июль—август;  
окончание приема заявок — октябрь;

согласование Сторонами списков поданных заявок и проведение их независимой экспертизы — декабрь;

обсуждение Сторонами результатов экспертизы и принятие совместного решения — январь—февраль;

финансирование проектов и отчетность:

начало финансирования проектов — 1—2 кварталы;

представление руководителями проектов отчетов, проведение Сторонами экспертизы и утверждение отчетов — согласно правилам, принятым в Белорусском республиканском фонде фундаментальных исследований и Румынской академии.

3.2. Перед объявлением очередного конкурса Стороны согласовывают текст объявления и уточняют конкретные сроки проведения конкурса.

3.3. Сроки проведения конкурсов и начала финансирования проектов могут изменяться по взаимной договоренности Сторон.

#### 4. Финансирование поддержанных проектов

4.1. Финансирование поддержанных проектов осуществляется по принципу: каждая Сторона финансирует в установленном порядке только участников своей страны.

Финансовая поддержка проектов будет осуществляться на безвозмездной и безвозвратной основе, вне зависимости от возраста, ученой степени, ученого звания и должности ученых — участников проекта.

В смете расходов на выполнение проекта могут быть, помимо прочего, предусмотрены расходы на прием и международные командировки в Республику Беларусь и Румынию белорусских и румынских ученых, включая международные и местные переезды, суточные расходы на размещение и проживание в соответствии с установленными нормами.

Стороны обязуются ежегодно выделять в полном объеме средства на финансирование проектов, предусмотренные на текущий год.

4.2. Условием предоставления финансовой поддержки является обязательство ученых опубликовать результаты исследований в отечественных и международных изданиях с упоминанием о полученной поддержке от Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Румынской академии с указанием номера гранта.

4.3. Финансирование поддержанных проектов Сторонами будет осуществляться ежегодно, начиная с 2010 года.

Объем ежегодного финансирования отдельного проекта устанавливается каждой Стороной самостоятельно по результатам экспертизы соответственно заявок или промежуточных отчетов на базовой основе средней величины научных грантов, принятых каждой Стороной.



## 5. Заключительные положения

5.1. Вопросы, связанные с реализацией данного Дополнительного договора, решаются путем переписки или на встречах представителей Сторон.

Условия настоящего Дополнительного договора могут быть дополнены и изменены по взаимному согласию с обязательным составлением письменного документа.

Стороны оставляют за собой право на расторжение настоящего Дополнительного договора. При этом Стороны обязуются выполнить взятые до расторжения договора обязательства по финансированию проектов.

Дополнения, изменения или расторжение Дополнительного договора оформляются соответствующими протоколами, которые вступают в силу со дня их подписания.

Настоящий Дополнительный договор заключен 23 января 2009 года в двух экземплярах на русском языке.

За Национальную академию  
наук Беларуси

Председатель Президиума  
Национальной академии  
наук Беларуси

М. В. Мясникович

За Белорусский республикан-  
ский фонд фундаментальных  
исследований

Председатель Научного совета  
Белорусского республиканского  
фонда фундаментальных  
исследований

В. А. Орлович

За Румынскую академию

Президент Румынской  
академии

И. Гайдук

## ПРОТОКОЛ

### договоренности о планируемой тематике и сроках проведения совместного конкурса фундаментальных научных исследований «БРФФИ — АНМ-2009»

### на основании Соглашения между Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований и Академией наук Молдовы

Мы, нижеподписавшиеся, представители Сторон Соглашения между Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (далее — БРФФИ) и Академией наук Молдовы (далее — АНМ) в лице председателя Научного совета БРФФИ академика В. А. Орловича и Президента АНМ академика Г. Г. Дука, удостоверяем, что Сторонами достигнута договоренность о проведении в 2009—2010 годах совместного конкурса фундаментальных научных исследований «БРФФИ—АНМ-2009» при финансировании не более 10 белорусско-молдавских совместных проектов по следующей тематике:

- использование человеческих, материальных и информационных ресурсов в целях устойчивого развития;
- биомедицина, фармацевтика, поддержка и укрепление здоровья;
- сельскохозяйственные биотехнологии, плодородие почв и продовольственная безопасность;
- нанотехнологии, промышленная инженерия, новые вещества и материалы;
- повышение эффективности и обеспечение безопасности энергетического комплекса.

Установлены сроки проведения конкурса:

начало приема заявок — 20 марта 2009 года,

окончание приема заявок — 20 июня 2009 года,

экспертиза и утверждение проектов — до августа 2009 года,

начало финансирования — 1 января 2010 года,

окончание финансирования — 31 декабря 2010 года.

Протокол подписан 23.01.2009 года в двух экземплярах.

От Белорусского республиканского  
фонда фундаментальных исследований

Председатель Научного совета  
академик В. А. Орлович

От Академии  
наук Молдовы

Президент АНМ  
академик Г. Г. Дука



## ПРОТОКОЛ

### по результатам переговоров Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Вьетнамской академии наук и технологий

В период с 15 января по 23 февраля 2009 года состоялись переговоры представителей Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (БРФФИ) и Вьетнамской академии наук и технологий (ВАНТ).

В процессе переговоров Стороны рассмотрели и согласовали мнения о состоянии сотрудничества в рамках Соглашения БРФФИ и ВАНТ и Положения о конкурсах (конкурсы 2008 года), а также перспективы его дальнейшего развития (конкурсы «БРФФИ—ВАНТ-2009, 2010»). С удовлетворением было констатировано, что сотрудничество в рамках уже финансирующихся проектов осуществляется успешно, каждая из сторон полностью выполняет запланированные работы, интенсивно происходит обмен опытом и информацией по выполнению проектов, совместный анализ полученных результатов, обмен визитами с целью проведения экспериментальной работы.

В ходе переговоров были обсуждены предложения по плану мероприятий на 2010—2012 годы с целью успешной реализации Соглашения и углубления двусторонних контактов.

Стороны считают необходимым:

— по результатам совместной экспертизы поданных заявок отобрать для финансирования с 2009 года 6 проектов в рамках конкурса «БРФФИ—ВАНТ-2009» (перечень в приложении 1);

— в рамках конкурса «БРФФИ—ВАНТ-2010» в 2009 году организовать рассмотрение представленных заявок с последующим совместным решением о финансировании отобранных проектов начиная с 2010 года;

— разработать план мероприятий на 2010—2012 годы.

Протокол подписан 25 февраля 2009 года в двух экземплярах на русском языке.

За Белорусский республиканский фонд  
фундаментальных исследований

Председатель Научного совета академик

В. А. Орлович

За Вьетнамскую академию наук  
и технологий

Президент академик

Тьяу Ван Минь

## НАУЧНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ

УДК 579.22.582.28

В. Г. БАБИЦКАЯ, Д. А. СМИРНОВ, Т. В. ЧЕРНООК,  
Н. В. ИКОННИКОВА, Т. А. ПУЧКОВА, В. В. ЩЕРБА

### КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Институт микробиологии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 29.09.2008)

Исследован состав липидов грибов *Fomes fomentarius*, *Laetiporus sulphureus* и *Cordyceps militaris*. В липидах глубинного мицелия нейтральные липиды составляют 60,0–73,5 %, полярные — 26,5–40,0 %. Для нейтральных липидов характерна высокая степень ненасыщенности (сумма ненасыщенных жирных кислот 60,5–74,4), преобладание  $C_{18:2}$  и  $C_{16:0}$  кислот (39,0–48,0 и 16,5–34,5 % соответственно). В составе нейтральных липидов количественно преобладают триацилглицерины 30,5–50,0 %, в полярных — фосфатидилхолин (14,5–23,0 %), фосфатидилэтаноламин (17,3–27,1 %) и кардиолипин (13,0–16,0 %).

К настоящему времени накоплено значительное количество экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что липидам наряду с хорошо известной структурной и энергетической ролью свойственны биоэффекторные функции. К числу метаболически активных соединений липидной природы относятся и полиненасыщенные жирные кислоты, и фосфолипиды, и пигменты, а также их производные. В организме человека и животных они принимают участие во многих жизненно важных функциях и процессах, регулируя, в частности, активность фосфолипаз, ионных каналов, АТФаз, G-белков, модулируют также фосфолипидный и сфингомиелиновый циклы, передачу гормональной информации, транскрипцию белков [1; 2]. Вместе с тем в настоящее время имеются сведения об особенностях липогенеза и составе липидов лишь низших грибов, в то время как для высших, в частности базидиомицетов, аналогичные данные практически отсутствуют. Исследования ограничиваются единичными работами по изучению липидов плодовых тел [3–9].

Ранее нами был проведен скрининг грибов, синтезирующих значительное количество липидов. Отобраны грибы с высокой липидсинтезирующей активностью [10].

Цель настоящей работы — дать характеристику липидных соединений глущинного мицелия отобранных грибов, изучить качественный и количественный состав нейтральных и полярных липидов.

### Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали штаммы мицелиальных грибов — *Fomes fomentarius*, *Laetiporus sulphureus* 8 класса *Basidiomycetes* и *Cordyceps militaris* 3 класса *Ascomycetes*.

Грибы выращивали в колбах на качалке с 150—200 мл глюкозо-пептонной среды. Температура культивирования — 25—27 °С.

Липиды из влажного мицелия экстрагировали методом Фолча в модификации Блайя и Дайэра [11; 12]. Отделение полярных липидов от нейтральных осуществляли методом осаждения холодным ацетоном [12]. Разделение нейтральных липидов на отдельные составляющие компоненты проводили методом тонкослойной хроматографии, которую осуществляли на пластинах Silufol UV254 (Kavalier) в системе гексан : диэтиловый эфир : этанол = 70 : 30 : 1. Для обнаружения и идентификации индивидуальных липидов хроматограммы просматривали в УФ-свете (366 нм), а также проявляли в парах йода [12]. Разделение полярных липидов на отдельные составляющие проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинах Silicagel (Merck Kieselgel 60F 254) в системе хлороформ : метанол : вода = 65 : 25 : 4 [13]. Качественный и количественный состав жирных кислот изучали методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «Хром-5» с пламенно-ионизационным детектором, используя колонку из нержавеющей стали длиной 2,8 м, заполненную хроматоном N-AW-HMDS (0,16—0,20 мм) с 15 %-ным полиэтиленгликольсукцинатом в качестве жидкой фазы, температура колонки — 180 °С, испарителя — 210 °С [14]. В качестве носителя газа использовали гелий (30 мл/мин). Степень ненасыщенности липидов (СН) определяли по формуле [6].

### Результаты

Основными компонентами липидов грибов являются резервные (нейтральные) и структурные (фосфолипиды). С целью изучения компонентного состава липидов исследуемых грибов использовали различные методы. Наиболее приемлемым оказался метод осаждения холодным ацетоном, который применяется для разделения липидов как высших, так и низших грибов [3; 4].

Как показали исследования, осаждение холодным ацетоном позволило в достаточной мере отделить фосфолипиды от нейтральных — во фракции нейтральных липидов осталось не более 6,5 % фосфора (табл. 1).

У всех изучаемых грибов количественно преобладала фракция нейтральных липидов (60,0—73,5 %), служащих запасными питательными веществами, при этом количество нейтральных липидов было более высоким у дереворазрушающего гриба бурой гнили *L. sulphureus* 8. Наименьшее количество этих липидов отмечено у *F. fomentarius* — базидиомицета белой гнили.

Изучение жирнокислотного состава обеих фракций показало следующее: как в нейтральных, так и в полярных фракциях липидов преобладает диеновая

C<sub>18:2</sub> кислота. Однако фракция полярных липидов по содержанию C<sub>18:2</sub> кислоты значительно превосходит нейтральную. Превосходит фракция полярных липидов нейтральную и по содержанию суммы полиненасыщенных жирных кислот и степени ненасыщенности (табл. 2).

Т а б л и ц а 1. Фракционирование общих липидов

Показатель, %	Нейтральная фракция			Полярная фракция		
	1	2	3	1	2	3
Доля фракций	70,0	60,0	73,5	30,0	40,0	26,5
Распределение фосфора между фракциями	6,5	4,8	5,0	93,5	95,2	95,0
Содержание фосфолипидов во фракции	3,0	5,7	4,0	98,0	96,8	85,2

П р и м е ч а н и е. 1 — *C. militaris* 3; 2 — *F. fomentarius*; 3 — *L. sulphureus* 8.

Т а б л и ц а 2. Жирнокислотный состав фракций липидов, %

Жирная кислота	Нейтральная фракция			Полярная фракция		
	1	2	3	1	2	3
C <sub>15:0</sub>	2,0	6,5	сл.	1,5	4,4	0,2
C <sub>16:0</sub>	16,5	22,0	34,5	10,0	14,0	19,0
C <sub>16:1</sub>	5,9	3,5	2,0	2,7	2,5	сл.
C <sub>17:0</sub>	2,2	4,5	1,5	1,0	2,0	0,5
C <sub>18:0</sub>	4,9	4,0	3,5	2,3	1,2	2,5
C <sub>18:1</sub>	21,0	11,5	19,0	26,8	4,1	16,0
C <sub>18:2</sub>	46,1	48,0	39,0	55,7	71,8	61,3
C <sub>18:3</sub>	1,4	сл.	0,5	1,0	—	0,5
Σ <sub>1</sub> ненасыщенных	74,4	63,0	60,5	85,2	78,4	77,8
Σ <sub>2</sub> насыщенных	25,6	37,0	39,5	14,8	21,6	22,2
Отношение Σ <sub>1</sub> /Σ <sub>2</sub>	2,9	1,7	1,5	5,8	3,6	3,5
СН	1,2	1,1	1,1	1,4	1,5	1,4

П р и м е ч а н и е. 1 — *C. militaris* 3; 2 — *F. fomentarius*; 3 — *L. sulphureus* 8.

Фракционный состав нейтральных липидов изучался методом тонкослойной хроматографии. В качестве метчиков использовали эргостерин, линолевую кислоту и рафинированное подсолнечное масло, в составе которого имеется смесь триглицеринов высших жирных кислот.

Показано, что состав нейтральных липидов исследуемых грибов отличается незначительно. При этом обнаружена закономерность, свойственная другим высшим грибам: высокий уровень в липидах триацилглицеринов и свободных жирных кислот. Это же свойство характерно для аскомицетного гриба *C. militaris* 3. Наибольшее количество триацилглицеринов (50 %) отмечено в составе липидов *L. sulphureus* 8, наименьшее (30,5 %) — *F. fomentarius*. Содержание свободных жирных кислот различалось незначительно и находилось в пределах 13,0—16,4 %. Для базидиальных грибов характерным оказалось высокое содержание восков и эфиров стеринов (до 13,0—14,0 %) (табл. 3), а также эргостерина.

Фосфолипиды являются важнейшими структурными элементами клеточных мембран, которые во многом определяют их функциональные свойства. Качественный состав фосфолипидов схож у грибов разных групп. Что же касается количественного их состава, то он весьма специфичен и определяется различными факторами. До настоящего времени эти соединения в глубинном мицелии грибов практически не изучены. Качественный и количественный состав фосфолипидов грибов приведен в табл. 4.

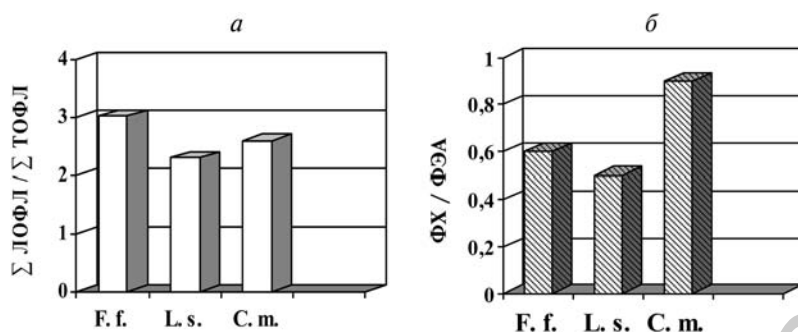
Т а б л и ц а 3. Фракционный состав нейтральных липидов, %

Фракция	<i>C. militaris</i> 3	<i>F. fomentarius</i>	<i>L. sulphureus</i> 8
Диацилглицерины	6,0	10,5	12,0
Эргостерин	8,0	12,5	9,0
Неидентифицированная фракция с Rf = 0,167	7,5	12,0	7,0
Свободные жирные кислоты	15,0	16,4	13,0
Триацилглицерины	46,0	30,5	50,0
Воска и эфиры стеринов	9,0	12,6	14,0

Т а б л и ц а 4. Состав фосфолипидов глубинного мицелия грибов, %

Липид	<i>C. militaris</i> 3	<i>F. fomentarius</i>	<i>L. sulphureus</i> 8
Лизофосфатидилхолин	6,5	5,6	10,0
Сфингомиелин	8,4	9,0	5,4
Кардиолипин	16,0	14,5	13,0
Фосфатидилглицерин	6,0	14,0	7,0
Фосфатидилхолин	23,0	20,0	14,5
Фосфатидная кислота	14,5	10,1	11,0
Фосфатидилэтанолламин	18,6	17,3	27,1
Фосфатидилсерин	7,0	9,5	12,0

Все исследуемые грибы обладают одинаковым качественным составом фосфолипидов, который включает следующие фракции: лизофосфатидилхолин (ЛФХ), сфингомиелин (СМ), кардиолипин (КЛ), фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидная кислота (ФК), фосфатидилэтанолламин (ФЭА), фосфатидилсерин (ФС). Преобладающими фракциями в составе фосфолипидов мицелия грибов оказались: у *F. fomentarius* — ФХ, КЛ, ФЭА и ФГ, у *C. militaris* 3 — ФХ, ФЭА, КЛ и ФК, у *L. sulphureus* 8 — ФЭА, ФХ, КЛ и ФС. Количественное соотношение фракций фосфолипидов мицелия мало зависело от принадлежности грибов к различным экологическим группам: у *F. fomentarius* — гриба белой гнили древесины, так же как и у *L. sulphureus* 8 — гриба бурой гнили, массивными оказались три фракции: ФХ, ФЭА и КЛ. Что же касается аскомицета *C. militaris* 3, то в составе его фосфолипидов также преобладают эти фракции, составившие 57,6 %. В фосфолипидах этого гриба отмечено довольно высокое содержание ФК — 14,5 %. Все это указывает на то, что *C. militaris* 3 по сумме и качественному составу фосфолипидов одинаково близко стоит к грибам белой и бурой гнили.



Соотношение в содержании некоторых фракций фосфолипидов мицелия грибов *F. fomentarius* (*F. f.*), *L. sulphureus* (*L. s.*), *C. militaris* (*C. m.*): а —  $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$ , б —  $\text{ФХ}/\text{ФЭА}$

Разные фракции липидов, как показали наши исследования, характеризуются преобладанием тех или иных жирных кислот. Насыщенные жирные кислоты преобладали в ЛФХ, СМ и ФХ, ненасыщенные — в КЛ, ФГ, ФК, ФЭА и ФС. В зависимости от жирнокислотного состава фракции фосфолипидов делятся на трудноокисляемые (ЛФХ, СМ, ФХ) и легкоокисляемые (КЛ, ФГ, ФК, ФЭА, ФС).

Большую информационную ценность представляет, по данным [3; 4], показатель соотношения легкоокисляемых и трудноокисляемых фракций фосфолипидов ( $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$ ).

Во фракции фосфолипидов гриба *F. fomentarius*  $\Sigma\text{ЛОФЛ}$  составила 75,4 %,  $\Sigma\text{ТОФЛ}$  — 24,6 %, гриба *L. sulphureus* 8 — 70,1 и 29,9 %, *C. militaris* 3 — 72,1 и 27,9 % соответственно.  $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$  — 3,01; 2,3 и 2,6 (рисунок),  $\text{ФХ}/\text{ФЭА}$  — 0,6; 0,5 и 0,9.

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что более низкими соотношениями легкоокисляемых липидов к трудноокисляемым, так же как и фосфатидилхолина к фосфатидилэтаноламину, характеризуется гриб бурой гнили *L. sulphureus* 8.

Проведенные исследования позволяют сделать вывод, что в липидах глубинного мицелия грибов *C. militaris* 3, *F. fomentarius* и *L. sulphureus* 8 преобладают нейтральные липиды, составившие 60,0–73,5 %, в составе жирных кислот нейтральных липидов — диеновая  $\text{C}_{18:2}$  кислота. По фракционному составу нейтральные липиды грибов различаются незначительно, основными фракциями оказались триацилглицерины и свободные жирные кислоты.

Качественный состав фосфолипидов грибов также представлен одними и теми же фракциями. Преобладающими оказались легкоокисляемые, составившие 70,0–75,4 %, соотношение легкоокисляемых фосфолипидов к трудноокисляемым находится в пределах 2,3–3,0.

Высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот, широкий набор биологически ценных липидных соединений, среди которых большое количество фосфолипидов, дают основание рассматривать глубинный мицелий грибов *C. militaris* 3, *L. sulphureus* 8 и *F. fomentarius* в качестве субстанции для создания функциональных продуктов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Б08Р-023).

## Литература

1. Степанов А. Е., Краснопольский Ю. М., Швец В. И. Физиологически активные липиды. М., 1991. — 136 с.
2. Васильковский В. Е. // Соросовский образовательный журн. 1997. № 3. С. 32—37.
3. Капич А. Н., Шишкина Л. Н. // Микология и фитопатология. 1993. Т. 27, вып. 3. С. 32—37.
4. Капич А. Н., Романовец Е. С., Войт С. П. // Прикл. биохим. и микробиол. 1989. Т. 25, № 3. С. 368—372.
5. Феофилова Е. П., Бурлакова Е. Б., Кузнецова Л. С. // Прикл. биохим. и микробиол. 1987. Т. 23, № 1. С. 3—13.
6. Феофилова Е. П., Горнова И. Б., Меморская А. С., Гарибова Л. В. // Микробиология. 1998. Т. 67, № 5. С. 655—659.
7. Vatrakov S. G. et al. // *Phytochemistry*. 2004. Vol. 65, № 9. P. 1239—1246.
8. Горшина Е. С., Скворцова М. М. // Успехи медицинской микологии. М., 2005. Т. 5. С. 262—266.
9. Терешина В. М., Меморская А. С., Котлова Е. Р., Феофилова Е. П. // Современная микология в России: Материалы второго съезда микологов России. М., 2008. Т. 2. С. 146—147.
10. Гвоздкова Т. С. и др. // Успехи медицинской микологии. М., 2007. Т. 9. С. 151—154.
11. Folch I., Lees M., Sloan-Staulet G. H. S. // *J. Biol. Chem.* 1957. Vol. 226, № 1. P. 491—509.
12. Кейтс М. Техника липидологии. М., 1975. — 322 с.
13. Шuvaев В. А., Филатов Ю. И., Омелянчук П. А. // Вестн. СевКавГТУ, серия «Продовольствие». 2004. № 1(7). С. 85—89.
14. Бабицкая В. Г. и др. // Биотехнология. 2003. № 4. С. 35—44.

V. G. BABITSKAYA, D. A. SMIRNOV, T. V. CHERNOOK,  
N. V. IKONNIKOVA, T. A. PUCHKOVA, V. V. SHCHERBA

## COMPONENT COMPOSITION OF MYCELIAL MUSHROOMS LIPIDS

## Summary

The lipid composition of *Fomes fomentarius*, *Laetiporus sulphureus* and *Cordyceps militaris* was investigated. Among the lipids of the submerged mycelium neutral lipids make up 60.0—73.5 %, polar lipids — 26.5—40.0 %. Neutral lipids are characterised high unsaturated degree fatty acids ( $\Sigma_1$  of unsaturated fatty acids is 60.5—74.4 %); and domination of  $C_{18:2}$  and  $C_{16:0}$  acids (39.0—48.0 % и 16.5—34.5 %, respectively). Triacylglycerols prevail in neutral lipids fraction (30.5—50.0 %), phosphatidylcholine (14.5—23.0 %), phosphatidylethanolamine (17.3—27.1 %) and cardiolipin (13.0—16.0 %) — in polar lipids fraction.

УДК 577.152.3

Е. И. ТАРУН, Д. Б. РУБИНОВ, И. Л. РУБИНОВА

**ЗАМЕЩЕННЫЕ 3-АЦИЛ-2,4(1H,3H)-ПИРИДИНДИОНЫ —  
ИНГИБИТОРЫ УРЕАЗЫ**

Институт биоорганической химии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 22.10.2008)

Проведено сравнительное кинетическое исследование ингибирования уреазного гидролиза мочевины десятью замещенными 3-ацил-2,4(1H,3H)-пиридиндионами (ПД I—X) при 36 °С в водном растворе, рН 3,85. Ингибирование носит обратимый конкурентный характер, определены константы ингибирования  $K_i$ , меняющиеся в зависимости от структуры ПД I—X от 0,282 до 7,26 мМ, обсуждена связь эффективности ингибирования гидролиза мочевины со структурой замещенных ПД I—X.

**Введение**

Важным инструментом изучения механизма действия уреаз является ингибирование и активация этих ферментов с использованием в качестве потенциальных ингибиторов химических соединений, имитирующих субстрат уреаз — мочевины, или соединений, блокирующих атомы никеля в активном центре фермента, так как они ответственны за связывание субстрата и играют ключевую роль в механизме гидролиза мочевины [1–7].

В последние 15 лет проблема ингибирования уреаз приобрела важное практическое значение для медицины. Оказалось, что уреазы продуцируются многими микроорганизмами и непосредственным образом связана с такими патологиями, как язва двенадцатиперстной кишки и желудка, а также с целым рядом заболеваний мочевых путей человека и животных. Подавляющая часть белка таких микроорганизмов, как *Helicobacter pylori*, *Klebsiella aerogenes* и многих других, — уреазы, которые в кислых средах желудка гидролизуют мочевины пищи и создают «комфортную» среду для выживания и размножения патогенных микроорганизмов. В настоящее время общепризнанно, что кампилобактерподобные микроорганизмы — одна из главных причин язвенных болезней желудка [8], а хеликобактериоз желудка — одно из актуальных направлений исследований в гастроэнтерологии [9]. Патогенность *H. pylori* при язвенной болезни и эффективность лечения данной формы патологии при эрадикации микроба *H. pylori* четко доказаны [8; 9]. В настоящее время во многих лабораториях мира проводятся широкие исследования средств ингибирования

микробных уреаз и механизма их действия [1—7]. Эффективность ингибирования одними и теми же соединениями может различаться для уреаз из разных источников, однако корреляции между ингибирующими свойствами одних и тех же веществ для уреаз микробного и растительного происхождения вполне возможны. По этой причине первичный отбор потенциальных ингибиторов уреаз проще и быстрее проводить при использовании уреазы соевых бобов.

С 2001 г. в лаборатории проводится систематическое изучение потенциальных ингибиторов уреазы соевых бобов различного строения, имитирующих структуру субстрата — мочевины или проявляющих хелаторные свойства по отношению к атомам никеля: исследованы тиофосфамиды [10], фториданион и циклические  $\beta$ -трикетоны [11], оксимы  $\beta$ -трикетонов [12] и поликарбонильные соединения разной природы, среди которых полидисульфид оксалилдигидразида [13], барбитуровая кислота и ее производные [14].

Задача создания и изучения новых средств ингибирования уреаз остается чрезвычайно актуальной, но довольно сложной, так как эффективные ингибиторы уреаз должны быть нетоксичны, чтобы стать потенциальными хемотерапевтическими агентами.

Цель данной работы — сравнительное кинетическое исследование ингибирования уреазы соевых бобов органическими хелаторами никеля — десятью замещенными пиридиндионами, структурные формулы которых представлены на рис. 1. Выбор соединений I—X в качестве потенциальных ингибиторов уреазы обусловлен наличием в их молекулах соседних атомов карбонильного кислорода и этилоксииминогруппы в различном окружении.

### Материалы и методы

*Реагенты.* В работе использовали уреазу соевых бобов («Биолар», Олайне, Латвия) с исходной активностью 1032 единицы Самнера на 1 г и мочевины марки о.с.ч. в качестве субстрата, этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) и диметилформамид (ДМФ) («Реахим», Россия). ДМФ перед употреблением перегоняли. Концентрацию уреазы рассчитывали по удельному коэффициенту поглощения фермента  $A_{1\text{см}}^{1\%}$  при 280 нм, равному 6,2 [15]. В качестве рН-индикатора использовали бромкрезоловый зеленый («Реахим»), а приготовление его растворов проводили, как описано в монографии [16].

*Потенциальные ингибиторы уреазы.* Производные ряда 3-ацил-2,4(1*H*,3*H*)-пиридиндионов I—X (см. рис. 1) были синтезированы и охарактеризованы по методикам, описанным ранее в работе [17].

**Определение каталитической активности уреазы в присутствии ингибиторов и без них.** Для решения поставленных в работе задач необходимо измерение начальных скоростей гидролиза мочевины с высокой точностью при низких концентрациях уреазы в условиях подавления ее активности ингибиторами, что может обеспечить только спектрофотометрический мониторинг активности уреазы с использованием рН-индикаторов [10—14].

Для приготовления субстратных смесей к 100 мл водного раствора мочевины (0,03 М) добавляли ЭДТА до конечной концентрации 0,05 мМ для свя-

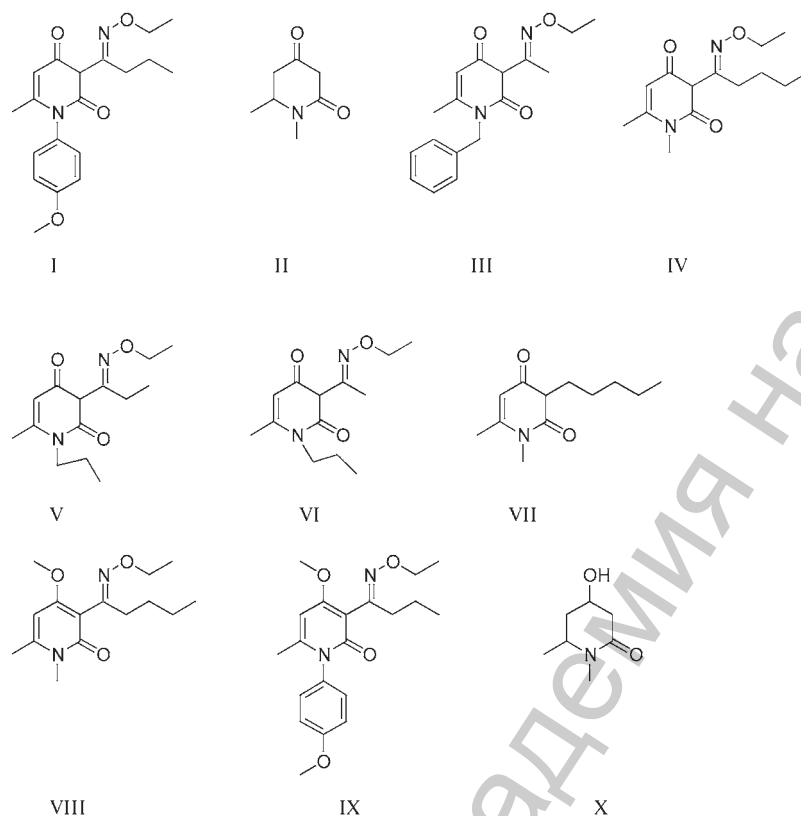


Рис. 1. Структурные формулы соединений ПД I–X

зывания примесных ионов тяжелых металлов. Согласно [16], бромкрезоловый зеленый растворяли в смеси, содержащей 0,2 мл 0,05 М NaOH и 0,3 мл H<sub>2</sub>O. Раствор красителя добавляли к раствору мочевины и доводили pH смеси до необходимого начального значения 3,85, используя HCl и 0,05 М NaOH.

Гидролиз мочевины в присутствии ингибиторов (In) и без них проводили при 36 °С. Общий объем смеси составлял 0,8 мл. К 0,69 мл исходного раствора субстратной смеси добавляли 0,1 мл раствора уреазы в воде и 0,01 мл раствора ингибиторов в ДМФ. Конечные концентрации реагентов в реакционной смеси составляли: 10 нМ для уреазы и 0,026 М для мочевины. Конечные концентрации ингибиторов меняли в пределах, указанных в табл. 1.

В ходе гидролиза мочевины в присутствии ингибиторов и без них следили за изменением поглощения pH-индикатора при длине волны 620 нм и строили кинетические кривые в координатах «поглощение — время». Все измерения проводили на спектрофотометре Specol-221 («Carl Zeiss», Германия) при 36 °С. Первый отсчет проводили по поглощению света субстратной смесью без ингибиторов.

Начальную скорость реакции  $v_0$  определяли по начальным линейным участкам кинетических кривых и выражали в условных единицах изменения поглощения в 1 с (отн. ед.), принимая ее за 100 % в отсутствие ингибиторов.

Т а б л и ц а 1. Характеристики ингибирования уреазного гидролиза мочевины соединениями ПД I—X в водном растворе, pH 3,85 при 36 °С: 10 нМ уреазы, 26 мМ мочевины, бромкрезоловый зеленый (25,2 мкМ) в качестве pH-индикатора

ПД	Интервал концентраций ПД в мМ	Величина $[In]^* \cdot 10^{-4}$ , М	Величина $K_i \cdot 10^{-4}$ , М
I	0,01—0,2	4,94	2,82
II	0,01—1	5,48	3,13
III	0,1—1	8,44	4,82
IV	0,1—1	11,06	6,31
V	0,1—1	13,5	7,71
VI	0,2—2	18,4	10,51
VII	0,01—1	19,2	11,1
VIII	0,1—10	127	72,6
IX	0,1—6	—	—
X	0,1—6	—	—

**Количественная характеристика эффективности ингибиторов уреазы.** Для определения типа ингибирования уреазы производными пиридиндионов I—X строили зависимости  $v_0$  от начальной концентрации мочевины в двойных обратных координатах (метод Лайнуивера—Берка). Константы ингибирования  $K_i$  определяли по методу Диксона из зависимостей в координатах  $1/v_0 - [In]_0$ , где  $[In]_0$  — возрастающая концентрация ингибитора при разных начальных концентрациях мочевины: такие зависимости строили для ПД-I, II, III и IV. Для остальных ПД линейные зависимости в координатах Диксона строили только при одной концентрации мочевины (0,026 М), графически определяли величину отрезка, отсекаемого на оси абсцисс  $[In]^*$ , и вычисляли  $K_i$  по уравнению (1), которое справедливо в случае обратимого конкурентного ингибирования [18]:

$$[In]^* = K_i ( [S]_0 / K_m + 1 ), \quad (1)$$

где  $[S]_0$  — начальная концентрация субстрата,  $K_m$  — константа Михаэлиса в отсутствие ингибитора. В табл. 1 приведены графически определенные значения  $[In]^*$  и вычисленные величины  $K_i$  при 36 °С для всех ПД I—X. Точность определенных величин  $K_i$  составляет ~10 %.

### Результаты

Показано, что в отсутствие ингибиторов и в присутствии соединений ПД I—X зависимости начальной скорости гидролиза мочевины уреазой от концентрации субстрата описываются уравнением Михаэлиса—Ментен, линеаризация которого в координатах Лайнуивера—Берка для ПД-I показана на рис. 2, а, четко доказывающем обратимый конкурентный тип ингибирования. Представление данных в координатах Диксона (рис. 2, б) дало возможность графически определить для ПД-I величину  $K_i = 2,82 \cdot 10^{-4}$  М. Аналогичные зависимости Лайнуивера—Берка и Диксона получены для соединений ПД-II, ПД-III и ПД-IV и определены величины  $K_i$ , равные соответственно 3,13, 4,82 и  $6,31 \cdot 10^{-4}$  М (табл. 1). Для остальных ПД зависимости Диксона получены только при одной концентрации субстрата (0,026 М). На рис. 3 приведены зависимости Диксона для ПД-V (1) и ПД-VII (2). Используя графически определенные значения  $[In]^*$  и уравнение (1), вычислены величины  $K_i$ , сопоставленные в табл. 1.

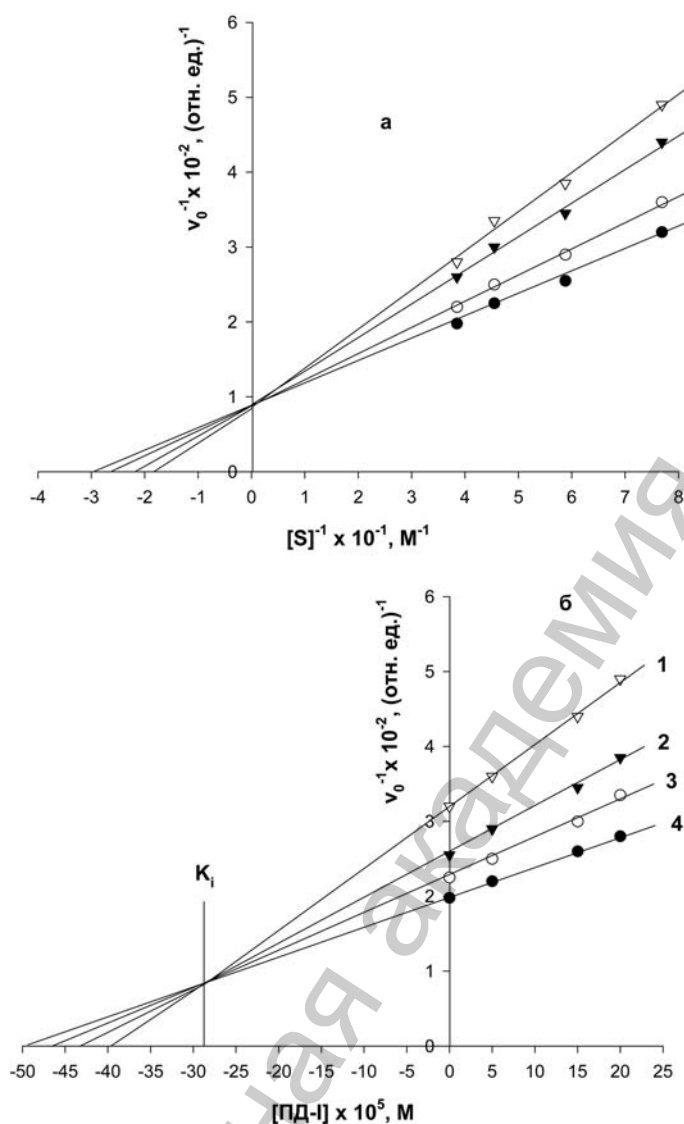


Рис. 2. Зависимости обратной начальной скорости уреазного гидролиза мочевины от обратной концентрации субстрата (а) и концентрации ингибитора ПД-I (б) при 36 °С в водном растворе, рН 3,85: а — 1 — 0; 2 — 0,05; 3 — 0,15 и 4 — 0,20 мМ ПД-I; б — 1 — 13; 2 — 17; 3 — 22 и 4 — 26 мМ мочевины

Эффективность ингибирующего действия соединений ПД-I и III-VI определяется наличием в их структуре  $\beta$ -расположенных карбонильной группы и этилоксииминогруппы ( $=\text{NOC}_2\text{H}_5$ ), что приводит к возможности существования этих соединений в нескольких таутомерных формах, способных давать прочные хелаты с ионами металла, в данном случае — никеля. Это уже было показано ранее на примере ингибирования уреазы оксимами трикетонов (ОТК) [12] (табл. 2).

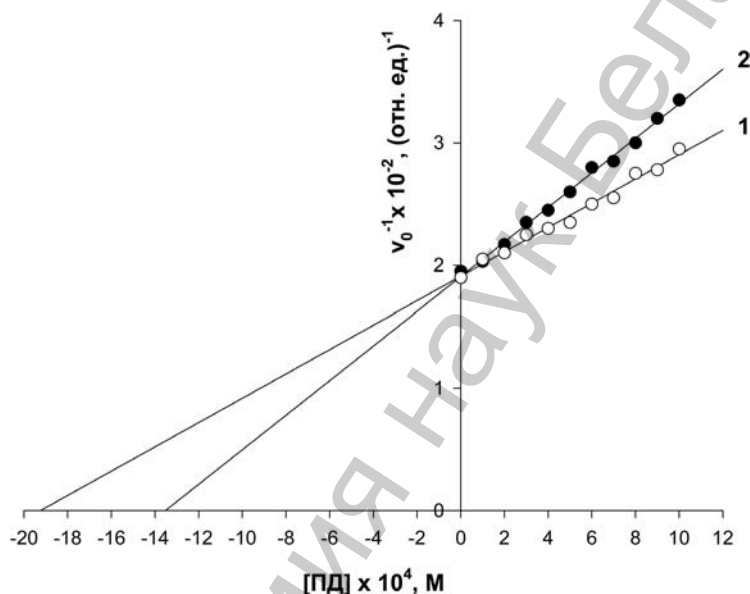


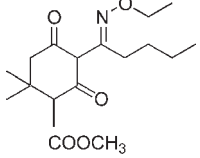
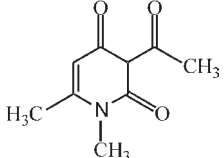
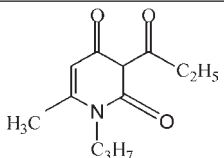
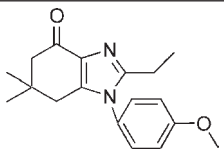
Рис. 3. Зависимость обратной начальной скорости уреазного гидролиза мочевины от концентрации ингибитора ПД-V (1) и ПД-VII (2) при 36 °С в водном растворе, pH 3,85, при начальной концентрации мочевины 0,026 М

Наиболее эффективным ингибитором уреазы стал ПД-I ( $K_i = 2,82 \cdot 10^{-4}$  М), имеющий в первом положении метоксифенильный заместитель. Положительный эффект этого заместителя наблюдается и для бензимидазольных ингибиторов, рассмотренных ранее (табл. 2). Замена его на бензильный заместитель в ПД-III ( $K_i = 4,82 \cdot 10^{-4}$  М) приводит к увеличению значения  $K_i \sim 2$  раза. Очевидно, что пара-метоксизаместитель фенильной группы, содержащийся в метоксифенильной группе, играет положительную роль в связывании ингибитора с молекулами никеля в активном центре уреазы.

Введение метильного (ПД-IV) и пропильного (ПД-V и ПД-VI) заместителя в 1-е положение еще больше уменьшает эффект ингибирования уреазы. При сравнении этих трех ингибиторов уреазы видно, что увеличение длины алкильной цепи заместителя в 3-м положении (этил в ПД-VI, пропил в ПД-V и пентил в ПД-IV) приводит к уменьшению величины  $K_i$  от  $6,31 \cdot 10^{-4}$  до  $10,51 \cdot 10^{-4}$  М, т. е. способствует лучшему ингибированию уреазы, что было показано и для оксимов трикетонов [12].

Наиболее слабым ингибитором оказалось соединение ПД-VIII. Замена карбонильной группы на метоксигруппу в 4-м положении приводит к потере способности этого соединения давать прочные хелаты с ионами металлов и соответственно увеличивает величину  $K_i$  на порядок. Это видно из сравнения констант ингибирования соединений ПД-IV ( $K_i = 6,31 \cdot 10^{-4}$  М) и ПД-VIII ( $K_i = 7,26 \cdot 10^{-3}$  М). Соединение ПД-IX, также имеющее метоксигруппу в 4-м положении, не оказывало ингибирующего действия на уреазу.

Т а б л и ц а 2. Структура и величины  $K_i$  ингибиторов уреаз

Структура и название ингибиторов	$K_i$ , М	Ссылки
 <p>Оксим трикетона (ОТК-I)</p>	$2,7 \cdot 10^{-6}$	[12]
 <p>Циклический трикетон (ЦТК-VIII)</p>	$1,9 \cdot 10^{-4}$	[14]
 <p>Циклический трикетон (ЦТК-IX)</p>	$2,96 \cdot 10^{-4}$	[14]
 <p>Бензимидазолон (БИ-I)</p>	$2,93 \cdot 10^{-5}$	

Соединение ПД-II показало ингибирующую активность, сравнительную с ПД-I. Показатели  $K_i$  этих соединений близки по значению:  $2,82 \cdot 10^{-4}$  М и  $3,13 \cdot 10^{-4}$  М для ПД-I и ПД-II соответственно. Структурные изменения соединения ПД-II привели к ухудшению его ингибирующей способности. Введение пентилового заместителя в 3-е положение (соединение ПД-VII) увеличивает  $K_i$ , значение которого возрастает до  $1,11 \cdot 10^{-3}$  М. Замена карбонильного кислорода на гидроксигруппу в 4-м положении в соединении ПД-X привело к исчезновению ингибирующей активности этого соединения. Это говорит о том, что кислород гидроксильной группы в отличие от карбонильного кислорода не реагирует с никелем в активном центре уреазы.

Ранее нами было исследовано ингибирование уреазы оксимами трикетонов, содержащих карбонильный кислород и этилоксииминогруппу в соседних положениях [12]. Эти соединения показали высокую ингибиторную способность. Наиболее активные из них имели  $K_i = 2,7 \div 20,3 \cdot 10^{-6}$  М. Это позволило предположить, что выбранные нами ПД также могут быть сильными ингибиторами уреазы. Однако  $K_i$  соединений ПД-I, ПД-III, ПД-IV, ПД-V и ПД-VI, схожих по строению с оксимами трикетонов (табл. 2), отличаются от  $K_i$  этих сое-

динений на два порядка. Так, ОТК-I имеет  $K_i = 2,7 \cdot 10^{-6}$  М, тогда как ПД-I имеет  $K_i = 2,82 \cdot 10^{-4}$  М. Очевидно, азот, содержащийся в циклическом строении соединений ПД, создает препятствия для связывания этих молекул с никелями активного центра уреазы. Кроме того, повышению эффективности ингибирования оксимами трикетонов в существенной степени способствует наличие метоксикарбонильной группы ( $-\text{COOCH}_3$ ) в 4-м положении цикла этих соединений.

В предыдущей работе [14] нами были рассмотрены циклические трикетоны (табл. 2), структура которых сходна с такими соединениями, как ПД IV–VI. Соединение ЦТК-IX ( $K_i = 2,96 \cdot 10^{-4}$  М) схоже по строению с соединением ПД-V ( $K_i = 7,71 \cdot 10^{-4}$  М), а соединение ЦТК-VIII ( $K_i = 1,9 \cdot 10^{-4}$  М) — с соединениями ПД-IV ( $K_i = 6,31 \cdot 10^{-4}$  М) и ПД-VI ( $K_i = 10,54 \cdot 10^{-4}$  М). Как видим, величины  $K_i$  ЦТК ниже сравниваемых с ними ПД. Соединения ЦТК имеют две  $\beta$ -расположенные карбонильные группы. В соединениях ПД один из карбонильных кислородов замещен этилоксииминогруппой. Следовательно, в данной структуре карбонильный кислород более активно участвует в ингибировании уреазы, чем этилоксииминогруппа.

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод о важной роли  $\beta$ -расположенных карбонильной группы и этилоксииминогруппы ( $=\text{NOC}_2\text{H}_5$ ) в структуре ПД, возможность которых существовать в нескольких таутомерных формах приводит к созданию прочных хелатов с ионами металла, в данном случае — никеля. Введение метоксифенильного заместителя в 1-м положении усиливает ингибирующий эффект пиридиндионов. Важную роль играет и карбоксильный кислород во 2-м положении цикла ПД.

Соединения ПД I–III показали достаточно высокую ингибиторную активность по отношению к уреазе, а сравнительный анализ структур всех соединений ПД I–X показал важность ряда функциональных групп в механизме ингибирования уреазы.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований по проекту X07-018.

### Литература

1. Todd M. J., Hausinger R. P. // J. Biol. Chem. 1989. Vol. 264, № 27. P. 15835–15842.
2. Amutlul Z., Rahman A. U., Siddiqui R. A., Choudhary M. I. // Curr. Med. Chem. 2002. Vol. 9, № 14. P. 1323–1348.
3. Follmer C. // Phytochem. 2007. Vol. 14.
4. Крајевска В., Заборска В. // Bioorg. Chem. 2007. Vol. 5.
5. Крајевска В., Заборска В. // Bioorg. Med. Chem. 2007. Vol. 30.
6. Kot M. // J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2006. Vol. 21, № 6. P. 697–701.
7. Заборска В. // Bioorg. Chem. 2006. Vol. 11.
8. Циммерман Я. С. // Сов. медицина. 1991. № 7. С. 34–37.
9. Мараховский Ю. Х. // Медицина. Журн. Белорус. ассоциации врачей. 1998. № 4. С. 9–10.
10. Метелица Д. И., Тарун Е. И., Пучкаев А. В., Лосев Ю. П. // Прикл. биохимия и микробиол. 2001. Т. 37. С. 190–196.
11. Тарун Е. И., Рубинов Д. Б., Метелица Д. И. // Прикл. биохимия и микробиол. 2004. Т. 40. С. 398–406.
12. Тарун Е. И., Рубинов Д. Б., Метелица Д. И. // Биохимия. 2004. Т. 69. С. 1649–1658.

13. Тарун Е. И., Рубинов Д. Б., Метелица Д. И. // Прикл. биохимия и микробиол. 2005. Т. 41. С. 17–22.
14. Тарун Е. И., Рубинов Д. Б., Метелица Д. И. // Весті НАН Беларусі, сер. хім. навук. 2005. № 4. С. 52–56.
15. Takishima K., Suga T., Mamiya G. // Eur. J. Biochem. 1988. Vol. 175. P. 151–165.
16. Виноградова Е. Н. Методы определения концентрации водородных ионов. М., 1956. С. 45–52.
17. Рубинов Д. Б., Желдакова Т. А., Рубинова И. Л., Барановский А. В. // Журн. орг. химии. 2008. Т. 44, № 3. С. 432–440.
18. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. М., 1990. С. 183–188.

*E. I. TARUN, D. B. RUBINOV, I. L. RUBINOVA*

**SUBSTITUTED 3-ACIL-2,4(1*H*, 3*H*)-PIRIDINDIONES  
AS INHIBITORS OF UREASE**

**Summary**

A comparative kinetic study of the inhibition of the urea hydrolysis by 10 substituted 3-acil-2,4(1*H*,3*H*)-pyridindiones (PD I-X) has been carried out at 36 °C in aqueous solution (pH 3,85). The inhibition had reversible competitive character; the inhibition constants  $K_i$ , varying from 0,282 up to 7,26 mM depending of the structure of PD I-X were determined; a relation of the inhibition efficiency and the substituted PD I-X structure are discussed.

УДК 621.184.4:536.24

*В. И. БАЙКОВ, В. А. БОРОДУЛЯ, В. Л. МАЛЕВИЧ,  
А. Е. СИНКЕВИЧ*

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ТЕПЛО- И МАССОПЕРЕНОСА ПРИ ГЛУБОКОМ ОХЛАЖДЕНИИ В ТЕПЛООБМЕННИКЕ ИЗ ПУЧКА ОРЕБРЕННЫХ ТРУБ ПРОДУКТОВ СГОРАНИЯ ТОПЛИВА**

*Институт тепло- и массообмена им. А. В. Лыкова НАН Беларуси*

*(Поступила в редакцию 13.11.2008)*

*Разработана модель расчета локальных параметров тепло- и массопереноса при глубоком охлаждении уходящих дымовых газов в трубном пучке конденсационного теплоутилизатора. Представленная модель позволила получить распределение параметров конденсирующегося парогазового потока как по длине трубы, так и по глубине поперечно обтекаемого пучка труб, что дает возможность выбора и обоснования оптимальных геометрических характеристик конденсационных теплоутилизаторов при различных входных термодинамических параметрах.*

#### **Введение**

Существенное повышение эффективности использования топлива в газифицированных котельных установках может быть достигнуто путем глубокого охлаждения продуктов их сгорания [1–3]. В связи с постоянным ростом цен на энергоносители актуальность данной работы значительно возрастает. Температура уходящих из котлов дымовых газов составляет обычно 120–140 °С [1], а для котлов малой мощности может достигать 150 °С и более [3]. Глубокое охлаждение дымовых газов позволяет получить дополнительное тепло не только за счет понижения их температуры, но и за счет теплоты фазового перехода при конденсации содержащихся в них водяных паров. Для осуществления данного процесса могут применяться контактные экономайзеры [4; 5] и поверхностные конденсационные теплоутилизаторы [1–3].

#### **Постановка задачи**

Процесс глубокого охлаждения уходящих дымовых газов может быть реализован в поверхностных теплоутилизаторах из труб с наружным оребрением. Охлаждение дымовых газов и конденсация содержащихся в них водяных паров осуществляется на оребренной наружной поверхности труб. Тепло отводит-



преобразуются в систему обыкновенных дифференциальных уравнений первого порядка, описывающих изменение по длине осредненных по радиусу параметров конденсирующегося потока. Преобразованные уравнения дополняются температурными граничными условиями и условиями связи между концентрациями компонент. Если учесть, что механизм процессов тепло- и массопереноса при конденсации парогазовой смеси не зависит от формы канала, а определяется только условиями отвода тепла через поверхность, то, перейдя от рассмотрения изменений параметров теплообмена по длине канала к изменению их по поверхности теплообмена ( $dF = \Pi dL$ ), полученные одномерные уравнения можно применить к описанию процессов конденсации паров на внешней поверхности оребренных труб.

В результате вышеописанных преобразований полученная система уравнений имеет вид:

$$\frac{d\bar{\rho}_{k0}}{dF} = \frac{\bar{\rho}_{k0}}{G} \frac{dG'}{dF}, \quad (2)$$

$$\frac{d\bar{T}}{dF} = \frac{1}{c_p G} \left[ -q_{\text{п}} + (\bar{h} - h_{\text{п}}) \frac{dG'}{dF} \right]. \quad (3)$$

В этом случае уравнение (2) описывает изменение концентрации неконденсируемого компонента в потоке, уравнение (3) определяет изменение температуры потока. Эти уравнения замыкаются выражениями для определения тепловых и массовых потоков.

Укрупненная блок-схема определения параметров тепло- и массопереноса при глубоком охлаждении продуктов сгорания в трубном пучке конденсационного теплоутилизатора приведена на рис. 2. В качестве исходных данных задаются параметры труб и оребрения, компоновка трубного пучка и количество рядов труб по ходу парогазового потока, состав дымовых газов, а также температура и расход дымовых газов и воды на входе в теплообменник. Далее каждая из труб теплообменника разбивается на одинаковое число элементов по длине. Выбор длины элемента ( $\Delta L$ ) обосновывается серией предварительных расчетов теплообменника и сопоставлением результатов при различных ее значениях. Расчет коэффициентов теплоотдачи по нагреваемой воде и от перегретого парогазового потока к стенке трубы (или пленке конденсата) выполняется по общепринятым критериальным зависимостям [7]. Коэффициент теплоотдачи при конденсации в пучке оребренных труб может быть определен по данным [8] с учетом влияния параметров оребрения на теплоотдачу

$$\alpha_k = \psi_p \varphi \alpha_k^{Nu}, \quad (4)$$

где  $\alpha_k^{Nu}$  — коэффициент теплоотдачи, определяемый по формуле Нуссельта при конденсации пара на внешней поверхности горизонтальной трубы. Удельный тепловой поток на стенке записывается в виде  $q_{\text{ст}} = k(T - T_{\text{в}})$ . При охлаждении парогазового потока коэффициент теплопередачи  $k$  является функцией коэффициента теплоотдачи воды ( $\alpha_{\text{в}}$ ) и конвективного коэффициента теплоотдачи парогазового потока ( $\alpha_{\text{г}}$ ), а температура  $T$  — средняя температура паро-

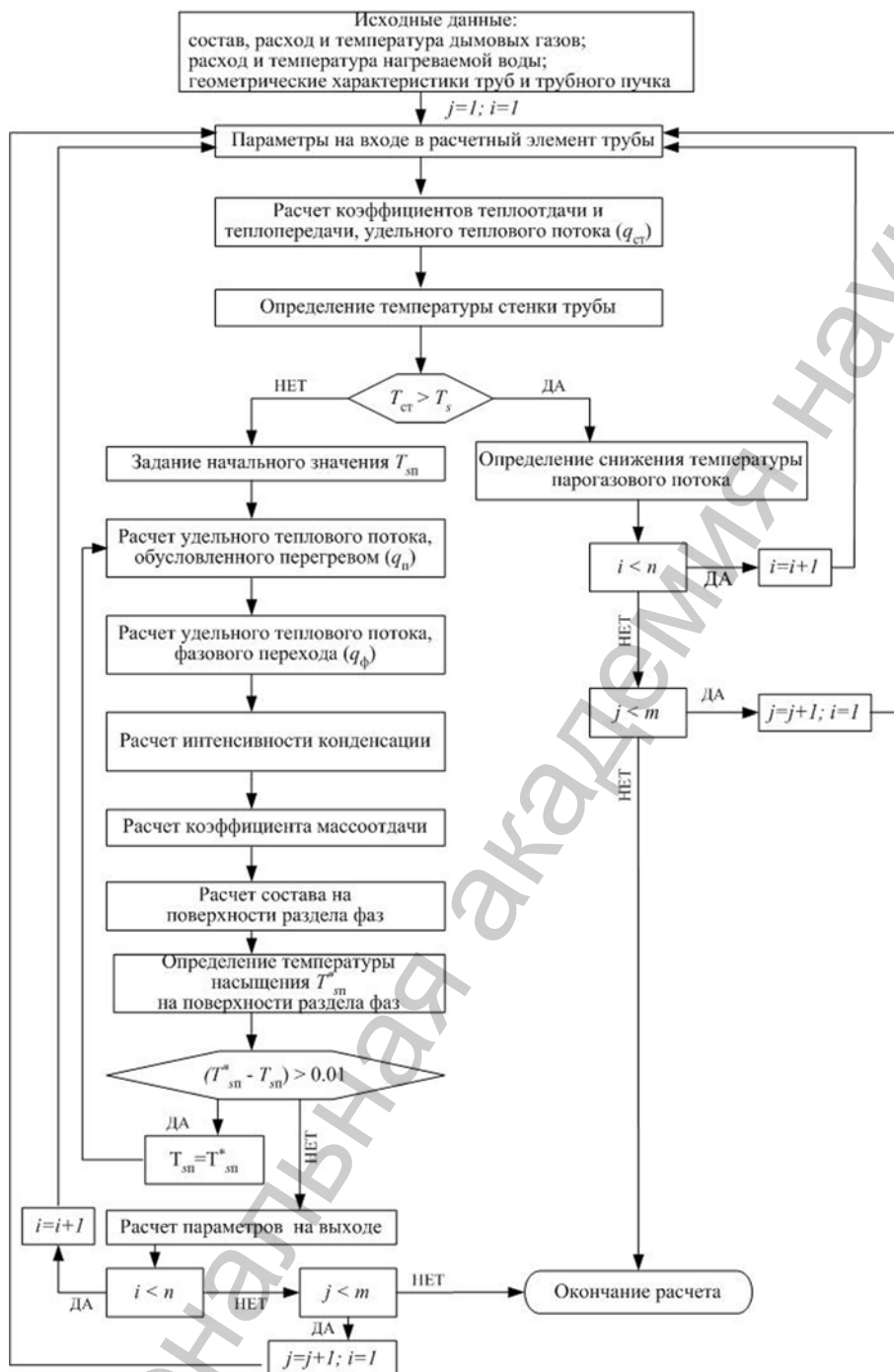


Рис. 2. Блок-схема расчета параметров тепло- и массопереноса при глубоком охлаждении продуктов сгорания топлива

газового потока. В случае конденсации  $k$  зависит от  $\alpha_B$  и  $\alpha_k$ , а температура  $T$  равна температуре насыщения на поверхности раздела фаз ( $T_{сп}$ ).

В процессе расчета для каждого элемента трубы сравнивается температура насыщения в потоке ( $T_s$ ) и температура стенки трубы ( $T_{ст}$ ). Если  $T_{ст} > T_s$ , расчет ведется для конвективного охлаждения парогазового потока. В случае  $T_{ст} \leq T_s$  проводится расчет теплоотдачи с учетом конденсации водяных паров из парогазовой смеси, для чего предварительно задается температура насыщения на поверхности раздела фаз, которая уточняется итерационным методом.

Общий тепловой поток на стенке трубы в случае конденсации складывается из потока ( $q_{п}$ ), обусловленного перегревом смеси относительно температуры насыщения на поверхности раздела фаз, и теплового потока фазового перехода ( $q_{ф}$ ):

$$q_{ф} = q_{ст} - q_{п}, \quad (5)$$

где  $q_{ст} = k(T_{сп} - T_B)$ ;  $q_{п} = k(\bar{T} - T_{сп})$ .

Изменение расхода (интенсивность конденсации) находится из условия

$$\frac{dG}{dF} = \frac{q_{ф}}{\Delta i}. \quad (6)$$

Коэффициент массоотдачи определяется на основе тройной аналогии [3] по зависимостям вида:

$$\beta_k = \alpha_{\Gamma} \left( \frac{Sc}{Pr} \right)^{0,43} \left( \frac{D_2}{\lambda} \right); \quad Sc = \frac{\mu}{D_2}; \quad D_2 = \rho D_{12}; \quad D_{12} = D_0 \left( \frac{T}{T_0} \right)^{1,8}; \quad D_0 = 2,16 \cdot 10^{-4}$$

при  $T_0 = 273,16$  К.

Из условия непроницаемости (1) определяется массовая концентрация неконденсируемого компонента на поверхности раздела фаз

$$\rho_{k0п} = \frac{\rho_{k0}}{1 - \frac{1}{\beta_k} \frac{dG}{dF}}. \quad (7)$$

Парциальное давление пара на поверхности раздела фаз, или давление насыщения определяются из условия

$$P_{сп} = P m_{\Sigma} \frac{\rho_{10п}}{m_{10}}; \quad \rho_{10п} = (1 - \rho_{k0п}). \quad (8)$$

По парциальному давлению пара определяется новое значение температуры насыщения на поверхности раздела фаз  $T_{сп}^* = f(P_{сп})$ , которое сравнивается с предыдущим. При достижении заданной точности итерационный процесс заканчивается, и полученные значения производных  $\frac{d\rho_{k0}}{dF}$  и  $\frac{dT}{dF}$  из выражений (2) и (3) позволяют вычислить новые значения параметров:

$$\rho_{k0}^* = \rho_{k0} + \frac{d\rho_{k0}}{dF} \Delta F; \quad T^* = T + \frac{dT}{dF} \Delta F; \quad G_{\Gamma}^* = G_{\Gamma} - \frac{dG}{dF} \Delta F.$$

На основе изложенной методики разработана вычислительная компьютерная программа и выполнена серия расчетов, позволяющих обосновать выбор теплоутилизаторов.

### Обсуждение результатов

Некоторые результаты расчета для дымовых газов с коэффициентом избытка воздуха 1,1 и температурой на входе в теплоутилизатор 150 °С приведены на рис. 3—5. Температура нагреваемой воды на входе принята 20 °С. Теплообменная поверхность теплоутилизатора собрана из биметаллических труб с попе-

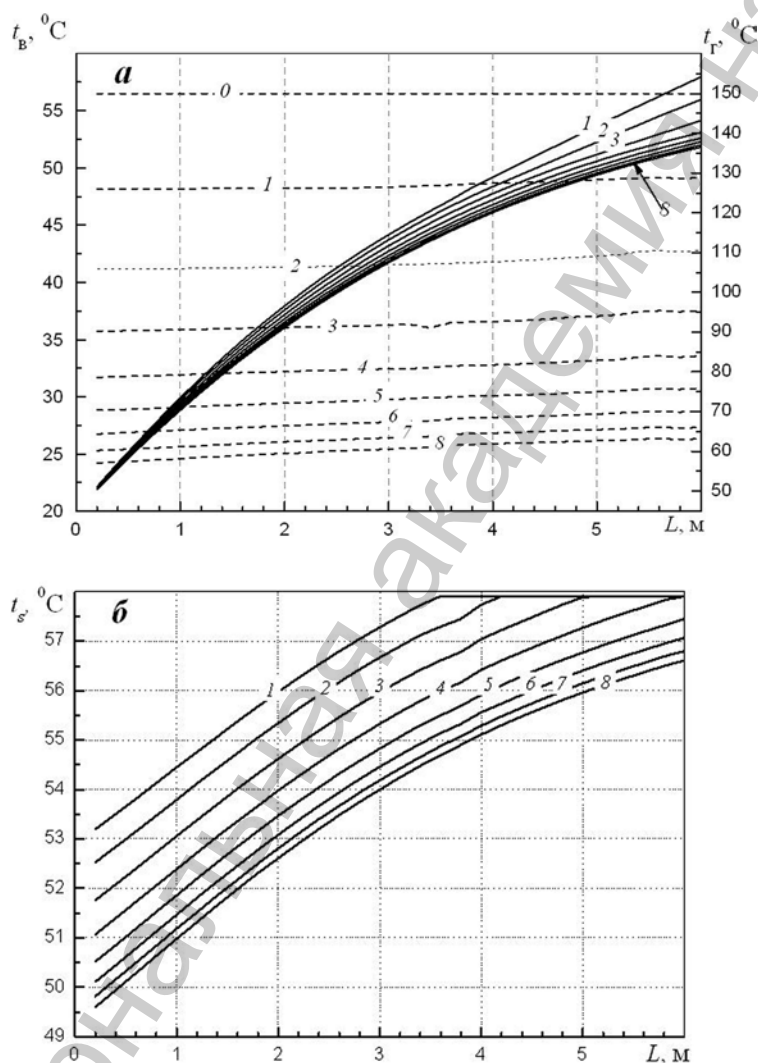


Рис. 3. Локальное распределение температур: *a* – парогазового потока (пунктирная линия) и воды (сплошная линия), *б* – насыщения на поверхности раздела фаз по рядам (1–8) и длине труб (*L*)

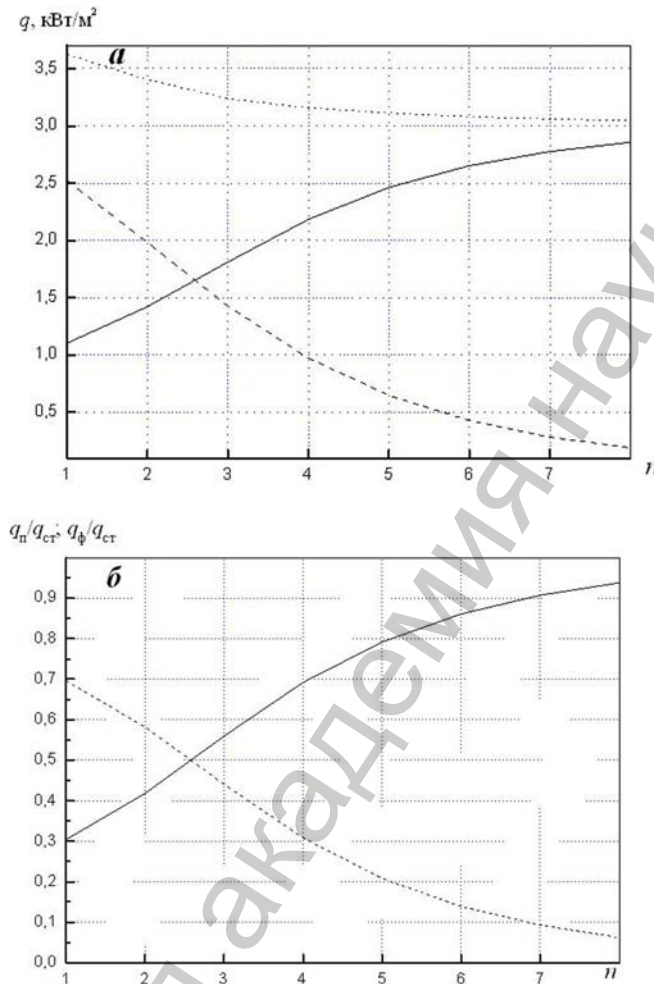


Рис. 4. Распределение удельных тепловых потоков (а) и соотношение тепловых потоков перегрева и фазового перехода (б) по рядам труб (штриховая линия – тепловой поток перегрева; сплошная линия – тепловой поток фазового перехода; пунктирная линия – суммарный тепловой поток)

ряду и на 32 °С в восьмом, что соответствует снижению тепловой мощности восьмого ряда на 18 % по сравнению с первым.

Распределение температуры насыщения парогазовой смеси на поверхности раздела фаз, приведенное на рис. 3, б, повторяет профили изменения концентрации водяных паров на поверхности раздела фаз. Как видно из графика, температура насыщения повышается по длине трубы по мере нагрева охлаждающей воды. На первом ряду на длине трубы ~ 3,8 м температура насыщения на поверхности раздела фаз возрастает до температуры точки росы парогазового потока на входе в аппарат, а на оставшейся части трубы конденсация во-

речным винтовым оребрением. Компоновка труб в пучке – шахматная с размещением труб по равностороннему треугольнику. Количество рядов труб по ходу парогазового потока – 8. Параметры труб: несущая труба стальная с надетой на нее алюминиевой трубой с накатанным оребрением, диаметр стальной трубы 16×1,5 мм, диаметр алюминиевой трубы по основанию ребра 18 мм, высота ребра 11 мм, толщина ребра 0,6 мм, шаг оребрения 3 мм, длина одной трубы 6 м.

Локальные распределения температуры парогазового потока и нагреваемой воды, а также температуры насыщения представлены на рис. 3. Из рис. 3, а видно, что при температуре дымовых газов на входе 150 °С на выходе из восьмого ряда она составляет в среднем 52 °С, что ниже возможной для продуктов сгорания точки росы на входе в аппарат (57,9 °С). На первом ряду температура парогазового потока снижается на 18–20 °С, а на восьмом – только на 3 °С. Вода нагревается на 38 °С в первом

дяных паров отсутствует. На втором и третьем ряду эта граница сдвигается в сторону увеличения длины, а четвертый и последующие ряды труб работают в конденсационном режиме уже по всей их длине.

Интегральные параметры, характеризующие соотношение тепловых потоков, отнесенных к полной поверхности оребренной трубы (рис. 4), показывают, что на первом и втором рядах основная часть общего теплового потока обусловлена конвективным теплообменом (60—70 %), на третьем ряду конвективный и конденсационный тепловые потоки сравнимы, а на 5—8 рядах конденсационный поток составляет соответственно 80—94 %. Суммарное значение теплового потока составляет 3 кВт/м<sup>2</sup> для восьмой трубы и 3,6 кВт/м<sup>2</sup> для первой трубы.

Были выполнены также расчеты по определению оптимальной высоты ребра для вариантов без конденсации водяных паров (входные температуры парогазового потока 250 °С, воды — 60 °С) и с конденсацией (соответственно температуры 150 °С и 20 °С). На рис. 5 представлена зависимость удельной массы трубного пучка ( $M/Q$ ) от относительной высоты ребра ( $h_p/d_n$ ) при относительных шаге ребер  $s_p/d_n = 0,167$ , толщине ребра  $\delta_p/d_n = 0,133$  и при наружном диаметре трубы у основания ребра  $d_n = 0,018$  м. Расчет проводился при постоянном шаге труб в шахматном пучке и одинаковом его аэродинамическом сопротивлении (83 Па). Из рис. 5 видно, что при указанных выше параметрах оребренной трубы минимальная масса трубного пучка теплообменника соответствует значениям  $h_p/d_n = 0,25—0,33$  для варианта без конденсации, а для конденсационного режима его значения смещаются в область  $h_p/d_n = 0,15—0,25$ .

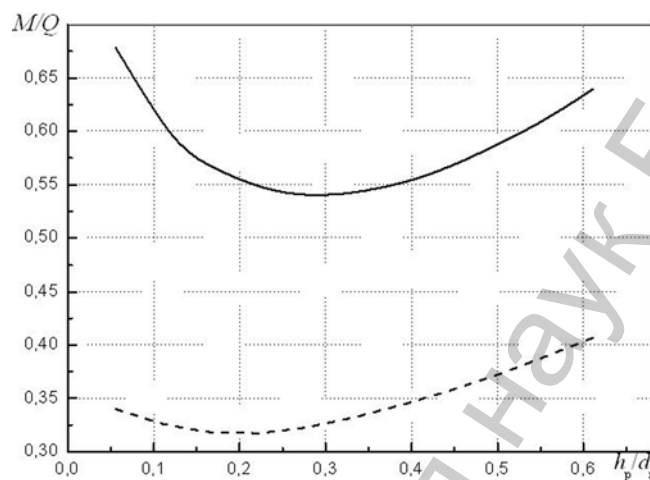


Рис. 5. Изменение удельной металлоемкости трубного пучка теплоутилизатора в зависимости от относительной высоты ребра (сплошная линия – «сухой» режим, пунктирная линия – конденсационный режим)

### Заключение

Разработанная математическая модель процесса тепло- и массопереноса при глубоком охлаждении продуктов сгорания топлива в поверхностном конденсационном теплоутилизаторе и созданная на ее базе компьютерная программа позволяют определять локальные параметры тепло- и массопереноса по длине каждой из труб и проводить оптимизацию параметров оребренных труб и трубного пучка теплоутилизатора в целом для конкретных термодинамических параметров охлаждаемых продуктов сгорания и нагреваемой воды.

Выполненные расчеты показали, что при входных температурах парогазового потока 150 °С и воды 20 °С на всей длине труб, начиная с четвертого ряда

трубного пучка происходит конденсация водяных паров. На первых трех рядах конденсация происходит только на части труб со стороны входа воды, а далее, по мере нагрева воды и, соответственно, повышения температуры стенки труб, конденсация прекращается, и оставшая часть этих труб работает в режиме охлаждения перегретого парогазового потока.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках проекта T07K-040.

### Обозначения

$c_p$  — удельная изобарная теплоемкость, Дж/(кг·К);  $d$  — диаметр трубы, м;  $dL$  — длина элемента поверхности  $dF$ , м;  $D_0$  и  $D_{12}$  — коэффициент диффузии кинематический при  $T_0 = 273,16$  К и температуре парогазового потока соответственно,  $m^2/c$ ;  $D_2$  — коэффициент диффузии динамический, кг/(м·с);  $F$  — поверхность,  $m^2$ ;  $G$  — расход, кг/с;  $h$  — высота, м; энтальпия, Дж/кг;  $i$  — номер ряда труб;  $j$  — номер элемента по длине трубы;  $k$  — коэффициент теплопередачи, Вт/( $m^2 \cdot K$ );  $L$  — длина, м;  $M$  — масса, кг;  $m$  — число элементов по длине трубы;  $m_{10}$  — молекулярная масса водяного пара;  $m_\Sigma$  — молекулярная масса парогазовой смеси;  $n$  — число рядов труб по глубине трубного пучка;  $P$  — давление, Па;  $Pr$  — число Прандтля;  $Q$  — тепловая мощность, кВт;  $q$  — тепловой поток, Вт/ $m^2$ ;  $s$  — шаг ребер, м;  $Sc$  — число Шмидта;  $T$  — температура, К;  $t$  — температура, °С;  $x$  — аксиальная координата;  $\alpha$  — коэффициент теплоотдачи, Вт/( $m^2 \cdot K$ );  $\beta$  — коэффициент массоотдачи, м/с;  $\Delta F$  — элемент поверхности,  $m^2$ ;  $\Delta L$  — длина расчетного элемента, м;  $\Delta i$  — теплота фазового перехода, Дж/кг;  $\varepsilon$  — точность;  $\varphi$  — коэффициент оребрения;  $\lambda$  — коэффициент теплопроводности, Вт/(м·К);  $\mu$  — коэффициент динамической вязкости, Па·с;  $\Pi$  — периметр, м;  $\rho$  — плотность, кг/ $m^3$ ;  $\rho_{k0}$  и  $\rho_{k0п}$  — относительная массовая концентрация неконденсируемого компонента в потоке и на поверхности раздела фаз соответственно;  $\rho_{10}$  и  $\rho_{10п}$  — относительная массовая концентрация водяного пара в потоке и на поверхности раздела фаз соответственно;  $\psi_p$  — отношение поверхности ребер к полной поверхности оребренной трубы. Индексы:  $k$  — неконденсируемый компонент в потоке;  $k0$  — неконденсируемый компонент на поверхности раздела фаз;  $лп$  — линия насыщения на поверхности раздела фаз;  $в$  — вода;  $п$  — парогазовый поток;  $н$  — наружный;  $р$  — ребро;  $ст$  — стенка трубы;  $\phi$  — фазовый переход;  $10$  — водяной пар в потоке; \* — новое значение величин; ' — конденсат; черта сверху — среднее значение.

### Литература

1. Ф и а л к о Н. М. и др. // Пром. теплотехника. 2008. Т. 30, № 3. С. 48–54.
2. Б а с к а к о в А. П. и др. // Пром. энергетика. 2005. № 9. С. 22–28.
3. Б а с к а к о в А. П., И л ь и н а Е. В. // ИФЖ. 2003. Т. 76, № 2. С. 88–93.
4. А р о н о в И. В. Контактный нагрев воды продуктами сгорания природного газа. Л., 1990.
5. Ж и х а р Г. И., З а к р е в с к и й В. А. // Энергетика: Изв. высш. учеб. заведений и энерг. объединений СНГ. 2007. № 4. С. 39–46.
6. М и х а л е в и ч А. А. Математическое моделирование массо- и теплопереноса при конденсации. Минск, 1982.
7. Справочник по теплообменникам: в 2 т. М., 1987. Т. 1 / Пер. с англ.; под ред. Б. С. Петухова, В. К. Шикова.
8. Д а н и л о в а Г. И., И в а н о в О. П., Х и ж н я к о в С. В. // Холодильная техника. 1968. № 6. С. 10–14.

V. I. BAYKOV, V. A. BORODULJA, V. L. MALEVICH, A. E. SINKEVICH  
ANALYSIS OF OPTIMUM PARAMETRES HEAT AND MASS TRANSFER  
IN A FINNED TUBES BUNDLE HEAT EXCHANGER AT THE EXPENSE  
OF COMBUSTION FLUE GASES DEEP COOLING

### Summary

The model for calculation of local heat and mass transfer parameters in a tube bundle of condensed heat using apparatus at the expense of deep cooling of the flue gases has been developed. The model allows receiving distribution of parameters condensing vapor-gas flow both on length of a pipe, and on depth of cross-section streamline tube bundle that gives the possibility of a choice and a justification of optimum geometrical characteristics of condensed heat using apparatus under various entrance thermodynamic parameters.

УДК 631.547:581.19:633.521

С. И. ВАКУЛА<sup>1</sup>, Л. В. КОРЕНЬ<sup>1</sup>,  
Л. М. ШОСТАК<sup>2</sup>, В. В. ТИТОК<sup>1</sup>

### ТЕРМОГРАВИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ СЕМЯН ЛЬНА КУЛЬТУРНОГО (*LINUM USITATISSIMUM* L.)

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

<sup>2</sup>Белорусский государственный технологический университет

(Поступила в редакцию 03.11.2008)

Экспериментально обоснована возможность использования термогравиметрического анализа в систематике, биохимии и физиологии льна культурного. Установлены оптимальные условия анализа валового содержания белка и масла во фракции семядолей с зародышем из семян льна. Сравнение данных о содержании биологически активных компонентов в семенах льна, полученных аналитическими методами Кьельдаля и Сокслета, с результатами физико-химической оценки состава семян подтверждает целесообразность использования термогравиметрического анализа. Выявлена достоверная корреляция величины энергии активации с содержанием насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в масле семян льна. Выявлено, что классификация сортов льна культурного на основании данных термогравиметрического анализа высокоэффективна и соответствует систематическому положению исследуемых образцов.

#### Введение

Популярность льна на рынке функциональных продуктов питания обусловлена его профилактическими и протекторными свойствами к ряду заболеваний сердечно-сосудистой и пищеварительной систем, гормонозависимым формам рака [1]. Лен столетиями использовался в качестве естественного лекарственного средства, цельные семена и продукты их переработки широко применяются для производства функциональных диетических продуктов и пищевых добавок. Физиологические эффекты льняного семени обусловлены высоким содержанием биологически активных соединений — масла,  $\alpha$ -линоленовой кислоты, лигнанов, растворимых полисахаридов и диетического белка (аминокислотный индекс ~69 [2]).

Получение информации о химическом составе биологических объектов — важный, наиболее трудоемкий этап современных исследований, предпосылка

создания новых технологий переработки и практического использования материалов растительного и животного происхождения. Важную группу методов исследования веществ составляют термоаналитические методы, в основе которых лежит изучение свойства образца при изменении температуры в заданных условиях [3]. Благодаря высокой чувствительности и объективности методы термического анализа получили широкое распространение в научных исследованиях и производственной практике. Эти методы позволяют получать ценную информацию о строении, составе и свойствах твердых тел и жидкостей различной природы, о физических и химических процессах, протекающих в них при нагревании и охлаждении [4; 5]. Применительно к биологии преимущество термогравиметрического анализа заключается в использовании минимальных навесок исследуемого материала и, следовательно, в возможностях анализа индивидуальных образцов — целостного организма, органа или ткани [6].

Динамическая термогравиметрия (ТГ) — метод термического анализа, регистрирующий изменение массы образца в зависимости от изменяемой по заданному закону температуры (например, с постоянной скоростью). Экспериментально получаемая кривая зависимости массы от температуры (термогравиметрическая кривая) характеризует термостабильность и свойства образца на начальных и промежуточных стадиях анализа, а также состав остатка. В случае фазовых переходов на кривой появляются пики или изломы. Большинство переходов сопровождается эндотермическими эффектами; экзотермичны лишь некоторые процессы окисления-восстановления и структурного превращения [7].

Целью нашего исследования являлось изучение возможности использования термогравиметрического анализа содержания основных запасных компонентов в семенах для скрининга и классификации изучаемых сортов и образцов льна культурного (*Linum usitatissimum* L.).

#### Материал и методы

Материал исследования — 19 сортов и сортообразцов льна масличного (*Linum usitatissimum* L. subsp. *usitatissimum* convar. *humile*) различного генетического и географического происхождения: Mivast, Atalante (Франция); Glenelg (Австралия); Linota, SU-1-10 (США); K 5827 (Уругвай); Gold Flax, McGregor, Somme, L 6582, Flanders (Канада); Sandra (from Dr M. Pavelek); Cyan (Польша); K 2398 (Китай); Воронежский, K 5627, Небесный (Россия); ЛМ-1, ЛМ-2 (Беларусь). Дополнительно были использованы сорта: Blue Chip, Deep Pink, K-6570, Antares, Sandra, Raluca, Flanders, Natasja, Liral Prince, Liral Crown, Wiera, Raisa, Liral Dominion, Stormont Gossamer, Hera, Marina, Cascade, предоставленные Plant Gene Resources of Canada. Экспериментальный материал получен на опытных полях Центрального ботанического сада НАН Беларуси.

Термогравиметрический анализ семян льна масличного (навеска 3,2—5,1 мг) проводили на термоанализаторе TA-4000 (модуль ТГ-50) (Mettler Toledo STARe System, Швейцария), в интервале 25—700 °С при скорости нагревания 5 °С/мин и расходе воздуха 200 мл/мин. Кривые потери массы рассчитаны при помощи программного обеспечения STARe.

Содержание белка в семенах определяли классическим микрометодом Кьельдаля [8]. Коэффициент пересчета содержания белка для семян масличных культур (подсолнечника, льна и хлопчатника) составляет 5,3 [9].

Определение содержания масла в семенах проводили экстракционным методом в аппарате Соклета смесью гексан : изопропанол (1 : 1) в течение 18—24 ч [10].

Экстракцию и определение жирных кислот осуществляли по модифицированному методу Welch на газожидкостном хроматографе Hewlett-Packard 4890D, оснащённом пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой HP-Innowax 0,32 мм × 30 м, размер носителя 0,5 мкм. Индивидуальные жирные кислоты идентифицировали по времени их удержания при разделении стандартных смесей (Supelco Parc, USA) и оценивали в процентах от весового суммарного содержания по отношению к внутреннему стандарту [11].

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Statistica 7.0 (StatSoft, США).

### Результаты и обсуждение

Экспериментально получаемая кривая зависимости изменения массы от температуры (ТГ) позволяет судить о термостабильности и составе целостного семени льна в начальном состоянии, о термостабильности промежуточных продуктов деградации и остаточной зольности в температурном диапазоне 25—700 °С (рис. 1). Дифференциально-термогравиметрическая кривая (ДТГ) позволяет более полно определять температуры начала и окончания реакции и по ее пику судить о температуре максимальной скорости реакции горения.

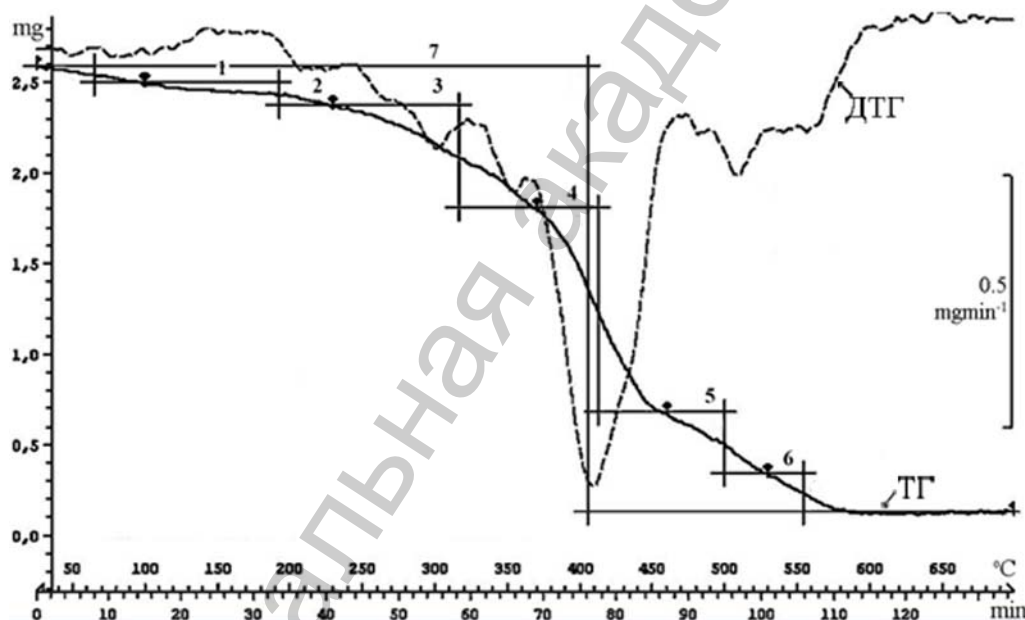


Рис. 1. Термогравиметрический анализ льняного семени сорта Atalante. «—» — кривая потери массы (ТГ); «- -» — дифференциальная кривая потери массы (ДТГ). Интервалы термодеструкции компонентов льняного семени (в °С): 1 — вода 25—100; 2 — низкомолекулярные белки 100—230; 3 — основная белковая фракция 230—370; 4 — жирные кислоты 370—460; 5 — нуклеотиды 460—530; 6 — лигнины 530—700; 7 — диапазон термодеструкции льняного семени 25—700

Анализ кривой ДТГ показал, что при сгорании цельных семян (рис. 1) на первом этапе термодеструкции из образца удаляется вода (1, 25—100 °С), затем последовательно распадаются протеины (3, 230—370 °С), жирные кислоты (4, 370—460 °С), нуклеотиды (5, 460—530 °С) и соединения лигнинового ряда (6, 530—700 °С). Оставшийся зольный остаток используется для анализа микроэлементного состава семян льна. Анализ особенностей ТГ кривой проводят по дополнительному графику — кривой ДТГ, представляющей собой график изменения кинетических параметров в процессе терморазложения исследуемых образцов [12].

Исходя из того, что потеря массы вещества при горении подчиняется уравнению кинетики первого порядка и соблюдается линейная зависимость —  $\ln 100/100-\Delta m$  от  $T(K)$ , расчет энергии активации ( $E_a$ ) проводили по методу А. Broido [12], основанному на математической обработке кривой ТГ:

$$\ln (\ln 100/100-\Delta m) = E_a/R + 1/T + C,$$

где  $\Delta m$  — потеря массы в %,  $T$  — температура в К,  $R$  — универсальная газовая постоянная,  $E_a$  —  $\text{tg } \varphi - 8.31$ ,  $C$  — постоянная.

Для выбора оптимальных условий ТГ анализа семян льна были исследованы теплофизические свойства цельного льняного семени, семядолей с зародышем — интактных и обезжиренных, семенных оболочек льна. Обезжиривание семядолей проводилось многократной экстракцией гексаном. Анализ данных сжигания семядолей и семенных оболочек подтверждает представления о преобладании в семядолях жиров, а в оболочке семян полисахаридных и белковых компонентов [13]. Диапазоны горения основных белковых компонентов семядолей льна соответствуют таковым для риса, пшеницы и сои [14], что доказывает сходство биофизических параметров запасных белков семян. На рис. 2 представлены ТГ и ДТГ кривые сжигания целостных и обезжиренных семядолей. Удаление липидов приводило к изменению характера ТГ и ДТГ кривых, что свидетельствует об изменении состава компонентов, подвергнутых термодеструкции. При сжигании обезжиренных семядолей (рис. 2, А) отмечено, что относительное снижение содержания липидов приводило к снижению пика ДТГ с максимумом 410 °С, соответствующего температурам термодеструкции триацилглицеролов. Соответственно увеличился компонент с максимумом горения при 297 °С, отражающий возрастание удельной доли белковых компонентов, содержание которых в семядолях льна маслячного достигает 25 % от сырой массы семени. На ДТГ кривой цельных семядолей эндотермические изломы белковых компонентов (~230—370 °С) выражены нечетко, также слабо выражены эндотермические пики нуклеиновых кислот и лигниноподобных компонентов семян (рис. 2, Б).

Соотношение ключевых запасных компонентов семян — протеинов и жирных кислот в семядолях и оболочках семян льна различается [13]. Основную запасующую функцию выполняют семядоли, достаточно плотная семенная оболочка пронизана по всему объему полисахаридными компонентами [15] и значительно затрудняет диффузию кислорода по всему объему сгорания семени. Таким образом, представляется логичным анализировать валовое содержание компонентов не по их содержанию в целостных семенах, а во фракции

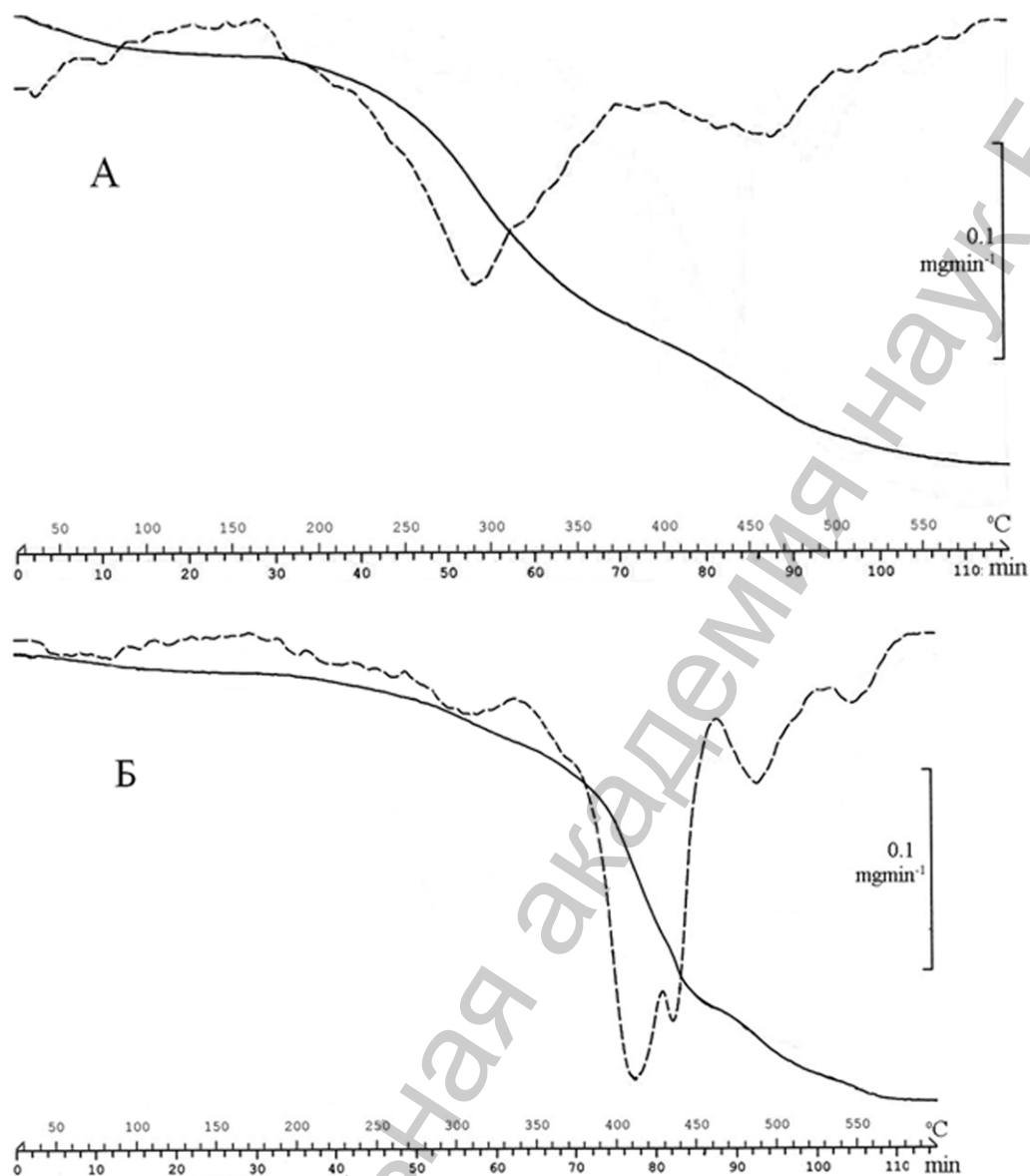


Рис. 2. Термогравиметрический анализ обезжиренных (А) и целостных (Б) семян сорта Небесный. «—» — кривая потери массы (ТГ); «- -» — дифференциальная кривая потери массы (ДТГ)

семян с зародышем. По этой же причине и анализ отдельно взятых оболочек семян льна масличного методом термогравиметрического анализа нецелесообразен. Поэтому для дальнейших исследований были использованы навески семян с зародышем.

В таблице представлены данные по содержанию белка и масла в семенах сортов льна масличного, полученные при термогравиметрическом определении

содержания основных компонентов семени льна масличного в сравнении с данными, полученными на том же растительном материале микрометодами Кьельдаля и Сокслета.

Приведенные результаты свидетельствуют о высокой степени сходимости содержания масла и белка в семенах, определенных физико-химическим и аналитическим методами, что подтверждается статистически. Коэффициент корреляции между содержанием белка, полученным методом ТГ и классическим аналитическим методом Кьельдаля, отличающимся наибольшей точностью, составил 0,80; между содержанием масла, полученным в аппарате Сокслета и ТГ методом, равен 0,71 (достоверно при  $P < 0,01$ ). Полученные результаты указывают на целесообразность использования термогравиметрического анализа для определения содержания биологически активных компонентов в семенах льна масличного.

Т а б л и ц а. Содержание масла и белка (%) в семенах образцов льна масличного по данным термогравиметрического анализа (ТГ) и аналитических методов Кьельдаля (К) и Сокслета (С) (приведены средние величины из трех биологических повторностей)

Сорт	Масло		Белок	
	ТГ	С	ТГ	К
К-2398	43,73	41,16	20,46	19,54
Glenelg	44,48	42,07	22,26	22,30
Linota	44,93	40,25	22,12	21,15
Л-6582	45,01	44,42	20,30	20,10
Воронежский	45,08	42,85	20,63	21,51
Gold Flax	45,25	46,00	20,13	20,49
Atalante	46,42	46,27	21,21	22,05
Flanders	46,65	45,46	21,23	20,96
Omega	46,79	45,48	21,92	21,44
SU-1-10	47,07	46,24	20,71	20,47
Mc Gregor	47,35	45,51	21,68	20,70
Somme	47,48	46,86	22,15	22,08
Sandra	47,61	44,24	22,72	22,58
ЛМ- 1	47,82	51,22	20,36	20,29
ЛМ -2	48,25	50,34	20,39	20,46
К-5827	48,96	47,31	22,70	23,01
Небесный	51,15	47,19	20,06	20,24
К-5627	51,34	49,43	21,85	20,67
Циан	52,21	47,77	20,08	20,70

Энергия, затраченная на термодеструкцию жирнокислотного компонента семени, может являться косвенной характеристикой качественного состава льняного масла. Выявлены достоверная обратная зависимость значений  $E_a$  с содержанием насыщенных жирных кислот и достоверная зависимость величин  $E_a$  с уровнем ненасыщенных жирных кислот в масле сортов льна (рис. 3, 4). Таким образом, образцы с высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот в масле характеризуются более высоким значением энергии активации.

Жирнокислотный состав льняного масла определяется генотипом исследуемого образца и влиянием окружающей среды. Сравнительный анализ жирнокислотного состава масла из семян льна урожая различных лет показал, что содержание ненасыщенных жирных кислот в масле сортов 2006 г. были ниже, чем в семенах 2004 г. Среднее значение  $E_a$  сжигания триацилглицеролов в 2006 г. также ниже значений 2004 г. —  $81,89 \pm 1,32$  и  $70 \pm 1,05$  соответственно. Высокие величины  $E_a$  и содержание ненасыщенных жирных кислот характерны для сортов Циан, К-5627. Низкие величины  $E_a$  в оба года исследования отмечены у сортов Glenelg, ЛМ-1, ЛМ-2, SU-1-10, К-6570, которые наряду с невысоким общим содержанием характеризуются низким содержанием ненасыщенных жирных кислот в масле семян. Графическое сравнение исследуемых параметров представлено на рис. 5.

Термогравиметрический анализ характеризуется высокой точностью, позволяет получать данные о химическом составе семени и использовать для этого микронавески для проведения анализа материала с одного растения льна, что имеет важное значение в селекционно-генетических исследованиях. Результаты ТГ можно использовать не только для анализа состава се-

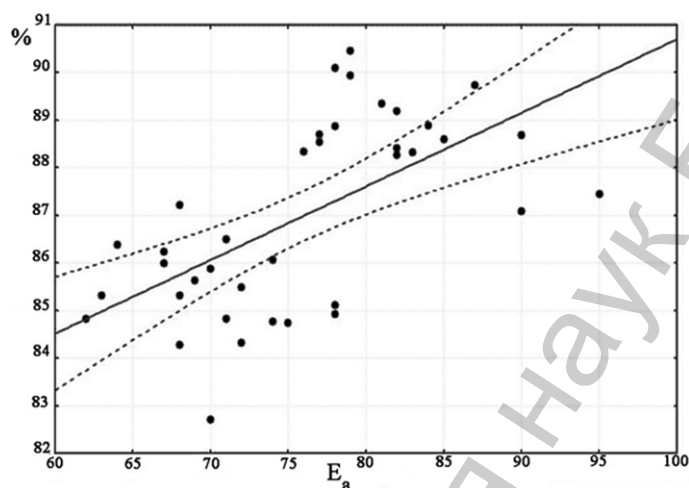


Рис. 3. Высокодостоверная корреляция ( $0,61$ ;  $p = 0,0004$ ), обнаруженная между значениями энергии активации ( $E_a$ ) и содержанием ненасыщенных жирных ( $NS\%$ ) кислот 19 сортов льна урожаев 2004 и 2006 гг. Зависимость можно приблизительно описать линейным уравнением  $NS = 75,244 + 0,155E_a$ . Границы доверительного интервала соответствуют  $p = 0,05$

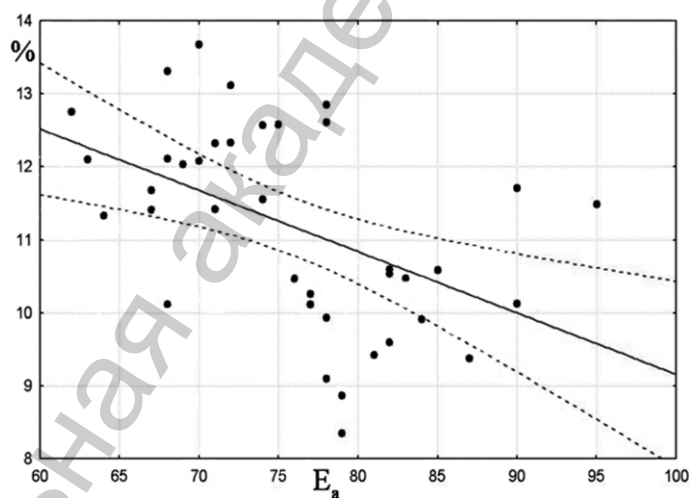


Рис. 4. Высокодостоверная корреляция ( $r = -0,49$ ;  $p = 0,002$ ), обнаруженная между значениями энергии активации ( $E_a$ ) и содержанием насыщенных жирных ( $N\%$ ) кислот 19 сортов льна урожаев 2004 и 2006 гг. Зависимость можно приблизительно описать линейным уравнением  $N = 17,559 - 0,084 E_a$ . Границы доверительного интервала соответствуют  $p = 0,05$

мян, но и для классификации образцов льна по комплексу определяемых признаков.

Для классификации был применен кластерный анализ на основе алгоритма объединения (древовидная кластеризация). К основным систематическим признакам семян льна относятся их размер, содержание и состав масла [16]. Зольность косвенно связана с размером семени. Опосредованными ТГ характеристиками жирнокислотного компонента являются  $E_a$  и массовая доля фрак-

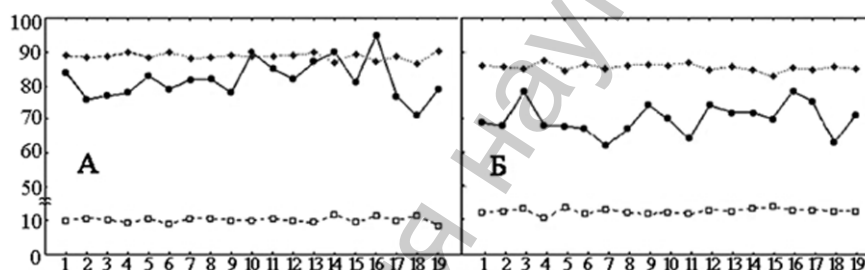


Рис. 5. Энергия активации ( $E_a$ ) и состав жирнокислотного компонента семян 19 сортов льна масличного: 1 — Atalante, 2 — Glenelg, 3 — Gold Flax, 4 — Linota, 5 — McGregor, 6 — Omega, 7 — Sandra, 8 — Somme, 9 — Воронежский, 10 — К-5627, 11 — К-5827, 12 — ЛМ-1, 13 — ЛМ-2, 14 — Небесный, 15 — SU-1-10, 16 — Циан, 17 — Л-6582, 18 — К-6570, 19 — Flanders в различные годы анализа. А — 2004 г.; Б — 2006 г.  $\blacklozenge$  — % ненасыщенных жирных кислот;  $\square$  — % насыщенных жирных кислот;  $\bullet$  — энергия активации ( $E_a$ )

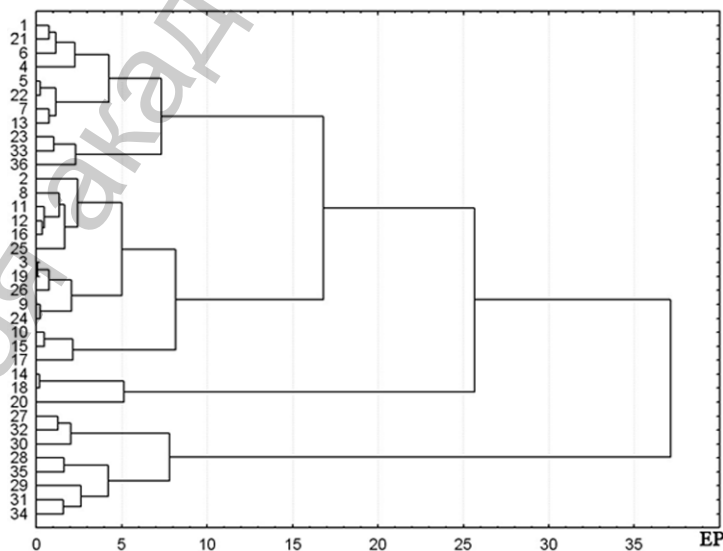


Рис. 6. Кластерный анализ сортов льна культурного: 1 — Antares, 2 — Atalante, 3 — Blue Chip, 4 — Glenelg, 5 — Gold Flax, 6 — Deep Pink, 7 — Linota, 8 — McGregor, 9 — Omega, 10 — Raluca, 11 — Sandra, 12 — Somme, 13 — Воронежский, 14 — К-5627, 15 — К-5827, 16 — ЛМ-1, 17 — ЛМ-2, 18 — Небесный, 19 — SU-1-10, 20 — Циан, 21 — К-2398, 22 — Л-6582, 23 — К-6570, 24 — Flanders, 25 — Mivast, 26 — Flanders, 27 — Natasja, 28 — Wiera, 29 — Liral Dominion, 30 — Liral Crown, 31 — Stormont Gossamer, 32 — Liral Prince, 33 — Cascade, 34 — Hera, 35 — Raisa, 36 — Marina. EP — Евклидово расстояние

ции, сгорающей при 370—460 °С (температура деструкции липидов). По данным этих трех характеристик (зольность, содержание масла, энергия активации) была построена дендрограмма кластеризации (рис. 6). В работе использованы 36 сортов, из которых 26 — кудряши (лен масличный), 2 — промежуточные формы (лен-межеумок) и 8 — лен-долгунец.

Мелкосемянные, низкомасличные долгунцы (Natasja, Liral Prince, Liral Crown, Wiera, Raisa, Liral Dominion, Stormont Gossamer, Hera) образуют кластер, удаленный на 37,1 евклидовой единицы от сложного кластера, образованного 28 масличными формами. Большой кластер образован 2 подкластерами, из которых наиболее информативен малый, состоящий из 3 сортов подкластер, характеризующийся максимальным содержанием масла и крупным размером семян (Циан, Небесный и К-5627). Размер большого кластера составляет 24 единицы, крайние сорта Циан и Marina относятся к масличным и промежуточным формам соответственно. Сорта Cascade и Marina, относящиеся к межеумкам, удалены от кластера долгунцов на 13,1 единицы. Полученные результаты, по нашему мнению, свидетельствуют, что использование данных термогравиметрического анализа для классификации льна культурного по признакам семян высокоэффективно и соответствует систематическому положению исследуемых образцов.

### Заключение

Применение термогравиметрического анализа химического состава семян льна позволяет одновременно получить данные о содержании всех основных запасных веществ семени: белка, масла, нуклеиновых кислот, лигнинов, а также оценить содержание влаги и зольных элементов. Оптимальными условиями проведения опыта является сжигание семядолей с зародышами без оболочек в температурном диапазоне 25—700 °С. Высокая эффективность и достоверность анализа подтверждается сравнением результатов ТГ с данными, полученными аналитическими методами (микрометоды Кьельдаля и Сокслета). Использование результатов термогравиметрии для классификации изучаемых образцов позволяет дифференцировать долгунцовые и масличные формы льна культурного. Кластерная диаграмма, построенная по признакам термогравиметрического анализа, соответствует систематическому положению исследуемых образцов.

Таким образом, инструментальный метод термогравиметрического анализа позволяет дифференцировать исследуемые образцы в соответствии со стандартными технологическими характеристиками качества семян льна культурного. Величина энергии активации процесса термодеструкции масла отражает содержание жирных кислот у исследуемых образцов и позволяет судить о наличии примесей. Термогравиметрический анализ, по нашему мнению, может служить надежным и воспроизводимым методом оценки содержания биологически активных компонентов, позволяет количественно охарактеризовать особенности термической дегградации масла и белка в семенах льна. Использование термических методов в биологии позволяет не только получить ценную информацию о составе и свойствах изучаемых объектов, но и эффективно

проводить их классификацию и анализировать возможности практического использования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б06-045).

### Литература

1. M a z z a G., O o m a h D. // Flaxseed in Human Nutrition. Champaign IL. 1995. P. 56—81.
2. O o m a h B. D. // J. Sci. Food Agric. 2001. Vol. 81, № 8. P. 889—894.
3. М а й о р о в а А. Ф. // Соросовский образовательный журн. 1998. № 10. С. 50—54.
4. У э н д л а н д т У. // Термические методы анализа. М., 1978. С. 145—212.
5. П и л о я н О. Г. Введение в теорию термического анализа. М., 1964. — 218 с.
6. Л е о н т ь е в В. Н. и др. // Материалы, технологии, инструменты. 2005. Т. 10, № 4. С. 109—115.
7. Ш е с т а к Я. Теория термического анализа. М., 1987. — 328 с.
8. П е т р о в К. П. // Методы биохимии растительных продуктов. Киев, 1978. С. 224.
9. D a u n J. K., D e s l e r s q D. R. // Proceedings of the 55th Meeting of the Flax Institute of the United States. Fargo North Dakota. 1994. P. 192—200.
10. AOAC Official Methods of Analysis. 14th ed. Arlington. VA. 1984. P. 507.
11. W e l c h R. W. // J. Sci. Food Agr. 1977. Vol. 28, № 4. P. 635—638.
12. П р о к о п ч у к Н. Р. Кинетический принцип прогнозирования зависимости механических свойств волокон и пленок от их химического строения и состава: Автореф. ... д-ра хим. наук. Киев, 1989. — 34 с.
13. Х и б х е н о в Л. В., С п е р а н с к и й В. В. Практикум по анатомии пищевого сырья: Учеб. пособие. Улан-Уде, 2007. — 72 с.
14. M a g o s h i J., B e c k e r M. A., N a k a m u r a S. // J. Therm. Anal. Calor. 2002. Vol. 70, № 6. P. 833—839.
15. W a n n e r b e r g e r K., N y l a n d e r T., N y m a n M. // Acta Agric. Scand. 1991. Vol. 41. P. 311—319.
16. D i e d e r i c h s e n A., R a n e y J. P. // Plant Breeding. 2006. Vol. 125. P. 372—377.

*S. I. VAKULA, L. V. KOREN, L. M. SHOSTAK, V. V. TITOK*

### **THERMOGRAVIMETRIC ANALYSIS OF FLAXSEED (*LINUM USITATISSIMUM* L.) BIOLOGICALLY ACTIVE COMPONENTS**

### **Summary**

Possibilities and application of differential thermogravimetric analysis (TG) in flax biology studies were analyzed. TG analysis is a very effective and informative method of components study in biology. TG optimal conditions of flaxseed analysis were experimentally established (test of cotyledon-embryo fraction). Comparison of data of Kjeldal and Soxlet with TG results corroborates validity of thermal analysis in estimating flaxseed composition. Significant correlation between EA values and contents of the saturated/unsaturated fatty acids was revealed. Flax cultivar classification based on TG data was revealed as highly effective and corresponding to systematic position of investigated samples.

УДК 577.152.193+582.284.237

А. Н. ЕРЕМИН<sup>1</sup>, М. В. ПОТАПОВИЧ<sup>1</sup>,  
О. М. ОСОКА<sup>2</sup>, Р. В. МИХАЙЛОВА<sup>2</sup>

## ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ГРИБА *PHELLINUS ROBUSTUS* К В ОКИСЛЕНИИ ПИРОГАЛЛОЛА И ТЕТРАМЕТИЛБЕНЗИДИНА В ВОДНОЙ И ВОДНО-ОРГАНИЧЕСКОЙ СРЕДЕ

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси,

<sup>2</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 19.10.2007)

Показано, что пероксидаза культуральной жидкости (КЖ) гриба *Ph. robustus* К с высокой эффективностью окисляет пирогаллол и тетраметилбензидин (ТМБ) в буферном растворе и смеси вода—диметилформамид (ДМФ) в сравнении с пероксидазой из корней хрена (ПХ). КЖ, освобожденная от белков, повышает операционную стабильность ПХ, но снижает ее термостабильность выше температуры 50 °С. КЖ защищает пероксидазу гриба от инактивации под действием ДМФ, который ингибирует пероксидазу гриба в окислении ТМБ по смешанному типу: с ростом содержания ДМФ увеличивается константа Михаэлиса и уменьшается эффективность окисления ТМБ, характеризуемая отношением  $V_{\text{макс}}/K_m$ . ДМФ в меньшей степени ингибирует каталитическую активность пероксидазы гриба в сравнении с ПХ. Додесульфат натрия (ДСН) снижает операционную стабильность и скорость окисления ТМБ в присутствии грибной пероксидазы в смеси вода—ДМФ, но благоприятно влияет на эти характеристики фермента в 30 мМ универсальном буфере, рН 8. Сульфат аммония активирует по смешанному типу окисление пирогаллола в 10 мМ ЦФБ, рН 4,5, в присутствии пероксидазы гриба, а хлорид и роданид аммония ингибируют этот процесс. Активность и операционная стабильность пероксидазы гриба не меняются при многократном замораживании и размораживании КЖ. Внеклеточную пероксидазу *Ph. robustus* К можно использовать в практических целях в виде неочищенных и частично очищенных препаратов, включающих фенольные и полифенольные соединения КЖ.

### Введение

В настоящее время активно исследуются мицелиальные грибы как источники экзопероксидаз, которые можно использовать в природоохранных технологиях [1—4], медицине [5—7], пищевой [6; 8], текстильной [5; 9; 10] и химической [11] промышленности. запатентованы способы получения внеклеточных

пероксидаз базидиомицетов *Cerrena maxima* [12], *Coprinus cinereus* [13], *Coprinus macrorhizus* [14]. Фирма «Suntory» (Япония) осуществляет промышленное производство пероксидазы *Arthromyces ramosus* [15].

В результате исследования мицелиальных грибов, проведенного в Институте микробиологии НАН Беларуси [16], отобран дереворазрушающий базидиомицет *Phellinus robustus* К как наиболее активный продуцент внеклеточной пероксидазы. Основным фенолоксиляющим ферментом *Ph. robustus* К является пероксидаза (КФ 1.11.1.7) [17]. В зависимости от вида посевного материала и способа культивирования *Ph. robustus* К продуцирует 1, 2 или 3 молекулярные формы экзопероксидазы [18].

Пероксидазы некоторых ксилотрофных базидиомицетов образуют прочные комплексы с фенольными соединениями культуральной жидкости (КЖ) [19]. В фенольной фракции *Inonotus radiatus* обнаружены ферруловая, протокатеховая и ванилиновая кислоты [20]. Многоэтапное удаление фенольных производных КЖ ведет к частичной инактивации пероксидазы *I. radiatus* [21]. В КЖ *Phellinus igniarius* также содержатся ярко окрашенные пигменты [22; 23]. Считают [22; 23], что они являются полимерными продуктами окисления субстратов пероксидаз. Пигменты обратимо ингибируют фермент, так как по мере их удаления в ходе очистки пероксидазы *Ph. igniarius* наблюдалось увеличение активности фермента [22; 23]. Однако в комплексе с пигментами экзопероксидазы грибов более стабильны, чем очищенный фермент. Неочищенный фермент можно замораживать, размораживать и хранить в замороженном виде несколько лет без потери пероксидазной активности. В то же время частично очищенная пероксидаза *Ph. igniarius* в растворе 1 М NaCl теряет 90 % активности при однократном замораживании и оттаивании. Применение этой процедуры к высокоочищенным пероксидазам *Ph. igniarius* и *A. ramosus* ведет к их полной инактивации [22; 23]. Описанные в литературе гомогенные препараты пероксидаз грибов характеризуются довольно низким содержанием гема при высоком содержании апофермента [20; 22]. Учитывая сложность очистки и низкую стабильность очищенных грибных пероксидаз [20–22], целесообразно применение частично очищенных препаратов, включающих фенольные и полифенольные соединения КЖ. Такие препараты могут найти применение в природоохранных технологиях [1–4], текстильной и химической промышленности [5; 9–11].

Цель работы — изучить пероксидазное окисление пирогаллола и 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) в присутствии КЖ *Ph. robustus* К в буферном растворе и смесях вода—диметилформамид (ДМФ), содержащих додецилсульфат натрия (ДСН) и соли аммония.

#### Объекты и методы исследования

В работе использовали пероксидазу из корней хрена (ПХ; КФ 1.11.1.7) с оптическим показателем чистоты  $RZ = 1,7$  производства «Биолар» (Олайне, Латвия) и КЖ гриба *Ph. robustus* К (табл. 1), содержащую внеклеточную пероксидазу. Культура базидиомицета *Ph. robustus* К предоставлена заведующей лабораторией микологии ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» доктором биол. наук В. Г. Бабицкой.

Т а б л и ц а 1. Характеристика образцов КЖ, использованных в работе

Образец КЖ	Среда и продолжительность культивирования	pH	[Белок], мкг/мл	Активность, ед/мл [26]
КЖ-1	25 %-ное пивное сусло, 10 сут	3,8	110,3	21,5
КЖ-2	Среде Линденберга с 0,5 % глюкозы, 20 сут	5,5	39,5	99,3
КЖ-3	Среда Линденберга с 0,5 % глюкозы, 10 сут	3,7	25,6	23,5
КЖ-4	Среда Линденберга с 0,5 % глюкозы, 10 сут	3,7	22,0	22,2

П р и м е ч а н и е. КЖ-1 хранили в холодильнике в незамороженном виде; КЖ-3 и КЖ-4 получены при культивировании гриба в присутствии бензойной кислоты или ее гидрокси- и метоксипроизводных и хранились в замороженном виде. Перед использованием в работе КЖ размораживали, а затем фильтровали.

КЖ получена при культивировании гриба поверхностным способом в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 50 мл 25 об.% пивного сусла (КЖ-1) или среды Линденберга [24] (КЖ-2, -3 и -4) при 26 °С в течение 10–20 сут. На 50 мл питательной среды приходилось 10 мл посевного материала, полученного в 2 этапа: 1) колбы Эрленмейера объемом 1 л с 10 г пшеничных отрубей, увлажненных 30 мл 25 %-ного пивного сусла, заседали 10 мл мицелиальной суспензией гриба, используя 3–4 пробирки со скошенным сусло-агаром + 80 мл 25 %-ного пивного сусла (культивирование 7 сут при 26 °С); 2) затем в колбу с твердофазной культурой добавляли 500 мл стерильного 25 %-ного пивного сусла и гриб выращивали глубинно (культивирование 4 сут на качалке при 120 об/мин и 26 °С). По окончании культивирования биомассу гриба отделяли фильтрованием и в работе использовали фильтрат КЖ. В табл. 1 приведены характеристики образцов КЖ, использованных в исследовании. Белок в КЖ оценивали по Бредфорд [25].

В качестве субстратов пероксидаз применяли H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> («Реахим», Россия), пирогаллол, солянокислый ТМБ (ТМБ-НСl) («Sigma», США), ТМБ («Serva», Германия). Ферментативное окисление субстратов проводили при температуре 25 °С в водном и буферном растворах. Перечень компонентов реакционной среды и их концентрации указаны в подписях к рисункам и в заголовках таблиц. За накоплением продуктов окисления пирогаллола (430 нм) и ТМБ (450 и 655 нм) следили спектрофотометрически на приборах Spekol 211 (Германия) и СФ-46 (Россия). При расчете начальной скорости и концентрации продуктов окисления пирогаллола и ТМБ использовали молярные коэффициенты поглощения  $\epsilon_{430} = 2470$  (пурпурогаллин) [26],  $\epsilon_{450} = 59\,000$  (хинондиимин) и  $\epsilon_{655} = 39\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$  (мерииноидный комплекс) [27] соответственно. Операционную стабильность грибной и растительной пероксидаз характеризовали эффективной константой скорости  $k_{ин}$ , с<sup>-1</sup>, которую определяли графически [28] — по величине отрезка, отсекаемого на оси абсцисс прямой в координатах «1/[P] — 1/t», где [P] — концентрация продуктов окисления пирогаллола и ТМБ в М, t — время, с.

### Результаты и их обсуждение

На рис. 1, а показано влияние концентрации белка КЖ-2 (2), КЖ-3 и КЖ-4 (1) на начальную скорость пероксидазного окисления пирогаллола (1) и ТМБ-НСl (2) в ЦФБ, pH 4,5. Как видно, зависимости линейны в широком диапазоне концентраций белка; скорость окисления ТМБ-НСl при добавлении КЖ-2 в реак-

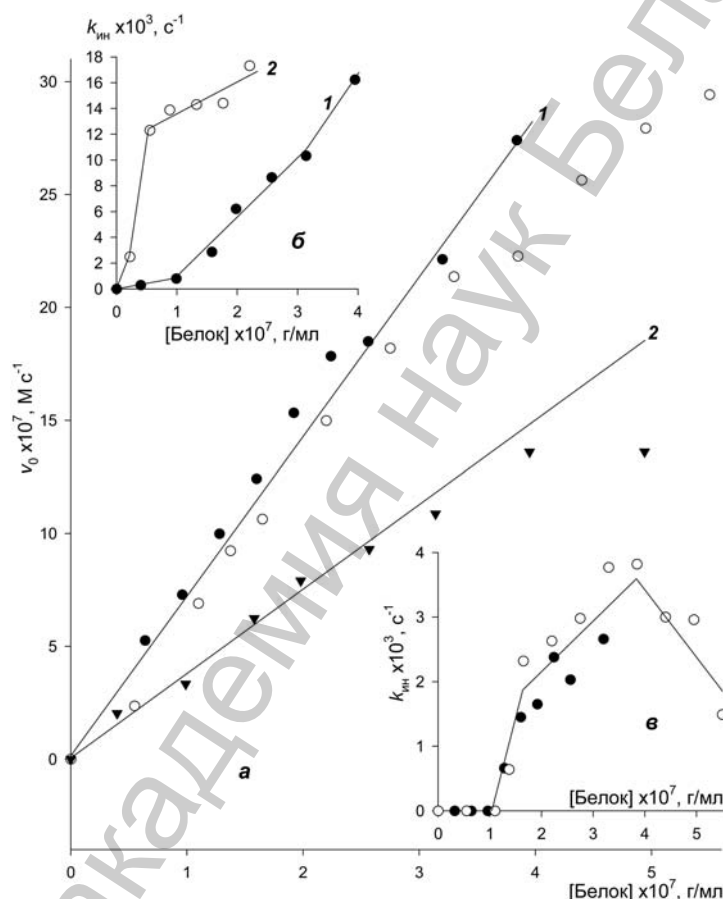


Рис. 1. Влияние концентрации белка КЖ на начальную скорость (а) и операционную стабильность пероксидазы гриба (б, в) при окислении 0,4 мМ пирогаллола (1) и 1,0 мМ ТМБ·НСl (или ТМБ) в присутствии 1,5 мМ  $H_2O_2$  в 10 мМ ЦФБ, рН 4,5. а: 1 — КЖ-3 (черные) и КЖ-4 (белые точки), 2 — КЖ-2; б: 1 — КЖ-2, 2 — КЖ-1; в: КЖ-3 (черные) и КЖ-4 (белые точки)

ционную среду ниже, чем пирогаллола при использовании КЖ-3 и КЖ-4. Зависимость  $v_0$  от концентрации пирогаллола и ТМБ хорошо описывается уравнением Михаэлиса—Ментен. В табл. 2 приведены кинетические характеристики пероксидазного окисления этих восстанавливающих субстратов КЖ *Ph. robustus* К в зависимости от состава реакционной среды. ТМБ в смеси вода—10 % ДМФ окисляется пероксидазой гриба более эффективно, чем его солянокислая форма в 10 мМ ЦФБ, рН 4,5. Повышение активности фермента связано с тем, что в смеси вода—ДМФ хорошо растворяются ТМБ и фенольные компоненты КЖ. Возможно, отличия связаны с разным качеством образцов КЖ-1, с одной стороны, и КЖ-2, -3 и -4 — с другой, полученных разными способами (табл. 1).

При использовании пероксидаз для освобождения сточных вод от фенольных и хлорированных ароматических соединений [3; 4], в органическом синтезе [11; 29], в ферментативных аналитических системах [30; 31], в составе моющих

средств [5; 8] неизбежен контакт фермента с органическими растворителями и поверхностно-активными веществами (ПАВ). В связи с этим подробно изучено влияние ДМФ и ДСН на пероксидазную активность КЖ *Ph. robustus* К.

Т а б л и ц а 2. Кинетические характеристики пероксидазного окисления пирогаллола и ТМБ в присутствии КЖ *Ph. robustus* К

Среда	Субстрат	Белок, мкг/мл (КЖ)	$K_M \cdot 10^4$ , М	$(V_{\text{макс}}/K_M) \cdot 10^4$ , с <sup>-1</sup>
10 мМ ЦФБ, рН 4,5	0,02–0,8 мМ пирогаллол 1,5 мМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1,3 (КЖ-3)	3,55	35,0
		1,4 (КЖ-4)	2,86	39,4
6 % ДМФ, рН ~6	0,04–0,5 мМ ТМБ 1,0 мМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,2 нМ ПХ	0,27–0,32	85,8–94,9
10 % ДМФ	0,13–4,0 мМ ТМБ 1,0 мМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,9 (КЖ-1)	0,63	85,2
30 % ДМФ	0,13–4,0 мМ ТМБ 1,0 мМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,9 (КЖ-1)	2,55	13,9
50 % ДМФ	0,13–4,0 мМ ТМБ 1,0 мМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,9 (КЖ-1)	5,04	2,7
10 мМ ЦФБ, рН 4,5, 0,9 М (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,02–0,8 мМ пирогаллол 1,5 мМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1,3 (КЖ-3)	1,46–2,13	88,5–119,5
10 мМ ЦФБ, рН 4,5, 0,9 М NH <sub>4</sub> Cl	0,02–0,8 мМ пирогаллол 1,5 мМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1,3 (КЖ-3)	2,13	19,2
10 мМ ЦФБ, рН 4,5, 0,9 М NH <sub>4</sub> SCN	0,02–0,8 мМ пирогаллол 1,5 мМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1,3 (КЖ-3)	0,16	6,3

На рис. 2, а показано влияние концентрации ДМФ в водной среде на начальную скорость окисления ТМБ пероксидазой гриба, содержащийся в КЖ-1 и ПХ. За окислением ТМБ следили по изменению поглощения на длинах волн 450 и 655 нм, т. е. за накоплением конечного (хинондиимин) и промежуточного (мерихиноидный комплекс) продуктов реакции соответственно [27]. Видно, что при низких концентрациях ДМФ в среде наблюдается быстрое накопление мерихиноидного комплекса (1), в отличие от хинондиимина (2). В то же время при высоких концентрациях ДМФ скорость образования конечного продукта выше скорости накопления промежуточного. Ранее показано, что ДМФ значительно снижает активность ПХ [32]. Аналогичные данные получены и в нашем исследовании (3). ДМФ снижает каталитическую активность пероксидазы гриба (1), однако в меньшей степени, чем ПХ. Если принять активность ПХ и пероксидазы гриба в присутствии 5 % ДМФ за 100 %, то при концентрации ДМФ, равной 10 %, активность пероксидазы *Ph. robustus* К практически не изменилась, а ПХ уменьшилась в 1,4 раза. При наличии в воде 20, 30 и 40 % ДМФ активность ПХ уменьшилась в 2,0; 3,4 и 6,4 раза, а пероксидазы гриба — в 1,2; 1,6 и 2,8 раза соответственно. По-видимому, фенольные соединения, содержащиеся в КЖ-1, защищают пероксидазу *Ph. robustus* К от инактивации под действием ДМФ.

Из данных табл. 2 следует, что с ростом содержания ДМФ увеличивается константа Михаэлиса и уменьшается эффективность окисления ТМБ, которая определяется отношением  $V_{\text{макс}}/K_M$ . ДМФ ингибирует пероксидазу гриба при

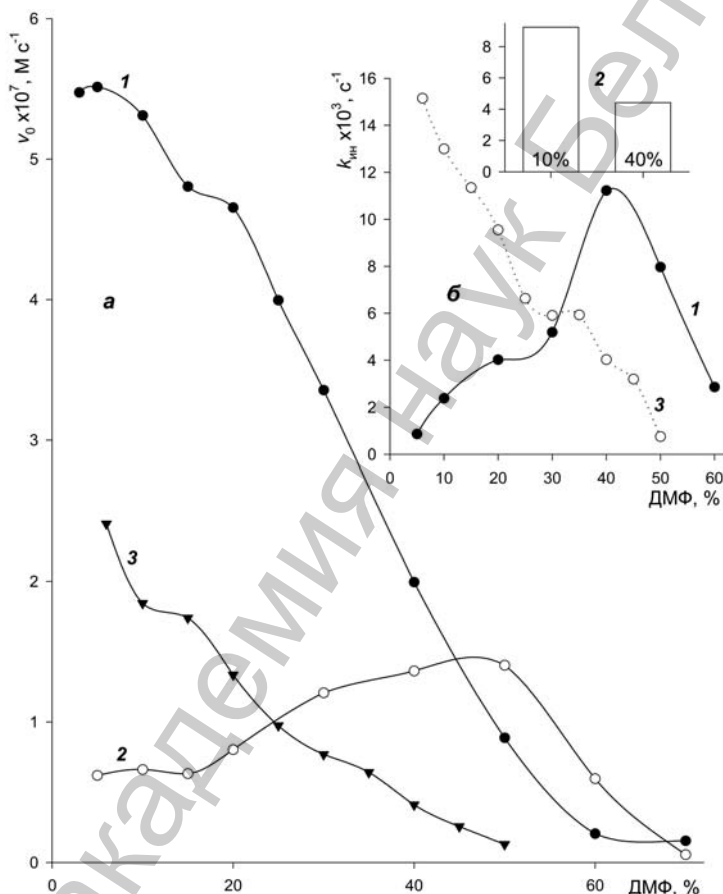


Рис. 2. Влияние концентрации ДМФ в водной среде на начальную скорость (а) и операционную стабильность (б) пероксидазы КЖ-2 (0,88 мкг/мл) (1, 2) и 0,2 нМ ПХ (3) при окислении 1,0 мМ ТМБ в присутствии 1,0 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ : 1 и 3 — 655 нм, 2 — 450 нм

окисления ТМБ по смешанному типу. График в координатах Лайнуивера—Берка имеет вид пучка прямых, пересекающихся в общей точке в левом верхнем квадранте. По-видимому, ДМФ снижает средство пероксидазы *Ph. robustus* К к ТМБ.

Оптimum pH окисления пирогаллола в универсальном буфере (УБ), pH 2,0—12,0, катализируемого пероксидазой *Ph. robustus* К, находится в диапазоне значений 5,0—7,0 [33]. Оптimum pH накопления мерихиноидного комплекса (655 нм) при окислении ТМБ КЖ-1 в 75 мМ УБ, pH 3,0—9,0, зависит от содержания ДМФ в среде: в смеси вода—10 % ДМФ оптимальным для процесса является pH 5,0, а при наличии 45 % ДМФ — pH 4,0. В смеси УБ—10 % ДМФ пероксидаза гриба не окисляла ТМБ при pH > 8, а в УБ—45 % ДМФ — при pH > 6.

Оптimum pH каталитической активности экзопероксидаз ксилотрофных базидиомицетов и сапротрофных аскомицетов находится в диапазоне значений

3,0—6,0 [7; 21; 34—40]. Однако пероксидазы копрофильных базидиомицетов проявляют максимальную активность при pH 6,0—10,0 [5; 38; 41; 42]. Исключением является пероксидаза *Panus tigrinus*, которая имеет оптимум активности при нейтральном pH и отличается по субстратной специфичности от других экзопероксидаз грибов [43].

Ранее показано, что 0,05 % ДСН в 1,4 раза увеличивал скорость окисления ТМБ·НСl, катализируемого очищенной пероксидазой *Ph. robustus* К в 50 мМ натрий-фосфатном буфере, pH 7,4 [44]. Концентрация буфера и температура реакционной смеси определяли эффективность действия ПАВ на ПХ [45]. В присутствии катионного ПАВ ( $[(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{C}_{10-16}\text{H}_{21-33}]\cdot\text{Cl}$ ) скорость окисления *o*-дианизидина возрастала лишь при концентрациях фосфатного буфера < 20 мМ [45]. Анионные и катионные ПАВ снижали термическую стабильность ПХ [45]. Изучена реакция окисления ТМБ в присутствии ПХ и ДСН [46]. ДСН в концентрации 0,1—100 мМ стабилизирует промежуточные продукты окисления ТМБ вследствие электростатического взаимодействия катион-радикала ТМБ<sup>•+</sup> с отрицательно заряженным ДСН.

В смеси вода—ДМФ 0,05 % ДСН снижает начальную скорость окисления ТМБ, катализируемого пероксидазой *Ph. robustus* К (табл. 3): уменьшается скорость образования мерихиноидного комплекса (655 нм) и хинондиимина (450 нм). Напротив, в 30 мМ УБ, pH 8,0, содержащем 10 % ДМФ, 0,05 % ДСН благоприятно влиял на  $v_0$  накопления промежуточного продукта окисления ТМБ. На рис. 3, а показано влияние разных концентраций ДСН на активность пероксидазы гриба в смесях вода—50 % ДМФ (1) и УБ—10 % ДМФ (2). По-видимому, в среде вода—50 % ДМФ (рис. 3, а, 1) ДСН при концентрациях < 0,025 % связывается с белковой глобулой пероксидазы и, подобно другим ПАВ [45, 47], нарушает конформацию фермента, что приводит к снижению его активности. При высоких концентрациях ДСН в этой среде, когда мицеллы ДСН обеспечивают стабилизацию катион-радикала ТМБ<sup>•+</sup> [46], активность пероксидазы гриба возрастает, но в целом остается низкой по сравнению с системой без ДСН.

Т а б л и ц а 3. Влияние ДСН на каталитическую активность пероксидазы КЖ-1 при окислении 1,0 мМ ТМБ в присутствии 1,0 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> при 25 °С в разных средах

Среда	ДМФ, %	$v_0 \cdot 10^7, \text{M c}^{-1}$		$k_{\text{ин}} \cdot 10^3, \text{c}^{-1}$	
		0 ДСН	0,05 % ДСН	0 ДСН	0,05 % ДСН
655 нм					
H <sub>2</sub> O	10	6,87	5,05	3,1	3,0
H <sub>2</sub> O	40	2,43	1,13	11,5	5,8
H <sub>2</sub> O	50	0,94	0,66	10,4	9,1
30 мМ УБ, pH 8	10	0,34	1,67	3,5	3,0
450 нм					
H <sub>2</sub> O	40	1,65	1,07	1,8	9,8
H <sub>2</sub> O	60	0,50	0,32	0,1	1,2

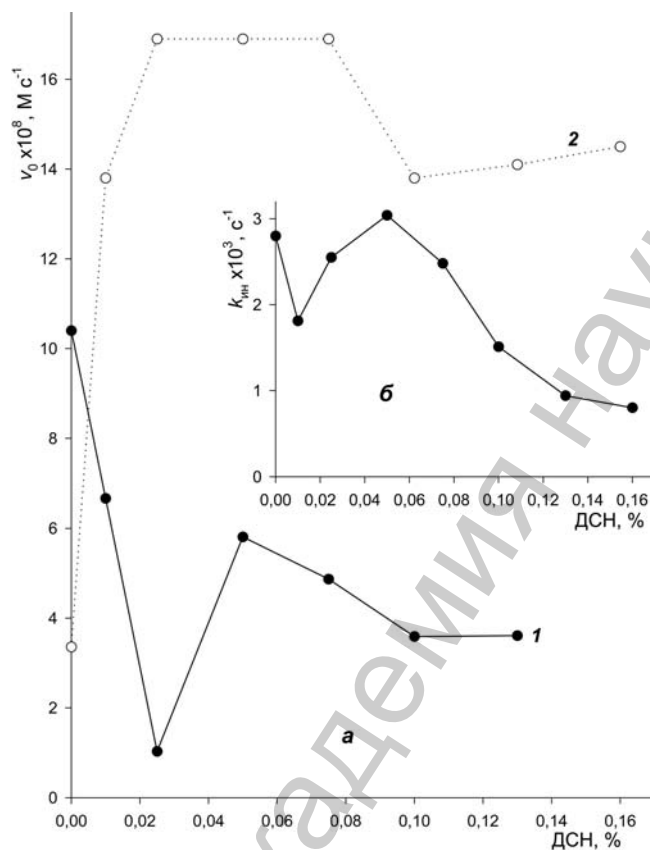


Рис. 3. Влияние ДСН на начальную скорость (а) и операционную стабильность (б) пероксидазы КЖ-2 (0,88 мкг/мл) при окислении 1,0 мМ ТМБ в присутствии 1,0 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ . а: 1 — смесь вода—50 % ДМФ, 2 — 30 мМ УБ, рН 8, с 10 % ДМФ; б — 30 мМ УБ, рН 8, с 10 % ДМФ

Показано [46], что в фосфатном буфере ДСН активирует окисление *o*-дианизидина и ТМБ, катализируемое ПХ, только при  $\text{pH} < 7,5$ . Отсутствие активации в случае пероксидазы *Ph. robustus* К в смеси вода—ДМФ ( $\text{pH} \sim 6$ ) и снижение скорости окисления ТМБ с ростом концентрации ДСН в 50 % ДМФ (табл. 3; рис. 3, а), скорее всего, связано с ингибированием процесса фенольными соединениями, синтезированными грибом в КЖ. В условиях, когда ДМФ и ДСН нарушают конформацию грибной пероксидазы, эти соединения могут конкурировать с ТМБ за связывание в активном центре фермента, как это происходит в случае ПХ и галловой кислоты или ее полидисульфида [48]. Более того, полимерные фенолы значительно эффективнее как ингибиторы, чем их мономерные аналоги [48]. Фенольные производные, содержащиеся в КЖ, не участвуют в совместном пероксидазном окислении с ТМБ, так как в нашем исследовании на кинетических зависимостях накопления продуктов окисления субстрата не обнаружен лаг-период, характерный для сопряженного окисления ТМБ и многих фенолов [48; 49].

При  $\text{pH} > 7,5$  ДСН не влиял на скорость окисления *o*-дианизидина и ТМБ в присутствии ПХ [46]. Напротив, в случае пероксидазы гриба ДСН (0,01—0,08 %) активировал процесс окисления ТМБ при  $\text{pH} 8,0$  (рис. 3, а, 2; табл. 3). Как видно, в этих условиях без ДСН в реакционной среде скорость окисления ТМБ сравнительно невысока. При наличии в среде 0,025 % ДСН ( $\sim 0,7$  мМ) активность пероксидазы возросла в 5 раз и оставалась неизменной до концентрации ДСН 0,08 % (2,8 мМ). Как и в случае смеси вода—50 % ДМФ (1), на кинетических зависимостях отсутствовал лаг-период, характерный для сопряженного окисления ТМБ и фенолов [48; 49]. Следовательно, причиной активации не является взаимодействие катион-радикала  $\text{TMB}^{\bullet+}$  с молекулами ДСН и феноль-

Показано [46], что в фосфатном буфере ДСН активирует окисление *o*-дианизидина и ТМБ, катализируемое ПХ, только при  $\text{pH} < 7,5$ . Отсутствие активации в случае пероксидазы *Ph. robustus* К в смеси вода—ДМФ ( $\text{pH} \sim 6$ ) и снижение скорости окисления ТМБ с ростом концентрации ДСН в 50 % ДМФ (табл. 3; рис. 3, а), скорее всего, связано с ингибированием процесса фенольными соединениями, синтезированными грибом в КЖ. В условиях, когда ДМФ и ДСН нарушают конформацию грибной пероксидазы, эти соединения могут конкурировать с ТМБ за связывание в активном центре фермента, как это происходит в случае ПХ и галловой кислоты или ее полидисульфида [48]. Более того, полимерные фенолы значительно эффективнее как ингибиторы, чем их мономерные аналоги [48]. Фенольные производные, содержащиеся в КЖ, не участвуют в

ными производными, содержащимися в КЖ. Видимо, при малом содержании ДМФ и наличии в среде солей буфера фенольные компоненты КЖ образуют комплекс с пероксидазой *Ph. robustus* К и отрицательно влияют на активность фермента. Предмицеллярные и мицеллярные агрегаты ДСН конкурируют с белком за связывание с фенольными производными КЖ, образуя смешанные мицеллы, что в итоге положительно сказывается на активности пероксидазы гриба. Возможность этого механизма действия ДСН на активность пероксидазы *Ph. robustus* К в 30 мМ УБ при рН 8,0 подтверждают данные об активации пероксидазы *Phellinus igniarius*, которая наблюдалась по мере удаления пигментов в ходе очистки фермента [22; 23].

В табл. 2 приведены кинетические характеристики пероксидазного окисления пирогаллола в 10 мМ ЦФБ, рН 4,5, в присутствии КЖ-3 и солей аммония, а на рис. 4 показано влияние концентрации этих солей на максимальную

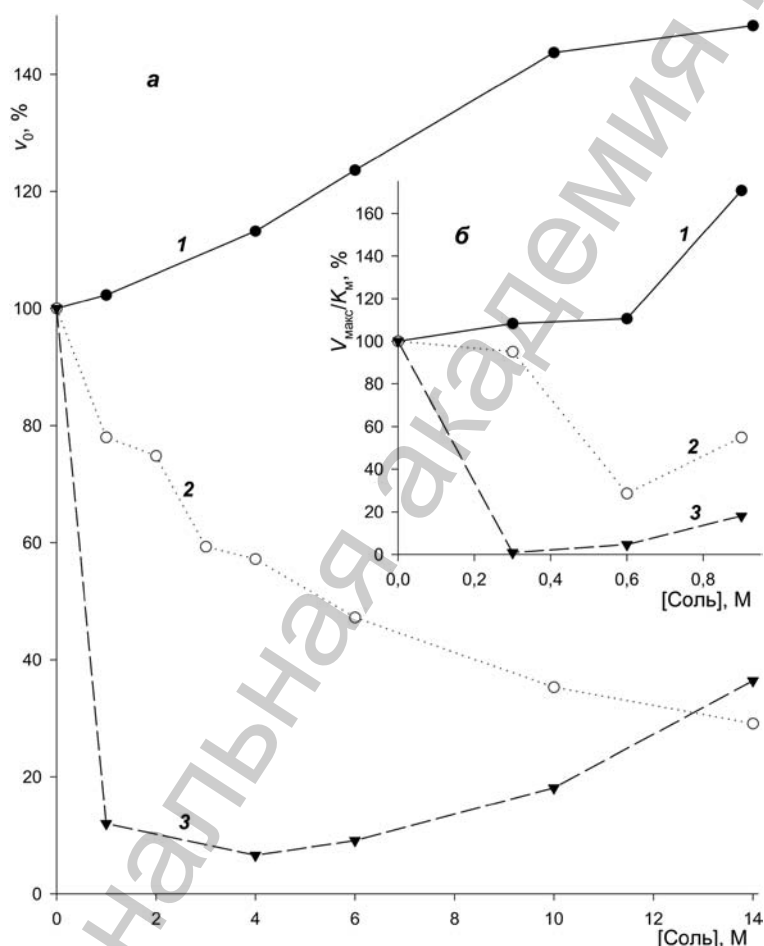


Рис. 4. Влияние концентрации солей аммония на начальную скорость (а) и отношение  $V_{max}/K_M$  (б) при пероксидажном окислении 0,02–0,8 мМ пирогаллола в 10 мМ ЦФБ, рН 4,5, в присутствии 1,5 мМ  $H_2O_2$  и 1,28 мкг/мл белка КЖ. а: 1 — КЖ-2; б: 1 — КЖ-3

скорость (*a*) и эффективность (*b*) окисления пирогаллола при наличии в среде КЖ-2. Только сульфат аммония (*I*) оказывал благоприятное влияние на каталитическую активность пероксидазы *Ph. robustus* К: наблюдалось смешанное активирование ферментативного окисления пирогаллола. Видимо, активация окисления пирогаллола сульфатом аммония, катализируемого пероксидазой гриба, обусловлена высаливающим действием соли, которое она оказывает на фермент и фенольные соединения КЖ.

Хлорид и роданид аммония снижали начальную скорость окисления пирогаллола пероксидазой *Ph. robustus* К (рис. 4, *a*, 2, 3), ингибируя окисление этого субстрата по смешанному типу. Следовательно, эти соли снижают сродство фермента к пирогаллолу и препятствуют образованию семихинона. Отрицательное влияние  $\text{NH}_4\text{Cl}$  на связывание пероксидазы с пирогаллолом проявлялось при его концентрациях  $> 0,3$  М: величина  $K_m$  была максимальной в присутствии 0,6 М соли (табл. 4). В случае  $\text{NH}_4\text{SCN}$  максимальное значение  $K_m$  отмечено при концентрации соли, равной 0,3 М. Эти различия отражают разную высаливающую эффективность данных солей. При концентрации солей  $> 0,6$  М во всех случаях наблюдалось увеличение эффективности окисления пирогаллола (рис. 4, *b*).

Т а б л и ц а 4. Влияние солей аммония на кинетические характеристики окисления 0,02–0,80 мМ пирогаллола в присутствии 1,3 мкг/мл белка КЖ-2 и 1,5 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$  при 25 °С в 10 мМ ЦФБ, рН 4,5

[Соль], М	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$		$\text{NH}_4\text{Cl}$		$\text{NH}_4\text{SCN}$	
	$K_m \cdot 10^4$ , М	$V_{\text{max}} \cdot 10^6$ , Мс <sup>-1</sup>	$K_m \cdot 10^4$ , М	$V_{\text{max}} \cdot 10^6$ , Мс <sup>-1</sup>	$K_m \cdot 10^4$ , М	$V_{\text{max}} \cdot 10^6$ , Мс <sup>-1</sup>
0	2,5–3,3	1,7–1,9	3,6	1,2	3,6	1,2
0,3	2,1–2,9	1,6–1,7	4,6	1,0–1,3	31,7–36,2	0,1
0,6	2,1–2,3	1,6–1,9	5,8–6,0	0,6	3,7	0,1
0,9	1,5–2,1	1,7–1,9	2,1	0,4	1,6	0,1

Важной характеристикой фермента является его устойчивость по отношению к неблагоприятным физико-химическим факторам среды и условиям функционирования. Пероксидазы грибов характеризуются невысокой термической стабильностью. Частичная инактивация этих ферментов наблюдается при температуре выше 40–50 °С [5; 7; 21; 34–39; 41; 42]. Пероксидаза *Ph. robustus* К также не отличается высокой термостабильностью [33]. Фермент устойчив при температуре ниже 40 °С. Инкубация пероксидазы при 50 и 60 °С в течение 1 ч приводит к потере 60 и 98 % ферментативной активности соответственно. Наиболее термостабильной является пероксидаза *Coriulus hirsutus*: выдерживание этого фермента при 60 °С в течение 5 ч не отражалось на его активности [40].

Изучение влияния замораживания-размораживания на пероксидазную активность КЖ-2, проведенное в данной работе, показало, что максимальная скорость окисления пирогаллола и ТМБ-НСI в 10 мМ ЦФБ, рН 4,5, не изменяется в течение 12 циклов. Видимо, стабилизацию пероксидазы гриба обеспечивают фенольные компоненты КЖ, однако эффективность их влияния па-

дает с ростом температуры: при температуре  $> 50$  °С эти компоненты КЖ уже не защищают фермент от инактивации [33].

Известно, что пероксидаза *Ph. robustus* К стабильна при рН 5,0—9,0 [33]. После инкубации в течение 1 ч при рН 2,0—3,0 препарата КЖ, полученного методом ультрафильтрации на мембране с пределом задерживания 20 кДа, потери его ферментативной активности составляют 95—97 % [33]. В то же время при рН 11,0—12,0 уровень инактивации фермента гриба достигал только 40—50 %.

Важной характеристикой пероксидазы является ее операционная стабильность, т. е. способность фермента сохранять активность в процессе окисления субстрата. Фермент инактивируют пероксид водорода [51] и радикальные частицы, которые образуются при окислении ТМБ (катион-радикал ТМБ<sup>•+</sup> [27; 46]) и пирогаллола (семихинон и оксифеноксильный радикал). Из данных рис. 1, б, в следует, что оксифеноксильный радикал, образующийся при окислении пирогаллола, в меньшей степени инактивирует пероксидазу гриба, чем катион-радикал ТМБ<sup>•+</sup>. При окислении пирогаллола изменение величины  $k_{ин}$  проходит через максимум (рис. 1, в). При концентрациях белка  $> 0,4$  мкг возрастала операционная стабильность грибной пероксидазы. Видимо, стабилизацию фермента обеспечивают присутствующие в КЖ фенольные соединения, концентрация которых возрастала по мере увеличения объема КЖ, добавляемой в реакционную среду. На рис. 1, б проведено сравнение операционной стабильности пероксидазы *Ph. robustus* К КЖ-1 и КЖ-2 (1 и 2), полученных при культивировании гриба на питательных средах различного состава (табл. 1). Эти данные ясно указывают на определенный вклад компонентов КЖ в стабилизацию фермента при окислении ТМБ.

Для того чтобы проверить возможную роль низкомолекулярных компонентов КЖ в повышении операционной стабильности грибной пероксидазы, КЖ освободили от белков, используя ультрафильтрационную мембрану с пределом задерживания 10 кДа или обработав термически. Затем КЖ, не содержащую белка, добавили в раствор с ПХ. Оказалось, что КЖ, освобожденная от белков, повышает операционную стабильность ПХ. Однако «безбелковая» КЖ уменьшала термическую стабильность ПХ при температуре выше 50 °С: после инкубации ПХ с ультрафильтратом КЖ в течение 30 мин при температурах 55—70 °С активность фермента при окислении ТМБ была ниже, чем в контроле, где ультрафильтрата КЖ нет. При температуре 35—50 °С «безбелковая» КЖ способствовала сохранению каталитической активности ПХ при окислении ТМБ.

Сравнение влияния ДМФ на операционную стабильность грибной и растительной пероксидаз показало, что этот растворитель повышает операционную стабильность ПХ при окислении ТМБ (655 нм): с ростом его концентрации в диапазоне от 10 до 50 %  $k_{ин}$  уменьшилась в 17,3 раза (рис. 2, б, 3). Видимо, уменьшение величины  $k_{ин}$  отражает снижение концентрации катион-радикала ТМБ<sup>•+</sup> в среде вследствие подавления активности ПХ органическим растворителем (рис. 2, а, 3). В отличие от ПХ, при низкой концентрации ДМФ в среде  $k_{ин}$  пероксидазы *Ph. robustus* К минимальна (рис. 2, б, 1), но с повышением содержания органического растворителя (1) и при наличии в среде 0,05 % ДСН (табл. 3)  $k_{ин}$  увеличивалась и достигала максимума при 40—50 % ДМФ. Если следить за окислением ТМБ не по накоплению мерихиноидного комплекса

(рис. 2, б, 1), а конечного продукта (2), поглощающего на длине волны 450 нм, то ход зависимости  $k_{ин}$  от концентрации ДМФ является сходным с зависимостью для ПХ (3). Эти данные также подтверждают участие фенольных соединений, продуцируемых грибом в КЖ, в стабилизации его внеклеточной пероксидазы. Вклад низкомолекулярных компонентов КЖ в операционную стабильность ПХ и пероксидазы *Ph. robustus* К, скорее всего, состоит в их способности образовывать ионные ассоциаты с катион-радикалом ТМБ<sup>•+</sup>, который, будучи включенным в ассоциаты, не инактивирует ферменты.

ДСН при концентрации > 0,05 % благоприятно влиял на операционную стабильность пероксидазы гриба в 30 мМ УБ, рН 8,0, содержащем 10 % ДМФ (рис. 3, б). Известно, что концентрация буфера определяет эффективность действия ПАВ на активность ПХ [45]. При низких концентрациях ДСН ход зависимостей  $k_{ин}$  и  $v_0$  от [ДСН] является сходным — на кривых обнаруживается минимум, после которого наблюдается возрастание величин  $k_{ин}$  и  $v_0$  (рис. 3, а, б).

Таким образом, внеклеточная пероксидаза *Ph. robustus* К, продуцируемая грибом в КЖ, с высокой эффективностью окисляет пирогаллол и ТМБ в буферном растворе и смеси вода—ДМФ в сравнении с ПХ (табл. 2). Высокоактивные препараты пероксидазы, пригодные для использования в природоохранных технологиях, текстильной и химической промышленности, можно получить методом ультрафильтрации [46] без освобождения фермента от связанных с ним фенольных компонентов КЖ [19; 20; 22]. Эти соединения в некоторой степени снижают каталитическую активность пероксидазы гриба [22; 23], но одновременно повышают ее операционную стабильность и защищают фермент от инактивации под действием ДМФ. КЖ, освобожденная от белков, повышала операционную стабильность ПХ, но уменьшала ее термическую стабильность при температуре выше 50 °С. Эти данные свидетельствуют о том, что определяющая роль в стабилизации пероксидазы гриба принадлежит низкомолекулярным компонентам КЖ, а не ее белкам. Благодаря их наличию активность и операционная стабильность пероксидазы *Ph. robustus* К не уменьшается при многократном замораживании и размораживании КЖ, однако при температуре выше 50 °С фенольные соединения, присутствующие в КЖ, уже не защищают фермент от инактивации [33].

Степень влияния фенольных компонентов КЖ на активность пероксидазы гриба уменьшается в присутствии ДМФ. В целом ДМФ снижает каталитическую активность пероксидазы *Ph. robustus* К, однако в меньшей степени, чем ПХ. С ростом содержания ДМФ в среде рН-оптимум окисления ТМБ сдвигается в кислую область и сокращается рН-диапазон, в котором пероксидаза гриба проявляет каталитическую активность. Кроме того, увеличивается константа Михаэлиса и уменьшается эффективность окисления ТМБ, характеризуемая отношением  $V_{макс}/K_m$ . ДМФ ингибирует пероксидазу *Ph. robustus* К при окислении ТМБ по смешанному типу.

ДСН в смеси вода—ДМФ уменьшал операционную стабильность и скорость окисления ТМБ в присутствии грибной пероксидазы. В то же время в 30 мМ УБ, рН 8,0, содержащем 10 % ДМФ, ДСН повышал операционную стабильность фермента и скорость накопления промежуточных продуктов окисления ТМБ.

Сульфат аммония активировал окисление пирогаллола пероксидазой гриба в 10 мМ ЦФБ, рН 4,5, по смешанному типу, а хлорид и роданид аммония ингибировали окисление этого субстрата. Так как сульфат аммония благоприятно влиял на активность пероксидазы *Ph. robustus* K, эту соль можно эффективно использовать при очистке фермента от белковых компонентов КЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований по проекту № Б00М-101.

### Литература

1. Nakamura H. et al. // Biosens. Bioelectron. 1997. Vol. 12, № 9–10. P. 959–966.
2. Nakamura H. et al. // J. Biotechnol. 1999. Vol. 75, № 2–3. P. 127–133.
3. Kauffmann C., Bjerrum M. J., Petersen B. R. // J. Biotechnol. 1999. Vol. 73, № 1. P. 71–74.
4. Masuda M., Sakurai A., Sakakibara M. // Enzyme Microb. Technol. 2001. Vol. 28, № 4–5. P. 295–300.
5. Nakayama T., Amachi T. // J. Mol. Catal. B: Enzymatic. 1999. Vol. 6. P. 185–198.
6. Hayashi K., Sasaki S., Ikebukuro K., Karube I. // Anal. Chim. Acta. 1996. Vol. 329, № 1–2. P. 127–134.
7. Кузьмина Л. А. Пероксидаза базидиального гриба *Pleurotus ostreatus* УзБИ-И105. Получение и характеристика: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ташкент, 2004. — 22 с.
8. Johansen C. Pat. WO. 1997. № 9742825.
9. Andersen M. B., Welinder K. G. Pat. USA. 2001. № 6258769.
10. Чешкова А. В., Лебедева В. И., Мельников Б. Н. Пат. RU. 1996. № 2068901.
11. Anke T. et al. Pat. DE. 2003. № 10149266.
12. Гаврилова В. П., Григорьева Н. К., Шамолина И. И., Платонова Н. В. Пат. SU. 1991. № 1641881.
13. Shinmen J. et al. Pat. USA. 1992. № 5116751.
14. Noda S., Susumu M. Pat. USA. 1987. № 4698306.
15. Газарян И. Г. Итоги науки и техники. Биотехнология. М., 1992. Т. 36. С. 4–28.
16. Осока О. М., Михайлова Р. В., Лобанок А. Г. // Вестн. Фонда фонд. исслед. 2007. № 1. С. 69–78.
17. Рабинович М. Л., Болобова А. В., Кондращенко В. И. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Древесина и разрушающие ее грибы. М., 2001. — 264 с.
18. Осока О. М., Михайлова Р. В., Чихаева О. В., Лобанок А. Г. // Тез. докл. конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития». М., 2007. С. 86.
19. Lobarzewski J. // Acta Microbiol. Pol. 1977. Vol. 26, № 2. P. 179–184.
20. Lobarzewski J. // Ann. Univ. Mariae Curie-Sklodowska: Sec. C. 1974. Vol. 29, № 4. P. 40–57.
21. Lobarzewski J. // Ann. Univ. M. Curie-Sklodowska: Sec. C. 1971. Vol. 26, № 5. P. 35–43.
22. Газарян И. Г. и др. // Докл. АН СССР. 1993. Т. 329, № 5. С. 663–665.
23. Газарян И. Г., Решетникова И. А., Досеева В. В., Беккер Е. Г. // Биохимия. 1995. Т. 60, № 7. С. 1017–1022.
24. Lobarzewski J., Sikora A. // Ann. Univ. Mariae Curie-Sklodowska: Sec. C. 1972. Vol. 27, № 8. P. 87–98.
25. Bradford M. M. // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.
26. Gramss G. // J. Basic Microbiol. 1997. Vol. 37, № 6. P. 407–423.
27. Josephy P. D., Eling T., Mason R. P. // J. Biol. Chem. 1982. Vol. 257, № 7. P. 3669–3675.
28. Березин И. В., Клесов А. А. Практический курс химической и ферментативной кинетики. М., 1976. С. 168–186.
29. Uyama H., Kurioka H., Sugihara J., Kobayashi S. // Bull. Chem. Soc. Jpn. 1996. Vol. 69, № 1. P. 189–193.
30. Потапович М. В., Еремин А. Н., Рубинов Д. Б., Метелица Д. И. // Вестн. НАН Беларуси. Сер. хим. наук. 2006. № 4. С. 82–87.

31. Потапович М. В., Еремин А. Н., Рубинов Д. Б., Метелица Д. И. // Вестні НАН Беларусі. Сер. хім. навук. 2007. № 1. С. 62–67.
32. Пучкаев А. В., Метелица Д. И. // Вестні АН Беларусі. Сер. хім. навук. 1992. № 1. С. 78–83.
33. Осока О. М., Михайлова Р. В., Чихаева О. В. // Перспективы и проблемы развития биотехнологии в рамках единого экономического пространства стран содружества: Тр. науч.-практ. конф. Минск, 2005. С. 167–168.
34. Решетникова И. А. и др. // Микология и фитопатология. 1992. Т. 26, № 5. С. 383–387.
35. L у r Н. // Planta. 1958. Vol. 50. P. 359–370.
36. К r ü g e r G., P f e i l E. // Arch. Microbiol. 1976. Vol. 109, № 1–2. P. 175–179.
37. Борисова В. М., Двойнос Л. М. // Мікробіол. журн. 1971. Т. 33, № 3. С. 321–323.
38. Решетникова И. А. // Итоги науки и техники. Биотехнология. М., 1992. Т. 36. С. 104–126.
39. M u s t r a n t a A. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1987. Vol. 27. P. 21–26.
40. S h i n K. S., L e e Y. J. // Mycologia. 2000. Vol. 92, № 3. P. 537–544.
41. H e i n z k i l l M. et al. // FEMS Microbiol. Lett. 1998. Vol. 64, № 5. P. 1601–1606.
42. S h i n m e n Y. et al. // Agric. Biol. Chem. 1986. Vol. 50. P. 247–249.
43. Ревин В. В. и др. // Биохимия. 2000. Т. 65, № 11. С. 1546–1550.
44. Артюшевская Л. А., Сенчук В. В., Михайлова Р. В., Осока О. М. // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: Тр. междунар. науч. конф. Минск — Раков, 2006. С. 390–392.
45. Еремин А. Н., Шибаев В. А., Бочаров В. В., Метелица Д. И. // Прикл. биохимия и микробиол. 1993. Т. 29, № 4. С. 534–541.
46. Кирейко А. В., Веселова И. А., Шеховцова Т. Н. // Биоорган. химия. 2006. Т. 32, № 1. С. 80–86.
47. Еремин А. Н., Метелица Д. И., Сметтан Г. // Биохимия. 1984. Т. 49, № 6. С. 976–984.
48. Карасева Е. И., Никифорова Т. В., Метелица Д. И. // Прикл. биохимия и микробиология. 2001. Т. 37, № 4. С. 472–479.
49. Карасева Е. И., Лосев Ю. П., Метелица Д. И. // Биохимия. 2001. Т. 66, № 6. С. 751–761.
50. Осока О. М. // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Тр. конгресса. М., 2005. С. 356–357.
51. А r n a o M. B. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 1990. Vol. 1041, № 1. P. 43–47.

A. N. ERYOMIN, M. V. POTAPOVICH, O. M. OSOKA, R. V. MIKHAILOVA

**PEROXIDASE ACTIVITY OF CULTURAL LIQUID OF *Phellinus robustus* K FUNGUS IN OXIDATION OF PYROGALLOL AND TETRAMETHYLBENZIDINE IN WATER AND WATER-ORGANIC MEDIUM**

**Summary**

It has been shown that peroxidase of cultural liquid (CL) of the fungus *Phellinus robustus* K oxidizes pyrogallol and tetramethylbenzidine (TMB) in buffered solution and mixture «water - dimethylformamide (DMF)» with high efficiency as compared with horseradish peroxidase (HRP). CL free from proteins increases an operational stability of HRP, but reduces its thermostability above temperature 50 °C. CL protects fungal peroxidase from inactivation by DMF, which inhibits fungal peroxidase in the TMB oxidation by mixed type: with increasing DMF concentration the Michaelis constant is increased but efficiency of oxidation TMB ( $V_{max}/K_m$ ) is decreased. DMF inhibits the fungal peroxidase less than HRP. Sodium dodecyl sulfate reduces an operational stability of fungal peroxidase and the oxidation rate of TMB in a mixture «water—DMF», but it favourably effects on these enzyme characteristics in 30 mM universal buffer, pH 8,0. In the presence of fungal peroxidase the ammonium sulfate proceeds the mixed type activation of pyrogallol oxidation in 10 mM citrate-phosphate buffer, pH 4,5, but ammonium chloride and thiocyanate inhibit this process. Activity and operational stability of fungal peroxidase does not vary at multiple freezing and defrost of CL. Extracellular peroxidase of *Ph. robustus* K is possible to use in the practical purposes as not purified and partially purified samples containing phenolic and polyphenolic compounds of CL.

УДК 577.023+577.322.23

А. С. БАБЕНКО<sup>1</sup>, Е. И. СУБОЧ<sup>2</sup>,  
А. А. ГИЛЕП<sup>1</sup>, С. А. УСАНОВ<sup>1</sup>

### ОЦЕНКА ОТНОСИТЕЛЬНОГО УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ПРОТООНКОГЕНА ERBB2 МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси,

<sup>2</sup>РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова

(Поступила в редакцию 04.02.2009)

В настоящей работе предложена методика количественной оценки относительного уровня экспрессии протоонкогена ERBB2. Проведен сравнительный анализ пригодности генов POLR2A и GAPDH для использования в качестве внутреннего контроля амплификации. Установлено, что ген POLR2A не может быть использован в качестве референсного для оценки относительного уровня экспрессии ERBB2, поскольку между уровнями экспрессии этих генов отсутствует статистически значимая связь. Относительный уровень экспрессии протоонкогена ERBB2 определен в 155 образцах опухолей молочной железы. Для создания положительных контролей амплификации, а также калибровочных проб, используемых для построения стандартной кривой, клонированы полноразмерные кДНК генов ERBB2 и GAPDH. Проведен сравнительный анализ результатов количественного исследования относительного уровня экспрессии протоонкогена ERBB2 с данными иммуногистохимического (ИГХ) исследования тех же образцов. Сопоставление результатов двух методов оценки статуса ERBB2 продемонстрировало высокое соответствие данных в отношении случаев рака молочной железы (РМЖ) категорий 0 и 1+ (89,7 и 75,9% соответственно) и подтвердило необходимость обязательного использования ИГХ для подтверждения ERBB2-позитивности у больных с гиперэкспрессией протоонкогена по данным полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

#### Введение

Одним из наиболее изученных и перспективных для использования в клинической практике является протоонкоген ERBB2, расположенный на длинном плече хромосомы 17 (17q21). Ген ERBB2 кодирует белок p185, относящийся к семейству рецепторов эпидермального фактора роста, состоящему из четырех функционально взаимосвязанных рецепторных молекул (EGFR или ERBB1, ERBB2, ERBB3 и ERBB4), которые играют важную роль в клеточной пролифе-

рации, дифференцировке и апоптозе [1—4]. Увеличение количества копий гена ERBB2 и повышение уровня его экспрессии встречается в 15—30 % всех случаев РМЖ [6—9]. Гиперэкспрессия ERBB2 является показателем плохого прогноза у данной категории больных и указывает на повышенный риск рецидива после хирургического вмешательства, низкую чувствительность опухоли к гормональной терапии (тамоксифен) и их отклик на антрациклиновые схемы химиотерапии [10—12]. Показано снижение вероятности рецидива и увеличение медианы времени до прогрессирования заболевания у ERBB2-позитивных пациентов при комбинации химиотерапии и терапии моноклональными антителами (трастузумаб) в сравнении только с химиотерапией [13; 14].

В ряде работ приведены примеры корреляции между уровнями экспрессии генов в процессе опухолевого поражения (табл. 1), что позволяет определять маркеры развития опухолей с помощью сочетания таких методов, как, например, ПЦР в режиме реального времени, FISH, технологии микроматриц (ДНК-чипы) [15—18].

Т а б л и ц а 1. Корреляция уровней экспрессии генов в опухолях

Ген	Локализация опухолевого поражения	Коэффициент корреляции	Значимость	Источники
PPTG1/bFGF	Гипофиз	$r_s = 0,84$	$p < 0,01$	Heaney A. P. (2000)
ERBB2/ER $\alpha$	Молочная железа	$r_s = 0,45$	$p = 0,005$	Ariazi E. A. (2002)
GAPDH/VEGF	Прямая кишка	$r_p = 0,51$	$p < 0,01$	Tricarico C. et al. (2002)
AhR/CYP1B1	Легкие	$r_s = 0,51$	$p < 0,01$	Lin P. et al. (2003)
COX-2/Bcl-2	Молочная железа	$r_p = 0,80$	$p > 0,05$	Badawi A. F. (2003)
CYP24/VDR	Пищевод	авт.	$p < 0,05$	Mimori K. (2003)
CYP19A1/ER $\alpha$	Яичники	$r_s = -0,34$	$p < 0,001$	Cunat S. (2004)
VEGF-C/VEGF-D/Flt-4	Молочная железа	авт.	$p < 0,01$	Auwers I. (2004)
ER $\alpha$ /PgR	Эндометрий	$r_s = 0,618$	$p = 0,0048$	Skrzypczak M. (2004)

Важным аспектом использования корреляции уровня экспрессии генов в диагностике является количественная оценка уровня экспрессии характерного онкомаркера (ERBB2, CA). С помощью таких полуколичественных методов, как ИГХ или ПЦР, были созданы системы определения относительного уровня экспрессии некоторых протоонкогенов в образцах опухолевых тканей. Как показывает практика, полуколичественные методы исследования не обладают достаточным уровнем статистической значимости, так как результат исследования в этих случаях зависит от визуальной оценки [19—21].

Цели настоящей работы — разработка одной из возможных методик определения относительного уровня экспрессии протоонкогена ERBB2 у больных РМЖ с использованием количественной ПЦР в режиме реального времени, оценка пригодности использования генов POLR2A и GAPDH для нормализации количественных данных ПЦР, сравнение результатов ИГХ и ПЦР в режиме реального времени.

### Материалы и методы

Материалом для исследования явились образцы опухолевой ткани, забранные во время оперативного вмешательства у больных РМЖ, проходивших лечение в РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова с 2005 по 2006 г. После забора ткань хранили в дюарах с жидким азотом.

**Выделение РНК и синтез кДНК.** Образцы опухолевой ткани (50 мг) гомогенизировали в жидком азоте. К полученному гомогенату добавляли буферный раствор (1 мл), содержащий гуанидин тиоцианат 4М («Helicon»), N-лауроилсаркозин натрия 0,5 % («USB»), цитрат натрия 25 мМ («Sigma»), 2-меркаптоэтанол 0,1 М («Sigma»). После тщательного смешивания порошкообразную смесь аликвотировали в полипропиленовые пробирки. Выделение общей фракции клеточной РНК проводили на основе сорбционного принципа [22–26].

Для синтеза кДНК использовали набор «Реверта» производства ЦНИИ эпидемиологии (РФ). После окончания реакции к смеси добавляли 20 мкл ТЕ-буфера. Полученную кДНК использовали в качестве матрицы для проведения амплификации.

**Получение положительных контролей амплификации.** В качестве потенциальных генов внутреннего контроля исследованы GAPDH, кодирующий конститутивный фермент гликолиза глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназу, и POLR2A, кодирующий РНК-полимеразу 2 типа. Для создания положительных контролей ERBB2 и GAPDH проведено клонирование участков данных генов с использованием праймеров для амплификации кДНК (табл. 2).

Таблица 2. Праймеры, используемые для клонирования участков кДНК генов ERBB2 и GAPDH

Праймер	Нуклеотидная последовательность
Her-2_cdna5	5'-CAGGATATCCAGGAGGTGCAGGGCTACG-3'
Her-2_cdna3	5'-GCACTCTGTACAAAGCCTGGATAC-3'
GAPDH_cd5ct	5'-TTGGATTCGACAGTCAGCCGCATCTTC-3'
GAPDH_cd3ct	5'-TTGGATCCACCACSTTCTTGATGTC-3'

Продукты реакции амплификации клонировали в вектор рХcm-21, предварительно обработанный рестрикционным ферментом XcmI и щелочной фосфатазой. Лигированную ДНК использовали для трансформации *E. coli* DH5. Положительные бактериальные трансформанты анализировали с помощью рестрикционного анализа плазмид на присутствие амплифицированного фрагмента, а также с помощью ПЦР. Для создания положительного контроля POLR2A с помощью ПЦР наработали достаточное количество кДНК.

**Конструирование олигонуклеотидных праймеров для количественной ПЦР.** Для амплификации кДНК генов ERBB2, GAPDH по принципу TaqMan [27] использовали набор «serbV2-ТМ» (ИБОХ, Беларусь). Для амплификации кДНК гена POLR2A сконструированы специфические праймеры и зонд (табл. 3).

При выборе участка гена для амплификации учитывали наличие dT на 5'- и 3'-концевых областях праймеров и зондов и избегали повторов типа XXXX, ХУХУХУХУ. В 3'-концевой области число dG или dC пар оснований не пре-

вышло трех. Праймеры проверены на наличие димеров типа F/F, R/R, F/Pr, R/Pr при температуре отжига +60 °С. В качестве флуорофоров выбраны FAM (ERBB2, POLR2A) и R6G (GAPDH), тушителями флуоресценции — BHQ1 или TAMRA.

Т а б л и ц а 3. Праймеры и зонды для амплификации гена POLR2A в режиме реального времени

Праймер и зонд	Нуклеотидная последовательность	Длина участка
POLR2A_5	5'-GCACCACGTCCAATGACAT-3'	19 п. о.
POLR2A_3	5'-GTGCGGCTGCTTCCATAA-3'	18 п. о.
POLR2A_FAM-TAMRA	5'-TACCACGTTCATCTCCTTTGATGGCTCCTAT-3'	30 п. о.

*Амплификация в присутствии флуоресцентно меченных зондов.* ПЦР проводили в инкубационной среде объемом 25 мкл, содержащей 50 нг кДНК-матрицы, 0,3 мкМ каждого праймера для амплификации, 0,1 мкМ флуоресцентно-меченного зонда, 0,2 мМ каждого dNTP, 50 мМ KCl, 25 мМ Трис—HCl, 2 мМ MgCl<sub>2</sub> и 2,5 МЕ Taq ДНК-полимеразы (ИБОХ, Беларусь). ПЦР состояла из первичной денатурации ДНК при +94 °С в течение 5 мин и 45 циклов амплификации, проводимых при следующих условиях: денатурация при +94 °С в течение 10 с, отжиг праймеров и синтез ДНК при +60 °С в течение 60 с. Полученные результаты обработаны с помощью программного обеспечения Rotor Gene 6.0.1 (Corbet Research). Концентрацию искомой кДНК определяли исходя из значения C<sub>T</sub> — порогового цикла (threshold cycle, Ct) на котором достигается заданный уровень репортерной флуоресценции (пороговая флуоресценция) [28]. За уровень экспрессии ERBB2 принимали соотношение концентраций кДНК ERBB2 и кДНК GAPD.

ИГХ-исследование проводили на срезах с парафиновых блоков опухолей больных РМЖ из той же группы, что и для морфологического исследования. Использована стандартная методика постановки пероксидазной авидин-биотиновой ИГХ-реакции с первичными поликлональными антителами кролика и LSAB2+ системой визуализации (Dako). Срезы окрашивали гематоксилином Майера и заключали в канадский бальзам. Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа по интенсивности окрашивания мембраны клеток и количеству окрашенных клеток, согласно критериям оценок, утвержденным FDA.

*Статистические методы.* Статистический анализ данных выполняли с использованием программы R-system. Для выявления корреляционной связи рассчитаны коэффициенты Спирмана (r<sub>s</sub>). Для описания характера связи в парах протоонкоген ERBB2/внутренний контроль выполнен регрессионный анализ (линейная, кубическая, квадратичная, логарифмическая и экспоненциальная регрессии). Для определения порогового значения отсутствия или наличия гиперэкспрессии по результатам ПЦР относительно ИГХ использовали ROC-анализ. Для оценки значимости различий результатов применены тест Ханцель—Мантеля и критерий углового преобразования Фишера (φ) [29—31].

### Результаты и обсуждение

**Выбор гена внутреннего контроля.** При выборе оптимального внутреннего контроля амплификации основным критерием являлась сопоставимость уровней экспрессии контрольного гена и протоонкогена **ERBB2** в опухолевых клетках, что необходимо для нормализации полученных количественных данных. Для его определения исследованы относительные уровни экспрессии в парах генов ERBB2/POLR2A (27 образцов) и ERBB2/GAPDH (155 образцов) методом  $\Delta C_T$  [32].

Корреляционный анализ полученных данных показал наличие слабой связи между уровнями экспрессии генов ERBB2 и POLR2A ( $r_s = 0,265$ ;  $p < 0,01$ ) и сильной в паре ERBB2 и GAPDH ( $r_s = 0,816$ ;  $p < 0,01$ ) (рис. 1).

Для описания характера связи между уровнями экспрессии ERBB2/GAPDH и ERBB2/POLR2A выполнен регрессионный анализ. В качестве зависимых переменных  $y$  выступали GAPDH и POLR2A, в качестве независимой переменной  $x$  — ERBB2. Результаты анализа (рис. 2) показали, что наилучшим образом эти связи могут быть описаны с помощью квадратичных функций ( $y_1$  и  $y_2$ ), имеющих следующий вид для пары ERBB2/GAPDH (1) и пары ERBB2/POLR2A (2):

$$y_1 = 17,1324 - 0,2424x + 0,0162x^2, \quad (1)$$

$$y_2 = 5,6226 + 1,3836x - 0,018x^2. \quad (2)$$

Величина  $R^2$  для пары ERBB2/GAPDH равна 0,5626 при уровне значимости  $p < 0,001$  означает, что 56,26 % дисперсии переменной GAPDH обусловлено воздействием переменной ERBB2. В данном конкретном случае можно рассчитывать на закономерное увеличение уровня экспрессии GAPDH наряду с увеличением уровня экспрессии ERBB2. Поскольку величина  $R^2$  для пары

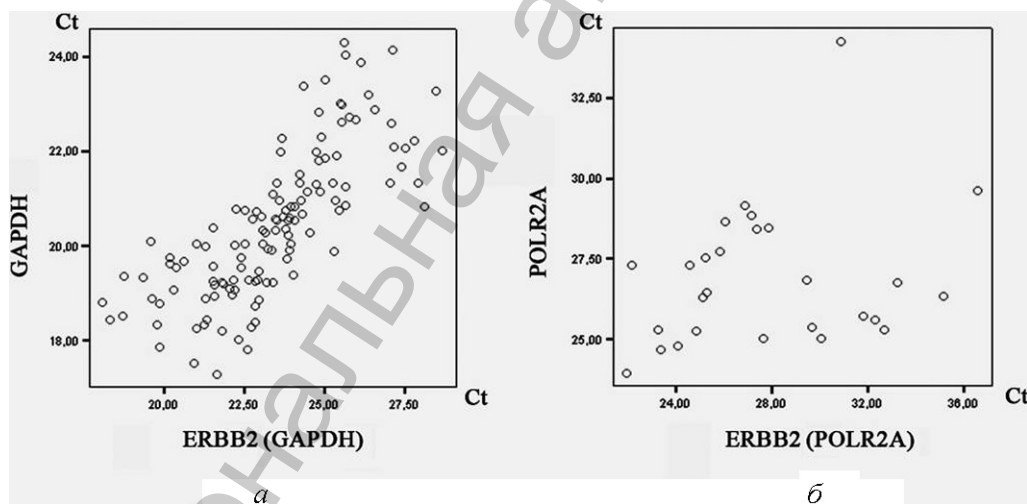


Рис. 1. Корреляция уровней экспрессии генов в парах ERBB2/GAPDH ( $r_s = 0,816$ ;  $p < 0,01$ ) (а) и ERBB2/ POLR2A ( $r_s = 0,265$ ;  $p < 0,01$ ) (б)

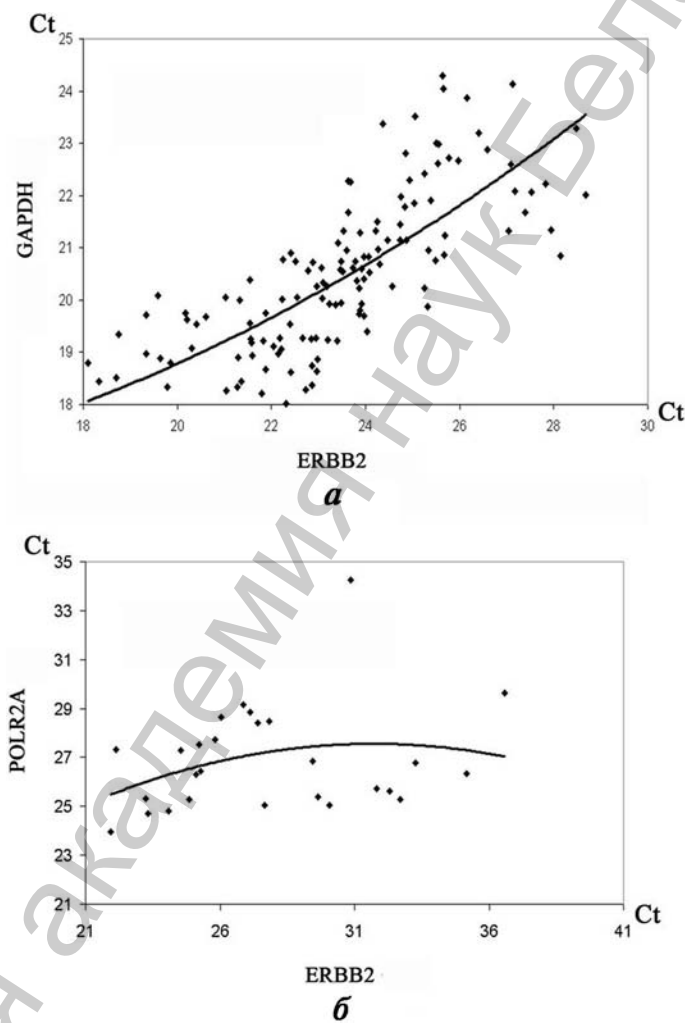


Рис. 2. Регрессионный анализ в парах ERBB2/GAPDH ( $p < 0,001$ ) (а) и ERBB2/POLR2A ( $p = 0,352$ ) (б)

ERBB2/POLR2A равна 0,0833 при уровне значимости  $p = 0,352$ , полученное уравнение регрессии имеет очень низкую статистическую значимость и не описывает закономерность изменения уровня экспрессии POLR2A воздействием со стороны ERBB2. Таким образом, в качестве внутреннего контроля был выбран ген GAPDH. Данные, полученные в результате проведения количественной ПЦР в режиме реального времени, были нормализованы с помощью GAPDH. За относительный уровень экспрессии протоонкогена ERBB2 принимали соотношение количества копий ERBB2, рассчитанное с помощью стандартной кривой, и копий GAPDH.

Аmplификация протоонкогена ERBB2 в присутствии флуоресцентно меченого зонда. На основании данных, полученных в результате амплификации кали-

бровочных проб, определены исходные концентрации кДНК генов ERBB2 и GAPDH. Методом ПЦР исследовано 155 образцов кДНК. В качестве опорного для определения диагностических показателей использован ИГХ метод. Согласно данным ROC-анализа, пороговым значением отсутствия или наличия гиперэкспрессии по результатам ПЦР в режиме реального времени относительно ИГХ принято отношение концентрации ERBB2/GAPDH, равное 0,15.

По данным ПЦР, гиперэкспрессия ERBB2 присутствует в 43 (27,7 %) случаях. Оценка ERBB2-статуса методом ИГХ проведена в 136 образцах опухолевой ткани. Гиперэкспрессия онкопротеина по результатам ИГХ отмечена в 39 (28,9 %) образцах, из которых категория 3+ определена у 22, категория 2+ — у 17 пациентов. Низкий уровень экспрессии (категории 0 и 1+) присутствовал в 97 (71,1 %) случаях. Сопоставление результатов двух методов оценки статуса ERBB2 продемонстрировало высокое соответствие данных двух методов в отношении случаев РМЖ категорий 0 и 1+ (89,7 и 75,9 % соответственно) и подтвердило необходимость обязательного использования ИГХ для подтверждения ERBB2-позитивности у больных с гиперэкспрессией протоонкогена по данным ПЦР.

Несовпадение результатов тестирования двумя методами отмечено в 29 образцах. В 15 параллельных исследованиях гиперэкспрессия ERBB2 (2+ и 3+) не подтверждена результатами ПЦР, в 14 случаях гиперэкспрессия ERBB2 не соответствовала данным ИГХ исследования. Статистический анализ показал отсутствие значимых различий ( $p_{\text{Ханцель—Мантеля}} = 0,0584$  или  $\varphi_{\text{Эмп.}} = 1,04$ ;  $\varphi_{\text{Эмп.}} < \varphi_{\text{кр.1,64}}$  для  $p = 0,05$ ) в выявлении гиперэкспрессии ERBB2 с помощью ИГХ и ПЦР. Важно подчеркнуть, что наименьшее число совпадений результатов ПЦР и ИГХ отмечено в группе 2+, а наибольшее в группе 1+. Полученные данные согласуются с данными аналогичных работ других исследователей. Например, в работе Nistor et al. (2006) говорится о несовпадении результатов FISH и ИГХ 75 % в категории ++ по данным ИГХ при высоком проценте совпадения результатов количественной ПЦР и FISH в этой же категории [33]. Kulka et al. (2006) приводят схожие данные. Согласно их результатам, менее всего ИГХ и ПЦР совпадают в группе 2+, а результаты ПЦР и FISH практически полностью схожи [34].

По данным различных авторов, 25—35 % случаев РМЖ характеризуется полисомией хромосомы 17, которая сопровождается соответствующим увеличением количества копий генов и, как правило, повышенной экспрессией кодируемых белков. При проведении ИГХ-оценки ERBB2-статуса это часто приводит к ложнопозитивной интерпретации результатов теста. При этом существенно более высокая частота полисомии отмечается у больных РМЖ категории 3+ [35; 36]. Увеличение количества хромосом 17 в опухолевых клетках без амплификации гена статистически значимо коррелирует с ложной позитивностью у больных данной группы [37]. Одним из объяснений несовпадения результатов тестирования в нашем исследовании может являться именно данный факт, что требует в дальнейшем дополнительного проведения FISH. Таким образом, данные многочисленных наблюдений [38—40] свидетельствуют о важности деликатности в интерпретации результатов тестирования ERBB2-статуса, что обусловлено частым несоответствием данных различных методов, а также вероятностью полисомии хромосомы 17.

### Заключение

Проведена оценка уровня экспрессии протоонкогена ERBB2 в 155 образцах опухолей молочной железы человека с помощью ПЦР в режиме реального времени. Проведен сравнительный анализ пригодности генов POLR2A и GAPDH в качестве внутреннего контроля амплификации. Полноразмерные кДНК генов ERBB2 и GAPDH были клонированы для создания положительных контролей амплификации, а также калибровочных проб, используемых для построения стандартной кривой. Проведен сравнительный анализ результатов количественного исследования относительного уровня экспрессии протоонкогена ERBB2 с данными ИГХ исследования тех же образцов. Сопоставление результатов двух методов оценки статуса ERBB2 продемонстрировало высокое соответствие данных в отношении случаев РМЖ категорий 0 и 1+ (89,7 и 75,9 % соответственно) и подтвердило необходимость обязательного использования ИГХ для подтверждения ERBB2-позитивности у больных с гиперэкспрессией протоонкогена по данным ПЦР. Предлагаемый способ оценки уровня экспрессии ERBB2 характеризуется быстротой, экономичностью, получением количественного результата при минимальном содержании РНК в пробе и может являться дополнением к стандартным методикам (FISH, ИГХ) определения ERBB2-статуса у больных РМЖ.

Работа выполнена в рамках задания № 04.07 ГНТП «Лечебно-диагностические технологии», подпрограммы «Онкология» сотрудниками лаборатории белковой инженерии Института биоорганической химии НАН Беларуси совместно с отделом методов ядерной медицины и молекулярного анализа РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Х06М-175).

Коллектив авторов выражает благодарность за оказанную поддержку директору РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова члену-корреспонденту И. В. Залуцкому, руководителю отдела доктору биологических наук Р. М. Смоляковой и директору Института биоорганической химии НАН Беларуси академику Ф. А. Лахвичу. За оказанную квалифицированную помощь в статистической обработке полученных данных авторы благодарят заведующую сектором методики и практики полевых исследований Института социологии НАН Беларуси Е. М. Бородачеву и сотрудника организационно-методического отдела РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова И. С. Прудывуса.

### Литература

1. A b e l e v G. I. et al. // Biochemistry. 2008. Vol. 73, № 5. P. 487—497.
2. A k i y a m a T. et al. // Science. 1986. Vol. 232. P. 1644—1646.
3. H a r a r i D. et al. // Oncogene. 2000. Vol. 19. P. 6102—6114.
4. Y a r d e n Y. et al. // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2001. Vol. 2. P. 127—137.
5. K l a p p e r L. N. et al. // Cancer Res. 2000. Vol. 60. P. 3384—3388.
6. R o s s J. S. et al. // The Oncologist. 2003. Vol. 8. P. 307—325.
7. R u d l o w s k i C. et al. // Breast Cancer Res. Treat. 2004. Vol. 84. P. 215—223.
8. H u a n g H. J. et al. // Breast Cancer Res. Treat. 2005. Vol. 91. P. 81—87.
9. O l s e n K. E. et al. // Acta Oncologica. 2004. Vol. 43, № 1. P. 35—42.

10. Pritchard K. I. et al. // *N. Engl. J. Med.* 2006. Vol. 354, № 20. P. 2103—2111.
11. Dowsett M. et al. // *Ann. of Oncol.* 2006. Vol. 17, № 5. P. 818—826.
12. Rodenhuis S. et al. // *Ann. of Oncol.* 2006. Vol. 17, № 4. P. 588—596.
13. Piccart-Gebhart M. J. et al. // *N. Engl. J. Med.* 2005. Vol. 353, № 16. P. 1659—1672.
14. Romond E. H. et al. // *N. Engl. J. Med.* 2005. Vol. 353, № 16. P. 1673—1684.
15. Veer L. et al. // *Nature.* 2002. Vol. 415. P. 530—536.
16. Zhang Y. et al. // *The Lancet.* 2005. Vol. 365. P. 671—679.
17. Bhargava R. et al. // *Modern Pathology.* 2005. Vol. 18. P. 1027—1033.
18. Chiu S. H. // *Artif. Intell. Med.* 2008. Vol. 44, N 3. P. 221—231.
19. Клименко С. В. // *Онкология.* 2007. Т. 9, № 3. С. 175—178.
20. Имянитов Е. Н. // X Рос. онколог. конгресс. Москва, 21—23 ноября 2006 г. / РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН; отв. ред. М. Б. Стенина. М., 2006. С. 105—107.
21. Vinatzer U. et al. // *Clin. Cancer Res.* Vol. 11. P. 8348—8357.
22. vom R. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1990. Vol. 28. P. 495—503.
23. Gribanov P. G. et al. // *Biokhimiya.* 1996. Vol. 61. P. 1064—1070.
24. Gribanov O. G. et al. // *Bioorg. Khim.* 1997. Vol. 23. P. 763—765.
25. Kristensen T. et al. // *Nucleic. Acids Res.* 1987. Vol. 15. P. 5507—5516.
26. Oh E. T. et al. // *J. Microbiol. Meth.* 2003. Vol. 52. P. 395—398.
27. Wong L. W. // *Biotechniques.* 2005. Vol. 39, № 1. P. 75—85.
28. Vaerman J. L. // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2004. Vol. 18, № 2. P. 212—214.
29. Rosa-Pardicas J. et al. // *Stat. Med.* 2009. Vol. 28, № 2. P. 240—259.
30. Наследов А. Д. SPSS: Компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках. 2-е изд. СПб., 2007. — 416 с.
31. Riffenburgh R. H. *Statistics In Medicine.* 2<sup>nd</sup> ed. United States: Elsevier Science & Technology, 2005. — 672 p.
32. Touchberry C. H. D. et al. // *J. of Biomolecular Techniques.* 2006. Vol. 17. P. 157—162.
33. Nistor A. et al. // *BMC Clin. Pathol.* 2006. Vol. 6. P. 1—8.
34. Kulka J. et al. // *Pathology Oncology Res.* 2006. Vol. 12. P. 197.
35. Ma Y. et al. // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11. P. 4393—4399.
36. Varshney D. et al. // *Am. J. Clin. Pathol.* 2004. Vol. 121. P. 707—709.
37. Lal P. et al. // *J. Mol. Diagn.* 2003. Vol. 5, № 3. P. 155—159.
38. Dreilich M. et al. // *Diseases of the Esophagus.* 2006. Vol. 19. P. 224—231.
39. Pellegrini C. et al. // *Clin. Cancer Res.* 2003. Vol. 9. P. 3645—3652.
40. Umemura S. et al. // *Am. J. Clin. Pathol.* 2008. Vol. 130, № 6. P. 883—891.

A. S. BABENKO, H. I. SUBOCH, A. A. GILEP, S. A. USANOV

#### THE ESTIMATION OF ERBB2 PROTOONCOGENE RELATIVE EXPRESSION LEVEL BY REAL TIME PCR

##### Summary

In this paper we proposed a method of quantifying the relative level of expression ERBB2 protooncogen. The comparative analysis of suitability of genes POLR2A and GAPDH for use as the internal control of amplification is carried out. It was found that the gene POLR2A can not be used as a reference for assessing the relative level of expression of ERBB2 as between the levels of expression of these genes no statistically significant relationship. The relative level of expression of ERBB2 determined in 155 samples of breast tumors. To create a positive control amplification, as well as the calibration samples used to construct a standard curve of cloned full cDNA ERBB2 gene and GAPDH. The comparative analysis of results of quantitative research of relative level of an expression ERBB2 with the data of immunohistochemical (IGH) study of the same samples is conducted. A comparison of the results of two methods for assessing the status of ERBB2 demonstrated high compliance in respect of cases of breast cancer, the categories 0 and 1+ (89,7 and 75,9 % respectively) and confirmed the need for mandatory use of IGH to confirm ERBB2-positivity in patients with protooncogen hyperexpression according to the polymerase chain reaction (PCR) in real time.

ВЕСТНИК ФОНДА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ, № 1, 2009

*на русском и белорусском языках*

Редактор Т. П. Петрович

Компьютерная верстка Л. И. Кудерко

Подписано в печать 27.03.2009. Выход в свет 31.03.2009. Формат 70 × 100<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бум. офсетная. Гарнитура Times ET.  
Усл. печ. л. 8,29. Усл. кр.-отг. 9,1. Уч.-изд. л. 6,8. Тираж 169 экз. Заказ 143.

Цена номера: индивидуальная подписка — 16210 руб.; ведомственная подписка — 16271 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».