



ISSN 2410-6593 (Print)  
ISSN 2686-7575 (Online)

# ТОНКИЕ ХИМИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

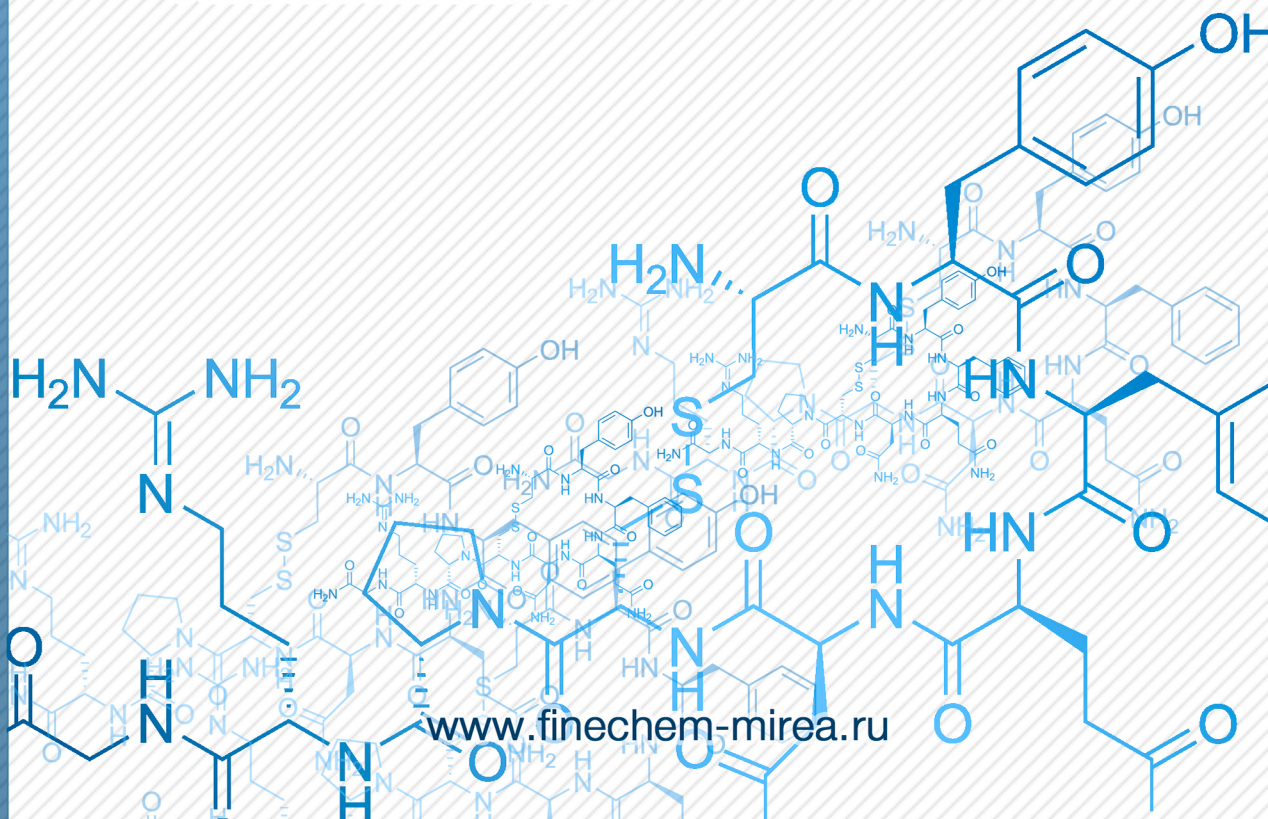
## Fine Chemical Technologies

- | Теоретические основы химической технологии
- | Химия и технология органических веществ
- | Химия и технология лекарственных препаратов и биологически активных соединений
- | Биохимия и биотехнология
- | Синтез и переработка полимеров и композитов на их основе
- | Химия и технология неорганических материалов
- | Аналитические методы в химии и химической технологии
- | Математические методы и информационные системы в химической технологии

19(3)

2024

[www.finechem-mirea.ru](http://www.finechem-mirea.ru)





ISSN 2410-6593 (Print)  
ISSN 2686-7575 (Online)

# ТОНКИЕ ХИМИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

## Fine Chemical Technologies

- | Теоретические основы химической технологии
- | Химия и технология органических веществ
- | Химия и технология лекарственных препаратов и биологически активных соединений
- | Биохимия и биотехнология
- | Синтез и переработка полимеров и композитов на их основе
- | Химия и технология неорганических материалов
- | Аналитические методы в химии и химической технологии
- | Математические методы и информационные системы в химической технологии

Тонкие химические технологии =  
Fine Chemical Technologies.  
**Том 19, № 3, 2024**

Tonkie Khimicheskie Tekhnologii =  
Fine Chemical Technologies.  
**Vol. 19, No. 3, 2024**

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3>  
[www.finechem-mirea.ru](http://www.finechem-mirea.ru)

**Тонкие химические технологии =  
Fine Chemical Technologies  
2024, том 19, № 3**

Научно-технический рецензируемый журнал «Тонкие химические технологии» освещает современные достижения фундаментальных и прикладных исследований в области тонких химических технологий, включая теоретические основы химической технологии, химию и технологию лекарственных препаратов и биологически активных соединений, органических веществ и неорганических материалов, биохимию и биотехнологию, синтез и переработку полимеров и композитов на их основе, аналитические и математические методы и информационные системы в химии и химической технологии.

**Учредитель и издатель**

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» 119454, РФ, Москва, пр-т Вернадского, д. 78.  
Периодичность: один раз в два месяца.  
Журнал основан в 2006 году. До 2015 года издавался под названием «Вестник МИТХТ» (ISSN 1819-1487).

**Журнал входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов ВАК РФ.**

**Индексируется:** SCOPUS, DOAJ, Chemical Abstracts, РИНЦ (Science Index), RSCI, Ulrich's International Periodicals Directory

**Главный редактор:**

**Тимошенко Андрей Всеволодович** – д.т.н., к.х.н., профессор, МИРЭА – Российский технологический университет, Москва, Российская Федерация. Scopus Author ID 56576076700, ResearcherID Y-8709-2018, <https://orcid.org/0000-0002-6511-7440>, [timoshenko@mirea.ru](mailto:timoshenko@mirea.ru)

**Заместитель главного редактора:**

**Фомичёв Валерий Вячеславович** – д.х.н., профессор, МИРЭА – Российский технологический университет, Москва, Российская Федерация. Scopus Author ID 57196028937, <http://orcid.org/0000-0003-4840-0655>, [fomichev@mirea.ru](mailto:fomichev@mirea.ru)

**Выпускающий редактор:**

**Дураков Сергей Алексеевич** – к.х.н., доцент, МИРЭА – Российский технологический университет, Москва, Российская Федерация, Scopus Author ID 57194217518, ResearcherID AAS-6578-2020, <http://orcid.org/0000-0003-4842-3283>, [durakov@mirea.ru](mailto:durakov@mirea.ru)

**Редакция:**

|                      |                                                                                                                      |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Зав. редакцией       | к.т.н. Г.Д. Середина                                                                                                 |
| Редактор             | С.М. Мазина                                                                                                          |
| Научные редакторы    | д.х.н., проф. Т.М. Буслаева<br>д.х.н., проф. А.А. Ищенко<br>д.т.н., проф. А.В. Марков<br>д.х.н., проф. В.А. Тверской |
| Компьютерная верстка | С.В. Трофимов                                                                                                        |

119571, Москва, пр. Вернадского, 86, оф. Л-119.  
Тел.: +7 (499) 600-80-80 (#31288)  
E-mail: [seredina@mirea.ru](mailto:seredina@mirea.ru)

Регистрационный номер и дата принятия решения о регистрации СМИ: ПИ № ФС 77-74580 от 14.12.2018 г. СМИ зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Индекс по Объединенному каталогу «Пресса России»: **36924**

**Tonkie Khimicheskie Tekhnologii =  
Fine Chemical Technologies  
2024, Vol. 19, No. 3**

The peer-reviewed scientific and technical journal Fine Chemical Technologies highlights the modern achievements of fundamental and applied research in the field of fine chemical technologies, including theoretical bases of chemical technology, chemistry and technology of medicinal compounds and biologically active substances, organic substances and inorganic materials, biochemistry and biotechnology, synthesis and processing of polymers and polymeric composites, analytical and mathematical methods and information systems in chemistry and chemical technology.

**Founder and Publisher**

Federal State Budget  
Educational Institution of Higher Education  
“MIREA – Russian Technological University”  
78, Vernadskogo pr., Moscow, 119454, Russian Federation.  
Publication frequency: bimonthly.  
The journal was founded in 2006. The name was Vestnik MITHT until 2015 (ISSN 1819-1487).

**The journal is included into the List of peer-reviewed science press of the State Commission for Academic Degrees and Titles of the Russian Federation.**

**The journal is indexed:** SCOPUS, DOAJ, Chemical Abstracts, Science Index, RSCI, Ulrich's International Periodicals Directory

**Editor-in-Chief:**

**Andrey V. Timoshenko** – Dr. Sci. (Eng.), Cand. Sci. (Chem.), Professor, MIREA – Russian Technological University, Moscow, Russian Federation. Scopus Author ID 56576076700, ResearcherID Y-8709-2018, <https://orcid.org/0000-0002-6511-7440>, [timoshenko@mirea.ru](mailto:timoshenko@mirea.ru)

**Deputy Editor-in-Chief:**

**Valery V. Fomichev** – Dr. Sci. (Chem.), Professor, MIREA – Russian Technological University, Moscow, Russian Federation. Scopus Author ID 57196028937, <http://orcid.org/0000-0003-4840-0655>, [fomichev@mirea.ru](mailto:fomichev@mirea.ru)

**Executive Editor:**

**Sergey A. Durakov** – Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, MIREA – Russian Technological University, Moscow, Russian Federation, Scopus Author ID 57194217518, ResearcherID AAS-6578-2020, <http://orcid.org/0000-0003-4842-3283>, [durakov@mirea.ru](mailto:durakov@mirea.ru)

**Editorial staff:**

|                    |                                                                                                                                                                                          |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Managing Editor    | Cand. Sci. (Eng.) Galina D. Seredina                                                                                                                                                     |
| Editor             | Sofya M. Mazina                                                                                                                                                                          |
| Science editors    | Dr. Sci. (Chem.), Prof. Tatyana M. Buslaeva<br>Dr. Sci. (Chem.), Prof. Anatolii A. Ischenko<br>Dr. Sci. (Eng.), Prof. Anatolii V. Markov<br>Dr. Sci. (Chem.), Prof. Vladimir A. Tverskoy |
| Desktop publishing | Sergey V. Trofimov                                                                                                                                                                       |

86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russian Federation.  
Phone: +7 (499) 600-80-80 (#31288)  
E-mail: [seredina@mirea.ru](mailto:seredina@mirea.ru)

The registration number ПИ № ФС 77-74580 was issued in December 14, 2018 by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media of Russia

The subscription index of *Pressa Rossii*: **36924**

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Блохин Андрей Викторович** – д.х.н., профессор  
Белорусского государственного университета, Минск,  
Беларусь.  
Scopus Author ID 7101971167, ResearcherID AAF-8122-2019,  
<https://orcid.org/0000-0003-4778-5872>,  
[blokhin@bsu.by](mailto:blokhin@bsu.by).

**Верёвкин Сергей Петрович** – д.т.н., профессор  
Университета г. Росток, Росток, Германия.  
Scopus Author ID 7006607848, ResearcherID G-3243-2011,  
<https://orcid.org/0000-0002-0957-5594>,  
[Sergey.verevkin@uni-rostock.de](mailto:Sergey.verevkin@uni-rostock.de).

**Жижин Константин Юрьевич** – член-корр.  
Российской академии наук (РАН), д.х.н., профессор,  
Институт общей и неорганической химии  
им. Н.С. Курнакова РАН, Москва, Российская Федерация.  
Scopus Author ID 6701495620, ResearcherID C-5681-2013,  
<http://orcid.org/0000-0002-4475-124X>,  
[kyuzhizhin@igic.ras.ru](mailto:kyuzhizhin@igic.ras.ru).

**Иванов Игорь Владимирович** – д.х.н., профессор,  
МИРЭА – Российский технологический университет,  
Москва, Российская Федерация.  
Scopus Author ID 34770109800, ResearcherID I-5606-2016,  
<http://orcid.org/0000-0003-0543-2067>,  
[ivanov\\_i@mirea.ru](mailto:ivanov_i@mirea.ru).

**Кардона Карлос Ариэль** – PhD, профессор  
Национального университета Колумбии, Манисалес,  
Колумбия.  
Scopus Author ID 7004278560,  
<http://orcid.org/0000-0002-0237-2313>,  
[ccardonaal@unal.edu.co](mailto:ccardonaal@unal.edu.co).

**Крутько Эльвира Тихоновна** – д.т.н., профессор  
Белорусского государственного технологического  
университета, Минск, Беларусь.  
Scopus Author ID 6602297257,  
[ela\\_krutko@mail.ru](mailto:ela_krutko@mail.ru).

**Мирошников Анатолий Иванович** – академик РАН,  
д.х.н., профессор, Институт биоорганической  
химии им. академиков М.М. Шемякина  
и Ю.А. Овчинникова РАН, член Президиума РАН,  
председатель Президиума Пушкинского научного  
центра РАН, Москва, Российская Федерация.  
Scopus Author ID 7006592304, ResearcherID G-5017-2017,  
[aiv@ibch.ru](mailto:aiv@ibch.ru).

**Музафаров Азиз Мансурович** – академик РАН,  
д.х.н., профессор, Институт элементоорганических  
соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва,  
Российская Федерация.  
Scopus Author ID 7004472780, ResearcherID G-1644-2011,  
<https://orcid.org/0000-0002-3050-3253>,  
[aziz@ineos.ac.ru](mailto:aziz@ineos.ac.ru).

## EDITORIAL BOARD

**Andrey V. Blokhin** – Dr. Sci. (Chem.), Professor,  
Belarusian State University, Minsk, Belarus.  
Scopus Author ID 7101971167,  
ResearcherID AAF-8122-2019,  
<https://orcid.org/0000-0003-4778-5872>,  
[blokhin@bsu.by](mailto:blokhin@bsu.by).

**Sergey P. Verevkin** – Dr. Sci. (Eng.), Professor,  
University of Rostock, Rostock, Germany.  
Scopus Author ID 7006607848, ResearcherID G-3243-2011,  
<https://orcid.org/0000-0002-0957-5594>,  
[Sergey.verevkin@uni-rostock.de](mailto:Sergey.verevkin@uni-rostock.de).

**Konstantin Yu. Zhizhin** – Corresponding Member  
of the Russian Academy of Sciences (RAS), Dr. Sci. (Chem.),  
Professor, N.S. Kurnakov Institute of General and Inorganic  
Chemistry of the RAS, Moscow, Russian Federation.  
Scopus Author ID 6701495620, ResearcherID C-5681-2013,  
<http://orcid.org/0000-0002-4475-124X>,  
[kyuzhizhin@igic.ras.ru](mailto:kyuzhizhin@igic.ras.ru).

**Igor V. Ivanov** – Dr. Sci. (Chem.), Professor,  
MIREA – Russian Technological University, Moscow,  
Russian Federation.  
Scopus Author ID 34770109800, ResearcherID I-5606-2016,  
<http://orcid.org/0000-0003-0543-2067>,  
[ivanov\\_i@mirea.ru](mailto:ivanov_i@mirea.ru).

**Carlos A. Cardona** – PhD (Eng.), Professor,  
National University of Columbia, Manizales,  
Colombia.  
Scopus Author ID 7004278560,  
<http://orcid.org/0000-0002-0237-2313>,  
[ccardonaal@unal.edu.co](mailto:ccardonaal@unal.edu.co).

**Elvira T. Krut'ko** – Dr. Sci. (Eng.), Professor,  
Belarusian State Technological University,  
Minsk, Belarus.  
Scopus Author ID 6602297257,  
[ela\\_krutko@mail.ru](mailto:ela_krutko@mail.ru).

**Anatolii I. Miroshnikov** – Academician at the RAS,  
Dr. Sci. (Chem.), Professor, M.M. Shemyakin  
and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry  
of the RAS, Member of the Presidium of the RAS,  
Chairman of the Presidium of the RAS Pushchino  
Research Center, Moscow, Russian Federation.  
Scopus Author ID 7006592304, ResearcherID G-5017-2017,  
[aiv@ibch.ru](mailto:aiv@ibch.ru).

**Aziz M. Muzafarov** – Academician at the RAS,  
Dr. Sci. (Chem.), Professor, A.N. Nesmeyanov Institute  
of Organoelement Compounds of the RAS, Moscow,  
Russian Federation.  
Scopus Author ID 7004472780, ResearcherID G-1644-2011,  
<https://orcid.org/0000-0002-3050-3253>,  
[aziz@ineos.ac.ru](mailto:aziz@ineos.ac.ru).

**Новаков Иван Александрович** – академик РАН, д.х.н., профессор, президент Волгоградского государственного технического университета, Волгоград, Российская Федерация. Scopus Author ID 7003436556, ResearcherID I-4668-2015, <http://orcid.org/0000-0002-0980-6591>, [president@vstu.ru](mailto:president@vstu.ru).

**Озерин Александр Никифорович** – член-корр. РАН, д.х.н., профессор, Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН, Москва, Российская Федерация. Scopus Author ID 7006188944, ResearcherID J-1866-2018, <https://orcid.org/0000-0001-7505-6090>, [ozerin@ispm.ru](mailto:ozerin@ispm.ru).

**Пакканен Тапани** – PhD, профессор, Департамент химии, Университет Восточной Финляндии, Йоенсуу, Финляндия. Scopus Author ID 7102310323, [tapani.pakkanen@uef.fi](mailto:tapani.pakkanen@uef.fi).

**Помбейро Армандо** – академик Академии наук Лиссабона, PhD, профессор, президент Центра структурной химии Высшего технического института Университета Лиссабона, Португалия. Scopus Author ID 7006067269, ResearcherID I-5945-2012, <https://orcid.org/0000-0001-8323-888X>, [pombeiro@ist.utl.pt](mailto:pombeiro@ist.utl.pt).

**Пышный Дмитрий Владимирович** – член-корр. РАН, д.х.н., профессор, Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Российская Федерация. Scopus Author ID 7006677629, ResearcherID F-4729-2013, <https://orcid.org/0000-0002-2587-3719>, [pyshnyi@niboch.nsc.ru](mailto:pyshnyi@niboch.nsc.ru).

**Сигов Александр Сергеевич** – академик РАН, д.ф.-м.н., профессор, президент МИРЭА – Российского технологического университета, Москва, Российская Федерация. Scopus Author ID 35557510600, ResearcherID L-4103-2017, [sigov@mirea.ru](mailto:sigov@mirea.ru).

**Тойкка Александр Матвеевич** – д.х.н., профессор, Институт химии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация. Scopus Author ID 6603464176, ResearcherID A-5698-2010, <http://orcid.org/0000-0002-1863-5528>, [a.toikka@spbu.ru](mailto:a.toikka@spbu.ru).

**Трохимчук Анджеј** – д.х.н., профессор, Химический факультет Вроцлавского политехнического университета, Вроцлав, Польша. Scopus Author ID 7003604847, [andrzej.trochimczuk@pwr.edu.pl](mailto:andrzej.trochimczuk@pwr.edu.pl).

**Цивадзе Аслан Юсупович** – академик РАН, д.х.н., профессор, Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, Российская Федерация. Scopus Author ID 7004245066, ResearcherID G-7422-2014, [tsiv@phyche.ac.ru](mailto:tsiv@phyche.ac.ru).

**Ivan A. Novakov** – Academician at the RAS, Dr. Sci. (Chem.), Professor, President of the Volgograd State Technical University, Volgograd, Russian Federation. Scopus Author ID 7003436556, ResearcherID I-4668-2015, <http://orcid.org/0000-0002-0980-6591>, [president@vstu.ru](mailto:president@vstu.ru).

**Alexander N. Ozerin** – Corresponding Member of the RAS, Dr. Sci. (Chem.), Professor, Enikolopov Institute of Synthetic Polymeric Materials of the RAS, Moscow, Russian Federation. Scopus Author ID 7006188944, ResearcherID J-1866-2018, <https://orcid.org/0000-0001-7505-6090>, [ozerin@ispm.ru](mailto:ozerin@ispm.ru).

**Tapani A. Pakkanen** – PhD, Professor, Department of Chemistry, University of Eastern Finland, Joensuu, Finland. Scopus Author ID 7102310323, [tapani.pakkanen@uef.fi](mailto:tapani.pakkanen@uef.fi).

**Armando J.L. Pombeiro** – Academician at the Academy of Sciences of Lisbon, PhD, Professor, President of the Center for Structural Chemistry of the Higher Technical Institute of the University of Lisbon, Lisbon, Portugal. Scopus Author ID 7006067269, ResearcherID I-5945-2012, <https://orcid.org/0000-0001-8323-888X>, [pombeiro@ist.utl.pt](mailto:pombeiro@ist.utl.pt).

**Dmitrii V. Pyshnyi** – Corresponding Member of the RAS, Dr. Sci. (Chem.), Professor, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk, Russian Federation. Scopus Author ID 7006677629, ResearcherID F-4729-2013, <https://orcid.org/0000-0002-2587-3719>, [pyshnyi@niboch.nsc.ru](mailto:pyshnyi@niboch.nsc.ru).

**Alexander S. Sigov** – Academician at the RAS, Dr. Sci. (Phys. and Math.), Professor, President of MIREA – Russian Technological University, Moscow, Russian Federation. Scopus Author ID 35557510600, ResearcherID L-4103-2017, [sigov@mirea.ru](mailto:sigov@mirea.ru).

**Alexander M. Toikka** – Dr. Sci. (Chem.), Professor, Institute of Chemistry, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation. Scopus Author ID 6603464176, ResearcherID A-5698-2010, <http://orcid.org/0000-0002-1863-5528>, [a.toikka@spbu.ru](mailto:a.toikka@spbu.ru).

**Andrzej W. Trochimczuk** – Dr. Sci. (Chem.), Professor, Faculty of Chemistry, Wrocław University of Science and Technology, Wrocław, Poland. Scopus Author ID 7003604847, [andrzej.trochimczuk@pwr.edu.pl](mailto:andrzej.trochimczuk@pwr.edu.pl).

**Aslan Yu. Tsivadze** – Academician at the RAS, Dr. Sci. (Chem.), Professor, A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of the RAS, Moscow, Russian Federation. Scopus Author ID 7004245066, ResearcherID G-7422-2014, [tsiv@phyche.ac.ru](mailto:tsiv@phyche.ac.ru).

## СОДЕРЖАНИЕ

---

### ЮБИЛЕИ

- 181** | Поздравляем академика Ивана Александровича Новакова с 75-летним юбилеем!

### ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ХИМИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ

- 183** | *В.А. Габрин, Т.Е. Никифорова, В.А. Козлов, П.Б. Разговоров*  
Концентрирование ионов тяжелых металлов из водных сред в динамических условиях композиционным сорбентом на основе хитозана и диоксида кремния

### ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

- 192** | *Н.Т. Севостьянова, С.А. Баташев, А.С. Родионова, Д.К. Козленко*  
Влияние гексанола-2 и метанола на совмещенный процесс дегидратации и алкоксикарбонилирования для синтеза сложных эфиров

### ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

- 202** | *Т.Г. Бодрова, У.А. Буданова, Ю.Л. Себякин*  
Производные L-орнитина с гетарильными и алкильными фрагментами в структуре: синтез и антибактериальная активность
- 214** | *М.А. Захарова, М.В. Чудинов*  
Технология PROTAC® и перспективы ее применения в борьбе с инфекциями

### БИОХИМИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

- 232** | *В.И. Логинов, М.С. Губенко, А.М. Бурденный, И.В. Пронина, П.В. Постников, Ю.А. Ефимова, Ф.В. Радус, Е.С. Мочалова, Т.П. Казубская*  
Метилирование группы генов микроРНК как маркер диагностики и прогноза немелкоклеточного рака легкого
- 240** | *Д.М. Полянский, Е.И. Рябова, А.А. Деркаев, Н.С. Старков, И.С. Кашапова, Д.В. Щебляков, А.П. Карпов, И.Б. Есмагамбетов*  
Разработка технологии культивирования клеточной линии, продуцирующей однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом IgG1 человека

### ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ НЕОРГАНИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

- 258** | *Е.И. Ефремова, М.А. Лазов, М.Р. Кобрин, В.В. Фомичев*  
Твердые растворы в системах дисульфидов  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Ti(IV)S}_2$ ,  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Mo(IV)S}_2$  и  $\text{Re(IV)S}_2\text{--W(IV)S}_2$

## Contents

---

### ANNIVERSARIES

- 181** | Congratulations to Academician Ivan Aleksandrovich Novakov on his 75th birthday!

### THEORETICAL BASES OF CHEMICAL TECHNOLOGY

- 183** | *Victoria A. Gabrin, Tatiana E. Nikiforova, Vladimir A. Kozlov, Pavel B. Razgovorov*  
Concentration of heavy metal ions from aqueous media under dynamic conditions using a composite sorbent based on chitosan and silica

### CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ORGANIC SUBSTANCES

- 192** | *Nadezhda T. Sevostyanova, Sergey A. Batashev, Anastasia S. Rodionova, Dar'ya K. Kozlenko*  
Effect of 2-hexanol and methanol on the *one-pot* process of dehydration and alkoxycarbonylation for the synthesis of esters

### CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF MEDICINAL COMPOUNDS AND BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

- 202** | *Tatyana G. Bodrova, Ulyana A. Budanova, Yury L. Sebyakin*  
L-Ornithine derivatives with structural hetaryl and alkyl moiety: Synthesis and antibacterial activity
- 214** | *Maria A. Zakharova, Mikhail V. Chudinov*  
PROTAC<sup>®</sup> technology and potential for its application in infection control

### BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY

- 232** | *Vitaliy I. Loginov, Marina S. Gubenko, Alexey M. Burdennyy, Irina V. Pronina, Pavel V. Postnikov, Yulia A. Efimova, Fedor V. Radus, Elena S. Mochalova, Tatyana P. Kazubskaya*  
Methylation of a group of microRNA genes as a marker for the diagnosis and prognosis of non-small cell lung cancers
- 240** | *Dmitry S. Polyansky, Ekaterina I. Ryabova, Artem A. Derkaev, Nikita S. Starkov, Irina S. Kashapova, Dmitry V. Shcheblyakov, Andrey P. Karpov, Ilias B. Esmagambetov*  
Development of technology for culturing a cell line producing a single-domain antibody fused with the Fc fragment of human IgG1

### CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF INORGANIC MATERIALS

- 258** | *Ekaterina I. Efremova, Mikhail A. Lazov, Mikhail R. Kobrin, Valery V. Fomichev*  
Solid solutions in disulfide systems  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Ti(IV)S}_2$ ,  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Mo(IV)S}_2$ , and  $\text{Re(IV)S}_2\text{--W(IV)S}_2$

Юбилей  
Anniversaries

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-181-182>  
EDN ZHWTCX



РЕДАКЦИОННАЯ СТАТЬЯ

## Поздравляем академика Ивана Александровича Новакова с 75-летним юбилеем!



2 июля 2024 г. исполняется 75 лет заслуженному деятелю науки Российской Федерации, академику Российской академии наук и члену редколлегии нашего журнала «Тонкие химические технологии = Fine Chemical Technologies» доктору химических наук Ивану Александровичу Новакову.

Научная, педагогическая и организационная работа Ивана Александровича неразрывно связана с Волгоградским государственным техническим университетом (ВолГТУ). В период с 1988 по 2014 гг. И.А. Новаков являлся ректором, а с 2014 г. по настоящее время он — президент ВолГТУ. С 1991 г. он возглавляет кафедру аналитической, физической химии и физико-химии полимеров.

Академик И.А. Новаков имеет заслуженные награды: почетный работник высшего профессионального образования Российской Федерации (1998 г.), Заслуженный деятель науки Российской Федерации (2004 г.), почетный работник науки и техники Российской Федерации (2009 г.). Награжден орденом «За заслуги перед Отечеством» III степени.

Академик И.А. Новаков является автором более 1500 научных работ, включая 7 монографий и 262 патентов. И.А. Новаков — член редколлегий более десяти научных изданий, среди которых журналы «Высокомолекулярные соединения», «Журнал прикладной химии», «Пластические массы», «Тонкие химические технологии = Fine Chemical Technologies» и др.

И.А. Новаков является председателем диссертационного совета 24.2.282.01 на базе ВолГТУ. Под его руководством успешно защищены 56 диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и 12 диссертаций — на соискание ученой степени доктора наук.

Фундаментальные исследования Ивана Александровича Новакова разноплановы и актуальны. Им разработаны эластомерные материалы из реакционноспособных олигомеров методом свободно-литьевого формования, не требующем применения энергоемкого и металлоемкого оборудования в закрытых помещениях. Результаты работ внедрены более чем на 3000 спортивных объектах. В 2004 г. И.А. Новаков с коллегами удостоен «Премии города-героя Волгограда» в области науки и техники.

Под руководством И.А. Новакова развито одно из приоритетных направлений современной химии полимеров, связанное с созданием тепло-, термо- и химически устойчивых полимеров на основе каркасных структур. В 2007 г. за серию работ в этом направлении И.А. Новаков с коллегами удостоен премии имени С.В. Лебедева. В 2016 г. коллектив, возглавляемый И.А. Новаковым, удостоен премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники.

Редакционная коллегия и главный редактор журнала «Тонкие химические технологии = Fine Chemical Technologies» сердечно поздравляют Ивана Александровича с 75-летием и желают ему крепкого здоровья и новых творческих успехов.

С наилучшими пожеланиями  
Главный редактор

А.В. Тимошенко

EDITORIAL ARTICLE

## Congratulations to Academician Ivan Aleksandrovich Novakov on his 75th birthday!



Ivan Aleksandrovich Novakov, Honored Scientist of the Russian Federation, Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Chemical Sciences, and Member of the Editorial Board of our journal *Tonkie Khimicheskie Tekhnologii [Fine Chemical Technologies]*, marks his 75th anniversary on July 2, 2024.

Ivan Aleksandrovich's scientific, pedagogical, and organizational work is inextricably linked with the Volgograd State Technical University (VolgSTU). From 1988–2014, he served as rector of VolgSTU; from 2014 to the present, he has been its president. Since 1991, he has also been Head of the Department of Analytical and Physical Chemistry and Physico-Chemistry of Polymers.

Academician I.A. Novakov is the recipient of many well-deserved awards: Honorary Worker of Higher Professional Education of the Russian Federation (1998), Honored Scientist of the Russian Federation (2004), Honorary Worker of Science and Technology of the Russian Federation (2009). He was also awarded the Order “For Merit to the Fatherland” (III degree).

Academician I.A. Novakov is the author of more than 1500 scientific works, including 7 monographs and 262 patents. He is a member of the editorial boards of more than ten scientific journals, including *Polymer Science*, *Russian Journal of Applied Chemistry*, *Plasticheskie Massy*, *Tonkie Khimicheskie Tekhnologii [Fine Chemical Technologies]*. Academician I.A. Novakov is the Chairman of the Dissertation Council 24.2.282.01 on the basis of VolgSTU. Under his leadership, 56 dissertations for the Degree of Candidate of Sciences and 12 dissertations for the Degree of Doctor of Sciences have been successfully defended.

The wide-ranging fundamental research of Ivan Aleksandrovich Novakov has proven its relevance in many fields. In particular, he is responsible for the development of elastomeric materials from reactive oligomers by free-injection molding, which does not require the use of energy- and metal-intensive equipment in enclosed spaces. The results of his work have been implemented at over 3000 sports facilities. In 2004, I.A. Novakov and his colleagues were awarded the Hero City of Volgograd Prize in the field of science and technology.

Under his leadership, one of the priority areas of modern polymer chemistry related to the creation of heat-, thermo-, and chemically stable polymers based on frame structures has been developed. In 2007, I.A. Novakov and his colleagues were awarded the Lebedev Prize for a series of works in this field. In 2016, the team headed by I.A. Novakov was awarded the Prize of the Government of the Russian Federation in the field of science and technology.

The Editorial Board and the Editor-in-Chief of *Tonkie Khimicheskie Tekhnologii [Fine Chemical Technologies]* cordially congratulate Ivan Aleksandrovich on his 75th birthday, wishing him good health and new creative successes.

Best regards,  
Editor-in-Chief



Andrey V. Timoshenko

Теоретические основы химической технологии  
Theoretical bases of chemical technology

УДК 544.723:546.302:547.458.5

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-183-191>

EDN UAXSVB



НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

# Концентрирование ионов тяжелых металлов из водных сред в динамических условиях композиционным сорбентом на основе хитозана и диоксида кремния

В.А. Габрин<sup>1</sup>, Т.Е. Никифорова<sup>1</sup>, В.А. Козлов<sup>1</sup>, П.Б. Разговоров<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново, 153000 Россия

<sup>2</sup> Ярославский государственный технический университет, Ярославль, 155023 Россия

✉ Автор для переписки, e-mail: [gabrinvictoria@gmail.com](mailto:gabrinvictoria@gmail.com)

## Аннотация

**Цели.** Изучение сорбционных, токсикологических и регенерационных свойств композиционного сорбента на основе гидрогеля хитозана и несuspendированного диоксида кремния («хитозан–коллоидный кремнезем»), проявляющихся в динамических условиях очистки водных растворов от ионов тяжелых металлов.

**Методы.** Полную динамическую обменную емкость композиционного сорбента «хитозан–коллоидный кремнезем» оценивали в условиях динамической сорбции, пропуская через неподвижный сорбционный слой растворы, содержащие ионы Zn(II), Cd(II), Cu(II) и Cr(III) с концентрацией 240–251 мг/л. Метод определения острой токсичности с использованием дафний (*Daphnia magna* Straus) основан на прямом счете процента смертности дафний при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой водной вытяжке, по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ. Оценку регенерационной способности сорбента определяли фиксированием количества циклов сорбции–десорбции с использованием элюентов — 0.1 М NaOH, 0.1 М NaHCO<sub>3</sub>, а также водных растворов H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 и 3%).

**Результаты.** Установлена эффективность работы композиционного сорбента «хитозан–коллоидный кремнезем» в процессе динамической очистки водных сред от ионов Cu(II), Zn(II), Cd(II) и Cr(III). Определены времена проскока ионов и насыщения разработанного сорбента и рассчитана его динамическая обменная емкость путем обработки кинетических кривых сорбции ионов тяжелых металлов, снятых при осуществлении сорбции в динамических условиях. Представлены результаты регенерации и возможность повторного использования сорбента, который способен выдерживать до пяти циклов сорбции–десорбции с сохранением степени извлечения катионов меди выше 90%.

**Выводы.** Анализ кинетических кривых показал, что движущей силой динамической очистки водных сред от тяжелых металлов полученным сорбентом является внешнедиффузионный массоперенос ионов из подвижной фазы раствора. Биотестирование образцов показало, что разработанный сорбент на основе хитозана не обладает острой токсичностью.

## Ключевые слова

адсорбция, тяжелые металлы, хитозан, композиты, биотестирование, регенерация

Поступила: 11.07.2023  
Доработана: 13.10.2023  
Принята в печать: 14.03.2024

## Для цитирования

Габрин В.А., Никифорова Т.Е., Козлов В.А., Разговоров П.Б. Концентрирование ионов тяжелых металлов из водных сред в динамических условиях композиционным сорбентом на основе хитозана и диоксида кремния. *Тонкие химические технологии*. 2024;19(3):183–191. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-183-191>

RESEARCH ARTICLE

# Concentration of heavy metal ions from aqueous media under dynamic conditions using a composite sorbent based on chitosan and silica

Victoria A. Gabrin<sup>1</sup>✉, Tatiana E. Nikiforova<sup>1</sup>, Vladimir A. Kozlov<sup>1</sup>, Pavel B. Razgovorov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Ivanovo, 153000 Russia

<sup>2</sup> Yaroslavl State Technical University, Yaroslavl, 150023 Russia

✉ Corresponding author, e-mail: gabrinvictoria@gmail.com

## Abstract

**Objectives.** The study set out to investigate the sorption, toxicological, and regeneration properties of a composite sorbent based on chitosan hydrogel and unsuspended silicon dioxide (chitosan–colloidal silica), which manifest themselves under dynamic conditions of purification of aqueous solutions, as a means of removing heavy metal ions.

**Methods.** The total dynamic exchange capacity of a chitosan–colloidal silica composite sorbent was evaluated under dynamic sorption conditions by passing solutions containing Zn(II), Cd(II), Cu(II), and Cr(III) ions having a concentration of 240–251 mg/L through a fixed sorption bed. The method for determining acute toxicity using daphnia (*Daphnia magna* Straus) is based on the direct calculation of the mortality of daphnia exposed to toxic substances contained in the test aqueous extract in comparison with a reference culture in samples that do not contain toxic substances. The regeneration ability of the sorbent was assessed by counting the number of sorption–desorption cycles using 0.1 M NaOH and 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> eluents, as well as aqueous solutions of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 and 3%).

**Results.** The effectiveness of the chitosan–colloidal silica composite sorbent in the process of dynamic purification of aqueous media to remove Cu(II), Zn(II), Cd(II), and Cr(III) ions was established. After determining the times of ion breakthrough and saturation of the developed sorbent, its dynamic exchange capacity was calculated by processing the kinetic curves of sorption of heavy metal ions under dynamic conditions. The results of regeneration of the sorbent were presented in the context of the possibility of its reuse. It is shown that the sorbent can withstand up to five sorption–desorption cycles while maintaining a level copper cation extraction above 90%.

**Conclusions.** Analysis of the kinetic curves demonstrated that the driving force behind the removal of heavy metals from aqueous media by means of the obtained sorbent is the external diffusion mass transfer of ions from the mobile phase of the solution. Biotesting of samples showed that the developed chitosan-based sorbent does not have acute toxicity.

## Keywords

heavy metals, adsorption, composites, chitosan, biotesting, regeneration

Submitted: 11.07.2023

Revised: 13.10.2023

Accepted: 14.03.2024

## For citation

Gabrin V.A., Nikiforova T.E., Kozlov V.A., Razgovorov P.B. Concentration of heavy metal ions from aqueous media under dynamic conditions using a composite sorbent based on chitosan and silica. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2024;19(3):183–191. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-183-191>

## ВВЕДЕНИЕ

Улучшение качества воды как главного технологического и жизненного ресурса до сих пор является актуальной задачей [1–3]. Совершенствование методов очистки сточных вод в настоящее время сосредоточено на модернизации ранее внедренных методов, таких как ионный обмен, электролиз, мембранное разделение, ультрафильтрация, обратный осмос, катализ, осаждение, коагуляция (флокуляция) и адсорбция [4–6]. Последний из указанных методов, благодаря энергоемкости и высокой эффективности [7–9], считается оптимальным для удаления опасных загрязнителей, в том числе тяжелых металлов. Различные материалы — силикагель,

активированный уголь, смолы, глины и полимеры — широко применяются для адсорбционной очистки водных сред. С точки зрения экономической целесообразности и экологической значимости, в течение последних двадцати лет повышенное внимание привлекают углеводные биополимеры (целлюлоза, альгинат и хитозан) в качестве альтернативных эффективных адсорбентов. Это связано с их ключевыми преимуществами — естественным изобилием, экологичностью, биоразлагаемостью, легкостью осуществления модификации и относительно низкой стоимостью производства [10]. Среди названных биополимеров хитозан является наиболее экологически безопасным углеводным биополимером с улучшенными целевыми сорбционными характеристиками [11].

К основным достоинствам адсорбентов на основе хитозана следует отнести их высокую поглощающую способность в отношении ионов тяжелых и редкоземельных металлов. Главным недостатком хитозана является его растворимость в водных растворах с  $\text{pH} < 6.5$ . В связи с этим появилось множество работ, посвященных разработке хитозансодержащих сорбентов, устойчивых в кислых средах, в которых задача решается использованием сшивающих агентов — глутарового альдегида, эпихлоргидрина, диглицидилового эфира этиленгликоля и др. [12].

Хитозан представляет собой адсорбент, позволяющий получать изделия любой формы (в виде порошка, микросфер, волокон или мембран), что резко расширяет возможности его использования для очистки сточных вод и в современной медицине. Наряду с этим, на основе хитозана могут быть получены композиционные сорбенты — сравнительно недорогие, эффективные и обладающие развитой поверхностью за счет использования в качестве наполнителей цеолитов, диатомита, диоксида кремния, диоксида титана, монтмориллонита, целлюлозы и др. Введение таких наполнителей в матрицу хитозана не всегда приводит к значительному повышению сорбционной емкости. Тем не менее, благодаря улучшению структурно-механических характеристик хитозана и снижению его расхода, разработка научных основ и технологии создания новых композиционных хитозансодержащих сорбентов является весьма перспективным направлением развития промышленной экологии [1, 7, 13].

Цель работы — изучение сорбционных, токсикологических и регенерационных свойств композиционного сорбента на основе гидрогеля хитозана и несuspendированного диоксида кремния («хитозан–коллоидный кремнезем»), проявляющихся в динамических условиях очистки водных растворов от ионов тяжелых металлов.

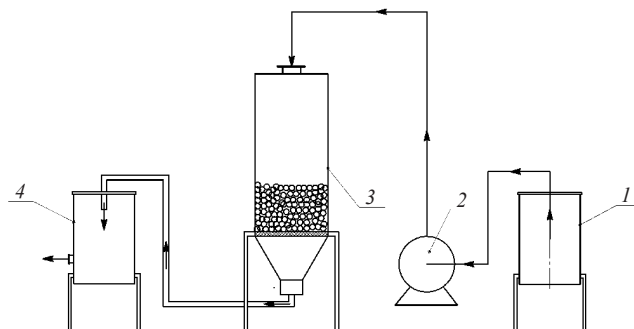
## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Материалы.** Хитозан — Биопрогресс (Россия), степень деацетилирования 88%, молярная масса 220 кДа; эпихлоргидрин (>98.0%) — компания Sigma-Aldrich (США); коллоидный кремнезем (диоксид кремния) — Ковелос 35/05 (Экокремний, Россия),  $r = 3\text{--}5$  мкм; сульфаты меди ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), цинка ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), кадмия ( $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ), хрома ( $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), гидроксид натрия, уксусная кислота 50 об. %, бикарбонат натрия и пероксид водорода (водн.) — ЛенРеактив (Россия). Указанные реагенты использовали без дополнительной очистки.

Изучение динамических сорбционных характеристик, эффективности регенерации сорбента и острой токсичности водных вытяжек проводили

для композиционного сорбента «хитозан–коллоидный кремнезем», полученного по методике [13]. Его физико-химические и структурно-механические характеристики, а также величина статической сорбции по ионам меди соответствовали описанным ранее результатам [13].

**Оборудование и методы исследования.** Полную динамическую обменную емкость (ПДОЕ) композиционного сорбента «хитозан–коллоидный кремнезем» оценивали в условиях динамической сорбции, пропуская растворы, содержащие ионы  $\text{Zn(II)}$ ,  $\text{Cd(II)}$ ,  $\text{Cu(II)}$  и  $\text{Cr(III)}$  в количестве  $240\text{--}251 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ , через неподвижный сорбционный слой. В динамическом эксперименте сорбент массой 0.2 г (в пересчете на хитозан) помещали в лабораторную колонку, входящую в состав установки (рис. 1). Каждые 10 мин раствор соли металла, проходящий через колонку, собирали для определения в нем концентрации катионов на атомно-абсорбционном спектрометре 210 VGP (Buck Scientific, США).



**Рис. 1.** Установка для изучения динамических сорбционных характеристик: (1) емкость с раствором соли металла; (2) насос; (3) ионообменная колонка с сорбентом; (4) приемная емкость

**Fig. 1.** Plant for studying dynamic sorption characteristics: (1) container with metal salt solution (electrolyte), (2) pump, (3) fixed-bed column with a sorbent, and (4) receiving container

Величину ПДОЕ определяли путем анализа полученных динамических кривых через расчет площади над выходной кривой сорбции (1), (2):

$$S = C_{\text{вх}} \times \Delta\tau_1 + \frac{C_{\text{вх}} \times \Delta\tau_2}{2}, \quad (1)$$

$$\text{ПДОЕ} = \frac{S \times Q}{m_{\text{сорб}}}, \quad (2)$$

где  $Q$  — расход раствора,  $\text{л} \cdot \text{с}^{-1}$ ;  $m_{\text{сорб}}$  — масса сорбента, помещенного в ионообменную колонку, г;  $\Delta\tau_1$  и  $\Delta\tau_2$  — время проскока и время насыщения соответственно, с;  $C_{\text{вх}}$  — концентрация ионов меди на входе,  $\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$ .

**Выявление острой токсичности сорбционного материала.** Для определения острой токсичности водной вытяжки в качестве тест-объекта использовали дафнии (*Daphnia magna* Straus). Метод основан на прямом счете процента смертности дафний при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой водной вытяжке, по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ.

Острую токсичность водной вытяжки ( $A$ , %) устанавливали по формуле (3):

$$A = \frac{X_{\text{контр}} - X_{\text{тест}}}{X_{\text{контр}}} \times 100, \quad (3)$$

где  $X_{\text{контр}}$  — количество выживших дафний в контрольной культуре;  $X_{\text{тест}}$  — количество выживших дафний в водной вытяжке. Подготовка культивируемой воды, приготовление разбавлений для исследуемых водных вытяжек для биотестирования и проведение биотестирования осуществляли согласно методике [14] для проб воды, полученных после контакта с исследуемым модифицированным сорбентом. Условия биотестирования были следующими: выращивали культуры дафний в климатостате с поддержанием 12-часового светового периода при комнатной температуре ( $25 \pm 0.1$ )°C; затем в пробирки с исследуемыми растворами, предварительно аэрированными в течение 30 мин, помещали по 10 дафний (синхронизированная культура) на 1 сут. Условия опыта соответствовали условиям культивации дафний:  $T = (20 \pm 2)$ °C, pH 7.0–8.2, время 48 ч.

**Определение количества циклов сорбции–десорбции.** Десорбция помогает оценить возможность повторного использования композиционного сорбента без потери эффективности его действия в отношении ионов тяжелых металлов. Десорбцию ионов тяжелых металлов проводили с использованием подходящих элюентов — 0.1 М NaOH, 0.1 М NaHCO<sub>3</sub>, а также водных растворов H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 и 3%). Отработанный сорбент, содержащий 0.1 г сухого хитозана, помещали в 10 мл раствора десорбирующего элюента и выдерживали в течение 10 мин. После десорбции сорбент «хитозан–коллоидный кремнезем» промывали дистиллированной водой. Регенерированный таким способом сорбент повторно использовали для извлечения ионов Cu(II) при определении количества циклов сорбции–десорбции.

В качестве показателя восстановления отработанного сорбента была выбрана эффективность регенерации.

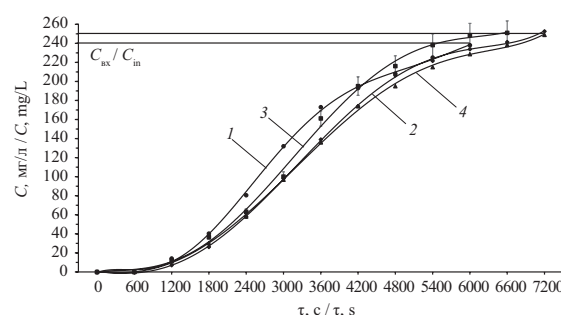
Эффективность регенерации ( $RE$ , %) сорбента рассчитывали по формуле (4):

$$RE = \frac{A_r}{A_0} \times 100, \quad (4)$$

где  $A_r$  и  $A_0$  — величина сорбции после регенерации ( $\text{мг} \cdot \text{г}^{-1}$ ) и исходная величина сорбции сорбента ( $\text{мг} \cdot \text{г}^{-1}$ ) соответственно.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Композиционный сорбент «хитозан–коллоидный кремнезем» протестирован нами в динамических условиях сорбции различных тяжелых металлов (рис. 2). Определены время проскока ионов, время насыщения сорбента, ПДОЕ (табл. 1). В эксперименте высота насыпного слоя сорбента ( $5 \cdot 10^{-2}$  м) и диаметр колонки ( $4 \cdot 10^{-2}$  м) оставались неизменными. Для расчета полной динамической обменной емкости учитывали массу сорбента и расход во времени раствора модельных сточных вод.



**Рис. 2.** Кинетические кривые сорбции ионов (1) Cu(II), (2) Cd(II), (3) Zn(II), (4) Cr(III), полученные в динамических условиях для сорбента «хитозан–коллоидный кремнезем»: pH 5.9;  $T = 298$  К;  $m_{\text{сорб}} = 0.2$  г;  $Q = 0.15$  л·ч<sup>-1</sup>

**Fig. 2.** Kinetic curves of sorption of (1) Cu(II), (2) Cd(II), (3) Zn(II), and (4) Cr(III) under dynamic conditions by the chitosan–colloidal silica sorbent at pH 5.9,  $T = 298$  K,  $m_{\text{sorb}} = 0.2$  g, and  $Q = 0.15$  L·h<sup>-1</sup>

**Таблица 1.** ПДОЕ сорбента и переменные, определенные в динамических условиях

**Table 1.** Total dynamic exchange capacity (TDEC) of the sorbent and variables determined under dynamic conditions

| Металл<br>Metal | $C_{\text{вх}}, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$<br>$C_{\text{ин}}, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$ | $m_{\text{сорб}}, \text{г}$<br>$m_{\text{sorb}}, \text{г}$ | $\tau_1, \text{с}$<br>$\tau_1, \text{s}$ | $\tau_2, \text{с}$<br>$\tau_2, \text{s}$ | ПДОЕ / TDEC                                                        |                                                                         |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
|                 |                                                                                                  |                                                            |                                          |                                          | $\text{мг} \cdot \text{г}^{-1}$<br>$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ | $\text{моль} \cdot \text{кг}^{-1}$<br>$\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ |
| Cu(II)          | 240                                                                                              | 0.2                                                        | 900                                      | 5400                                     | 180                                                                | 2.8                                                                     |
| Cd(II)          | 250                                                                                              |                                                            | 1050                                     | 6200                                     | 216                                                                | 2.0                                                                     |
| Zn(II)          | 251                                                                                              |                                                            | 1000                                     | 5800                                     | 204                                                                | 3.0                                                                     |
| Cr(III)         | 248                                                                                              |                                                            | 1100                                     | 6300                                     | 219                                                                | 4.2                                                                     |

По виду кинетических кривых сорбции, полученных в динамических условиях, можно предположить, что в процессе сорбции ионов Cu(II), Cd(II), Zn(II)

Таблица 2. Анализ острой токсичности водной вытяжки после контакта с сорбентом «хитозан–коллоидный кремнезем»

Table 2. Acute toxicity of aqueous extract after contact with the chitosan–colloidal silica sorbent

| Сорбент<br>Sorbent                                      | Кратность разбавления<br>(содержание водной<br>вытяжки, %)<br>Dilution ratio (aqueous<br>extract content), % | Количество выживших дафний<br>Number of surviving daphnia |                       | Смертность дафний<br>в опыте, %<br>Mortality of daphnia<br>in test, % |
|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|
|                                                         |                                                                                                              | Опыт<br>Test                                              | Контроль<br>Reference |                                                                       |
| Время биотестирования: 48 ч<br>Biotesting time: 48 h    |                                                                                                              |                                                           |                       |                                                                       |
| Хитозан–диоксид<br>кремния<br>Chitosan–silica composite | 10 (10)                                                                                                      | 10                                                        | 10                    | 0                                                                     |
|                                                         | 3 (33.3)                                                                                                     | 10                                                        | 10                    | 0                                                                     |
|                                                         | 1 (89)                                                                                                       | 10                                                        | 10                    | 0                                                                     |

и Cr(III) преобладает внешнедиффузионный механизм массопереноса ионов из подвижной фазы раствора в неподвижный слой сорбента. Это может быть связано с величиной кристаллографического радиуса иона. В динамике сорбционного процесса, как и в статических условиях, не исключены взаимодействия типа сорбат–сорбат, приводящие к образованию электростатически связанных ионных кластеров, которые в постоянном потоке жидкости с трудом проникают в объемную фазу по поровым каналам и задерживаются преимущественно на поверхности [15].

Дальнейшие динамические эксперименты планируется посвятить выявлению оптимальных параметров процесса и повышению эффективности использования сорбента «хитозан–коллоидный кремнезем». В первую очередь, это касается дозировки сорбента

и габаритов колонки, учитывая тот факт, что полученный материал обладает повышенной величиной сорбции (сорбционной емкостью) в статических условиях (8–10 моль/кг) [13].

Биотестирование водной вытяжки показало, что при  $A \leq 10\%$  она не оказывает острого токсического действия (табл. 2), а в случае  $A \geq 50\%$  она, напротив, обладает острым токсическим действием на живые организмы, как это показано в [14].

Биотестирование водной вытяжки показало, что в исследуемой воде через 48 ч гибель дафний составила менее 10%, что свидетельствует о нетоксичности сорбента.

Изменение эффективности регенерации при различном числе циклов сорбции–десорбции для сорбента «хитозан–коллоидный кремнезем» с использованием различных элюентов представлено на рис. 3.

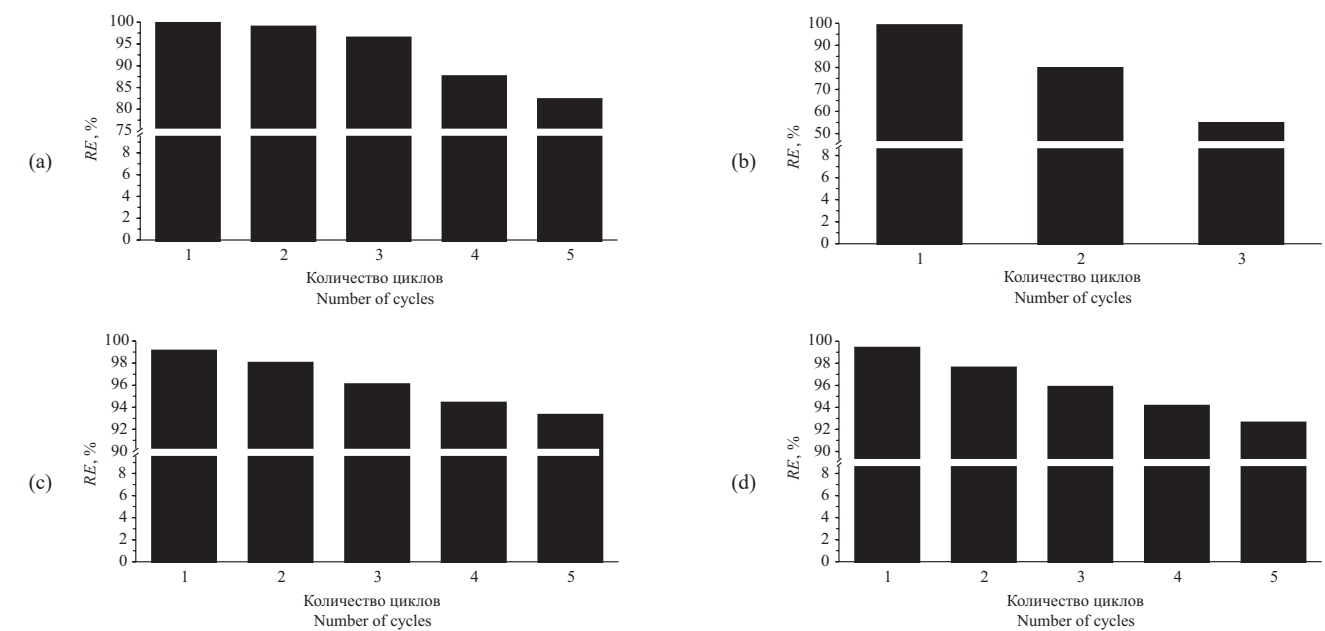


Рис. 3. Изменение эффективности регенерации сорбента «хитозан–коллоидный кремнезем» при увеличении количества циклов сорбции–десорбции. Элюенты: (а) 0.1 М NaOH; (б) 0.1 М NaHCO<sub>3</sub>; (с) 3%-ный раствор H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; (д) 1%-ный раствор H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Fig. 3. Change in the efficiency of regeneration of the chitosan–colloidal silica sorbent with increasing number of sorption–desorption cycles. Eluents: (a) 0.1 M NaOH, (b) 0.1 M NaHCO<sub>3</sub>, (c) 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and (d) 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Таблица 3.** Влияние времени контакта отработанного сорбента с элюентом на эффективность регенерации сорбента и потерю его массы в первом цикле сорбции–десорбции**Table 3.** Effect of the contact time of the spent sorbent with the eluent on the efficiency of sorbent regeneration and its mass loss in the first sorption–desorption cycle

| 0.1 M NaOH                                                                  |                                   |       | 0.1 M NaHCO <sub>3</sub>  |                                   |       | 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> |                                   |       | 1% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> |                                   |       |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------|---------------------------|-----------------------------------|-------|----------------------------------|-----------------------------------|-------|----------------------------------|-----------------------------------|-------|
| Время<br>контакта,<br>мин                                                   | Потери<br>массы<br>сорбента,<br>% | RE, % | Время<br>контакта,<br>мин | Потери<br>массы<br>сорбента,<br>% | RE, % | Время<br>контакта,<br>мин        | Потери<br>массы<br>сорбента,<br>% | RE, % | Время<br>контакта,<br>мин        | Потери<br>массы<br>сорбента,<br>% | RE, % |
| Contact<br>time, min                                                        | Sorbent<br>mass loss,<br>%        |       | Contact<br>time, min      | Sorbent<br>mass loss,<br>%        |       | Contact<br>time, min             | Sorbent<br>mass loss,<br>%        |       | Contact<br>time, min             | Sorbent<br>mass loss,<br>%        |       |
| $V_{\text{раствора}} = 10 \text{ мл} / V_{\text{solution}} = 10 \text{ mL}$ |                                   |       |                           |                                   |       |                                  |                                   |       |                                  |                                   |       |
| 1                                                                           | 0                                 | 15    | 1                         | 0                                 | 10    | 1                                | 0                                 | 2     | 1                                | 0                                 | 1     |
| 3                                                                           | 1                                 | 45    | 3                         | 0                                 | 30    | 3                                | 0                                 | 20    | 3                                | 0                                 | 25    |
| 5                                                                           | 2                                 | 70    | 5                         | 0                                 | 59    | 5                                | 0                                 | 80    | 5                                | 0                                 | 86    |
| 10                                                                          | 5                                 | 97    | 10                        | 0.5                               | 92    | 10                               | 0                                 | 97    | 10                               | 0                                 | 98    |
| 15                                                                          | 8                                 | 96    | 15                        | 2                                 | 93    | 15                               | 1                                 | 95    | 15                               | 0.5                               | 97    |

Как уже отмечалось ранее, способность к регенерации является очень важным показателем для сорбентов. Установлено, что разработанный сорбент «хитозан–коллоидный кремнезем» может сохранять эффективность извлечения ионов меди после пяти циклов сорбции–десорбции. Наиболее эффективным элюентом является раствор H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, при этом эффективность использования 1%-го раствора сопоставима с таковой для 3%-го раствора. После пяти циклов сорбции–десорбции сорбционная емкость может быть восстановлена более чем на 90%. При использовании бикарбоната натрия снижение эффективности регенерации до 47% после трех циклов делает нецелесообразным проведение дальнейших испытаний. Определено оптимальное время контакта сорбента и элюента, которое составило 10 мин (табл. 3).

Дальнейшее увеличение времени контакта сорбента и элюента не обеспечивало более эффективную регенерацию. Кроме того, увеличение времени регенерации сопровождалось значительной потерей (до 8% в первом цикле), по сравнению с исходной, массы сорбента.

Таким образом, гранулы сшитого хитозана, объемно модифицированные коллоидным кремнеземом, обладают ценными свойствами, обеспечивающими повторное их использование, и могут служить экономичным и эффективным сорбентом для извлечения ионов тяжелых металлов из водных сред.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определены динамические параметры процесса извлечения ионов тяжелых металлов на композиционном сорбенте «хитозан–коллоидный кремнезем».

Показано, что в процессе колонной сорбции ионов Cu(II), Cd(II), Zn(II) и Cr(III) из водных сред преобладает внешнедиффузионный механизм массопереноса ионов из подвижной фазы раствора в неподвижный слой сорбента. Определены условия регенерации отработанного композиционного сорбента. Выявлено, что использование в качестве восстанавливающего элюента 1%-го раствора пероксида водорода позволяет использовать полученный сорбент в пяти циклах сорбции–десорбции с сохранением степени извлечения ионов металлов выше 90%. Методом биотестирования установлено отсутствие острой токсичности водной вытяжки раствора, контактировавшего с сорбентом, по отношению к живым организмам. В дальнейшем, разработанный сорбент на основе хитозана и диоксида кремния планируется тестировать в условиях очистки водных сред, близких к производственным, чтобы оценить качество очистки водных растворов от ионов тяжелых металлов, используемых в гальванических производствах и на предприятиях по переработке углеводородов (нефтепереработке), для повышения эффективности защиты естественных водных систем и снижения антропогенной нагрузки на окружающую среду.

## Благодарности

Исследование проведено в рамках государственного задания на выполнение НИР (тема № FZZW-2024-0004) с использованием ресурсов Центра коллективного пользования научным оборудованием Ивановского государственного химико-технологического университета (при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, грант № 075-15-2021-671).

## Acknowledgments

The study was carried out within Research State Program (No. FZZW-2024-0004) using the resources of the Center for Shared Use of Scientific Equipment of Ivanovo State University of Chemistry and Technology (with the support of the Ministry of Science and Higher Education of Russian Federation, grant No. 075-15-2021-671).

## Вклад авторов

**В.А. Габрин** — постановка цели работы, планирование и проведение экспериментов, обработка экспериментальных данных, написание текста статьи.

**Т.Е. Никифорова** — корректировка цели работы, методология исследования, обсуждение результатов, корректировка содержания статьи.

**В.А. Козлов** — корректировка методологии исследования, научное консультирование.

**П.Б. Разговоров** — общее руководство, обсуждение результатов.

## Authors' contributions

**V.A. Gabrin** — formulating the aim of the study, planning and conducting experiments, processing experimental data, and writing the text of the article.

**T.E. Nikiforova** — correcting the aim of the study, research methodology, discussion of the results, and editing the content of the article.

**V.A. Kozlov** — correcting the research methodology, scientific consulting.

**P.B. Razgovorov** — general management and discussion of the results.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

*The authors declare no conflicts of interest.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dinu M.V., Humelnicu D., Lazar M.M. Analysis of Copper(II), Cobalt(II) and Iron(III) Sorption in Binary and Ternary Systems by Chitosan-Based Composite Sponges Obtained by Ice-Segregation Approach. *Gels*. 2021;7(3):103. <https://doi.org/10.3390/gels7030103>
2. Velasco-Garduño O. Martínez M.E., Gimeno M., Tecante A., Beristain-Cardoso R., Shirai K. Copper removal from wastewater by a chitosan-based biodegradable composite. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2020;27(4):28527–28535. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07560-2>
3. Кунин А.В., Ильин А.А., Морозов Л.Н., Смирнов Н.Н., Никифорова Т.Е., Прозоров Д.А., Румянцев Р.Н., Афинеевский А.В., Борисова О.А., Гришин И.С., Верес К.А., Курникова А.А., Габрин В.А., Гордина Н.Е. Катализаторы и адсорбенты для переработки природного газа, производства минеральных удобрений, очистки технологических жидкостей. *Известия вызов. Химия и хим. технология*. 2023;66(7):132–150. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20236607.6849j>
4. Omer A.M., Dey R., Eltaweil A.S., Abd El-Monaem E.M. Insights into recent advances of chitosan-based adsorbents for sustainable removal of heavy metals and anions. *Arabian J. Chem.* 2022;15(2):103543. <http://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103543>
5. Chakraborty R., Asthana A., Singh A.K., Jain B., Susan A.B.H. Adsorption of heavy metal ions by various low-cost adsorbents: a review. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2022;100(2):342–379. <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1722811>
6. Arora R. Adsorption of Heavy Metals — A Review. *Materials Today: Proceedings*. 2019;18:4745–4750. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.07.462>
7. Brião G.V., de Andrade J.R., da Silva M.G.C., Vieira M.G.A. Removal of toxic metals from water using chitosan-based magnetic adsorbents. A review. *Environ. Chem. Lett.* 2020;18(4):1145–1168. <http://doi.org/10.1007/s10311-020-01003-y>
8. Politaeva N., Yakovlev A., Yakovleva E., et al. Graphene oxide-chitosan composites for water treatment from copper cations. *Water*. 2022;14(9):1430. <https://doi.org/10.3390/w14091430>

## REFERENCES

1. Dinu M.V., Humelnicu D., Lazar M.M. Analysis of Copper(II), Cobalt(II) and Iron(III) Sorption in Binary and Ternary Systems by Chitosan-Based Composite Sponges Obtained by Ice-Segregation Approach. *Gels*. 2021;7(3):103. <https://doi.org/10.3390/gels7030103>
2. Velasco-Garduño O. Martínez M.E., Gimeno M., Tecante A., Beristain-Cardoso R., Shirai K. Copper removal from wastewater by a chitosan-based biodegradable composite. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2020;27(4):28527–28535. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07560-2>
3. Kunin A.V., Ilyin A.A., Morozov L.N., Smirnov N.N., Nikiforova T.E., Prozorov D.A., Rummyantsev R.N., Afineevskiy A.V., Borisova O.A., Grishin I.S., Veres K.A., Kurnikova A.A., Gabrin V.A., Gordina N.E. Catalysts and adsorbents for conversion of natural gas, fertilizers production, purification of technological liquids. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol. = ChemChemTech* (in Russ.). 2023;66(7):132–150. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20236607.6849j>
4. Omer A.M., Dey R., Eltaweil A.S., Abd El-Monaem E.M. Insights into recent advances of chitosan-based adsorbents for sustainable removal of heavy metals and anions. *Arabian J. Chem.* 2022;15(2):103543. <http://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103543>
5. Chakraborty R., Asthana A., Singh A.K., Jain B., Susan A.B.H. Adsorption of heavy metal ions by various low-cost adsorbents: a review. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 2020:1–38. <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1722811>
6. Arora R. Adsorption of Heavy Metals — A Review. *Materials Today: Proceedings*. 2019;18:4745–4750. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.07.462>
7. Brião G.V., de Andrade J.R., da Silva M.G.C., Vieira M.G.A. Removal of toxic metals from water using chitosan-based magnetic adsorbents. A review. *Environ. Chem. Lett.* 2020;18(4):1145–1168. <http://doi.org/10.1007/s10311-020-01003-y>
8. Politaeva N., Yakovlev A., Yakovleva E., et al. Graphene oxide-chitosan composites for water treatment from copper cations. *Water*. 2022;14(9):1430. <https://doi.org/10.3390/w14091430>

9. Zhang W., An Y., Li S., Liu Z., Chen Z., Ren Y., Wang X. Enhanced heavy metal removal from an aqueous environment using an eco-friendly and sustainable adsorbent. *Sci. Rep.* 2020;10(1):16453. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73570-7>
10. Никифорова Т.Е., Габрин В.А., Разговоров П.Б. Особенности сорбции тяжелых металлов биополимерами полисахаридной и полиамидной природы. *Физикохимия поверхности и защита материалов.* 2023;59(3):231–243. <https://doi.org/10.31857/S0044185623700298>
11. Soliman N.K., Moustafa A.F. Industrial solid waste for heavy metals adsorption features and challenges; a review. *J. Mat. Res. Technol.* 2020;9(5):10235–10253. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.07.045>
12. Ghiorghita C.-A., Dinu M.V., Lazar M.M., Dragan E.S. Polysaccharide-Based Composite Hydrogels as Sustainable Materials for Removal of Pollutants from Wastewater. *Molecules.* 2022;27(23):8574. <https://doi.org/10.3390/molecules27238574>
13. Фуфаева В.А., Никифорова Т.Е., Разговоров П.Б., Игнатьев А.А. Кинетические характеристики извлечения катионов меди(II) из водных сред гидрогелевым сорбентом хитозан–диоксид кремния. *Экология и промышленность России.* 2022;26(12):22–27. <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2022-12-22-27>
14. Григорьев Ю.С., Шашкова Т.Л. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов, питьевой, сточной и природной воды по смертности тест-объекта *Daphnia magna* Straus (ПНД Ф Т 14.1:2.4.12 – 06; Т 16.1:2.3.3.9 – 06). Красноярск: КрасГУ; 2006. 47 с.
15. Славинская Г.В., Куренкова О.В. Изменение физико-химических и технологических характеристик ионообменных материалов в установках кондиционирования природных вод. *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2013;13(3):322–331.
9. Zhang W., An Y., Li S., Liu Z., Chen Z., Ren Y., Wang X. Enhanced heavy metal removal from an aqueous environment using an eco-friendly and sustainable adsorbent. *Sci. Rep.* 2020;10(1):16453. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73570-7>
10. Nikiforova T.E., Gabrin V.A., Razgovorov P.B. Peculiarities of Sorption of Heavy-Metal Ions by Polysaccharide and Polyamide Biopolymers. *Prot. Met. Phys. Chem. Surf.* 2023;59(3):313–324. <https://doi.org/10.1134/S2070205123700363> [Original Russian Text: Nikiforova T.E., Gabrin V.A., Razgovorov P.B. Peculiarities of Sorption of Heavy-Metal Ions by Polysaccharide and Polyamide Biopolymers. *Fizikokhimiya poverkhnosti i zashchita materialov.* 2023;59(3):231–243 (in Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0044185623700298> ]
11. Soliman N.K., Moustafa A.F. Industrial solid waste for heavy metals adsorption features and challenges; a review. *J. Mat. Res. Technol.* 2020;9(5):10235–10253. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.07.045>
12. Ghiorghita C.-A., Dinu M.V., Lazar M.M., Dragan E.S. Polysaccharide-Based Composite Hydrogels as Sustainable Materials for Removal of Pollutants from Wastewater. *Molecules.* 2022;27(23):8574. <https://doi.org/10.3390/molecules27238574>
13. Fufaeva V.A., Nikiforova T.E., Razgovorov P.B., Ignatyev A.A. Kinetic Characteristics of Extraction of Copper(II) Cations from Aqueous Media by Chitosan–Silicon Dioxide Hydrogel Sorbent. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii = Ecology and Industry of Russia.* 2022;26(12):22–27 (in Russ.). <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2022-12-22-27>
14. Grigor'ev Yu.S., Shashkova T.L. *Metodika opredeleniya toksichnosti vodnykh vytyazhek iz pochv, osadkov stochnykh vod i otkhodov, pit'evoi, stochnoi i prirodnoi vody po smertnosti test-ob'ekta Daphnia magna Straus (PND F T 14.1:2.4.12 – 06; T 16.1:2.3.3.9 – 06) (Method for Determining the Toxicity of Aqueous Extracts from Soils, Sewage Sludge and Waste, Drinking, Waste and Natural Water by the Mortality of the Test Object Daphnia Magna Straus (PND F T 14.1:2.4.12 – 06; T 16.1:2.3.3.9 – 06).* Krasnoyarsk: KrasGU; 2006. 47 p. (in Russ.).
15. Slavinskaya G.V., Kurenkova O.V. Changes of physicochemical and technological characteristics of ion-exchange materials in natural water treatment system. *Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protessy.* 2013;13(3):322–331 (in Russ.).

## Об авторах

**Габрин Виктория Александровна**, аспирант кафедры технологии пищевых продуктов и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет» (ИГХТУ) (153000, Россия, г. Иваново, Шереметевский пр-т, д. 7). E-mail: gabrin victoria@gmail.com. Scopus Author ID 58398403100, SPIN-код РИНЦ 6197-2268, <https://orcid.org/0000-0002-1712-9121>

**Никифорова Татьяна Евгеньевна**, д.х.н., доцент кафедры технологии пищевых продуктов и биотехнологии ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет» (ИГХТУ) (153000, Россия, г. Иваново, Шереметевский пр-т, д. 7). E-mail: tatianaenik@mail.ru. Scopus Author ID 7006694263, ResearcherID N-1026-2017, SPIN-код РИНЦ 4080-7735, <https://orcid.org/0000-0002-0817-9258>

**Козлов Владимир Александрович**, д.х.н., профессор кафедры химии и технологии высокомолекулярных соединений ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет» (ИГХТУ) (153000, Россия, г. Иваново, Шереметевский пр-т, д. 7). E-mail: kozlov@isuct.ru. Scopus Author ID 57196498026, SPIN-код РИНЦ 4805-4551, <https://orcid.org/0000-0002-1034-4339>

**Разговоров Павел Борисович**, д.т.н., профессор, начальник управления организации научно-исследовательской и интеллектуальной деятельности ФГБОУ ВО «Ярославский государственный технический университет» (ЯГТУ) (150023, Россия, г. Ярославль, Московский пр-т, д. 88). E-mail: razgovorovpb@ystu.ru. Scopus Author ID 17344647700, SPIN-код РИНЦ 2735-1209, <https://orcid.org/0000-0003-0514-5770>

### About the authors

**Victoria A. Gabrin**, Postgraduate Student, Department of Food Technology and Biotechnology, Ivanovo State University of Chemistry and Technology (ISUCT) (7, Sheremetevskii pr., Ivanovo, 153000, Russia). E-mail: gabrinvictoria@gmail.com. Scopus Author ID 58398403100, RSCI SPIN-code 6197-2268, <https://orcid.org/0000-0002-1712-9121>

**Tatiana E. Nikiforova**, Dr. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Food Technology and Biotechnology, Ivanovo State University of Chemistry and Technology (ISUCT) (7, Sheremetevskii pr., Ivanovo, 153000, Russia). E-mail: tatianaenik@mail.ru. Scopus Author ID 7006694263, ResearcherID N-1026-2017, RSCI SPIN-code 4080-7735, <https://orcid.org/0000-0002-0817-9258>

**Vladimir A. Kozlov**, Dr. Sci. (Chem.), Full Professor, Department of Chemistry and Technology of Macromolecular Compounds, Ivanovo State University of Chemistry and Technology (ISUCT) (7, Sheremetevskii pr., Ivanovo, 153000, Russia). E-mail: kozlov@isuct.ru. Scopus Author ID 57196498026, RSCI SPIN-code 4805-4551, <https://orcid.org/0000-0002-1034-4339>

**Pavel B. Razgovorov**, Dr. Sci. (Eng.), Professor, Head of the Department for the Organization of Research and Intellectual Activities, Yaroslavl State Technical University (YSTU) (88, Moskovskii pr., Yaroslavl, 150023, Russia). E-mail: razgovorovpb@ystu.ru. Scopus Author ID 17344647700, RSCI SPIN-code 2735-1209, <https://orcid.org/0000-0003-0514-5770>

УДК 66.095.62+547.295.3+544.47+544.478.1

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-192-201>

EDN SYTFBD



## НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

# Влияние гексанола-2 и метанола на совмещенный процесс дегидратации и алкоксикарбонилирования для синтеза сложных эфиров

Н.Т. Севостьянова✉, С.А. Баташев, А.С. Родионова, Д.К. Козленко

Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, Тула, 300026 Россия

✉ Автор для переписки, e-mail: [sevastyanova.nt@gmail.com](mailto:sevastyanova.nt@gmail.com)

## Аннотация

**Цели.** Изучить возможности совмещения в одном реакторе процессов: 1) дегидратации гексанола-2 и изомеризующего алкоксикарбонилирования образующегося гексена-2 для получения 2-гексилгептаноата; 2) дегидратации гексанола-2 и изомеризующего метоксикарбонилирования образующегося гексена-2 для получения метиловых эфиров карбоновых кислот  $C_7$ . Исследовать закономерности влияния концентрации гексанола-2 и метанола на скорость совмещенного процесса.

**Методы.** Совмещенный процесс изучали в среде толуола в периодическом стальном реакторе, рассчитанном на работу при повышенном давлении, снабженном стеклянной вставкой, магнитной мешалкой, пробоотборником, устройствами ввода и сброса газов. Отбираемые в ходе совмещенного процесса пробы реакционной массы анализировали методом газо-жидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектором.

**Результаты.** Показана возможность совмещения в одном реакторе дегидратации гексанола-2, катализируемой метансульфокислотой, и изомеризующего алкоксикарбонилирования образующегося гексена-2 гексанола-2 и CO, катализируемого системой  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ -XANTPHOS-метансульфокислота. Установлены экстремальные зависимости скоростей дегидратации гексанола-2 и образования сложных эфиров карбоновых кислот  $C_7$  от концентрации гексанола-2. Показана возможность реализации совмещенного в одном реакторе процесса синтеза сложных эфиров из гексанола-2, метанола и CO с преимущественным образованием сложных эфиров гептановой кислоты в присутствии указанной каталитической системы. Обнаружено снижение скоростей дегидратации гексанола-2 и образования 2-гексильных эфиров карбоновых кислот  $C_7$  с увеличением концентрации метанола в реакционной массе. В мягких условиях (температура 115°C, давление CO 3 МПа) в присутствии добавок метанола определена суммарная доля 2-гексильного и метилового эфиров гептановой кислоты среди сложных эфиров карбоновых кислот  $C_7$ , которая составила 85.5%.

**Выводы.** Реакции внутримолекулярной кислотнo-каталитической дегидратации гексанола-2 и изомеризующего алкоксикарбонилирования образующегося гексена-2, катализируемого системой  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ -XANTPHOS-метансульфокислота, могут быть совмещены в одном реакторе. Метансульфокислота одновременно выполняет функции катализатора дегидратации гексанола-2 и сокатализатора палладий-фосфиновой системы алкоксикарбонилирования гексенов. В присутствии каталитической системы  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ -XANTPHOS-метансульфокислота могут быть реализованы в одном реакторе процессы синтеза сложных эфиров гептановой кислоты из гексанола-2, метанола и CO. Увеличение концентрации метанола негативно влияет на скорости дегидратации гексанола-2 и образование 2-гексильных эфиров карбоновых кислот  $C_7$ . Небольшие количества метанола в реакционной массе приводят к увеличению доли сложных эфиров гептановой кислоты среди сложных эфиров карбоновых кислот  $C_7$ .

## Ключевые слова

совмещенный процесс, синтез сложного эфира, дегидратация спирта, изомеризующее алкоксикарбонилирование, гексанол-2, метанол, палладиевый катализатор, дифосфин XANTPHOS, метансульфокислота

**Поступила:** 07.09.2023  
**Доработана:** 30.01.2024  
**Принята в печать:** 17.04.2024

## Для цитирования

Севостьянова Н.Т., Баташев С.А., Родионова А.С., Козленко Д.К. Влияние гексанола-2 и метанола на совмещенный процесс дегидратации и алкоксикарбонилирования для синтеза сложных эфиров. *Тонкие химические технологии*. 2024;19(3):192–201. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-192-201>

## RESEARCH ARTICLE

# Effect of 2-hexanol and methanol on the *one-pot* process of dehydration and alkoxy carbonylation for the synthesis of esters

Nadezhda T. Sevostyanova✉, Sergey A. Batashev, Anastasia S. Rodionova, Dar'ya K. Kozlenko

Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University, Tula, 300026 Russia

✉ Corresponding author; e-mail: [sevostyanova.nt@gmail.com](mailto:sevostyanova.nt@gmail.com)

## Abstract

**Objectives.** To study the possibility of *one-pot* synthesis (combination of two processes in one reactor) for the following pairs of processes: (1) dehydration of 2-hexanol and isomerizing alkoxy carbonylation of the resulting 2-hexene, in order to obtain 2-hexyl heptanoate, and (2) dehydration of 2-hexanol and isomerizing methoxy carbonylation of the resulting 2-hexene, in order to obtain methyl esters of C<sub>7</sub> carboxylic acids. To investigate the effect of the concentrations of 2-hexanol and methanol on the rate of the *one-pot* synthesis.

**Methods.** *One-pot* synthesis was studied in a toluene medium in a steel batch reactor designed to operate at elevated pressure and equipped with a glass insert, a magnetic stirrer, a sampler, and gas input and discharge devices. Samples of the reaction mass were taken during the combined process and were analyzed by means of gas–liquid chromatography with a flame ionization detector.

**Results.** The possibility of *one-pot* combination was demonstrated for 2-hexanol dehydration catalyzed by methanesulfonic acid, as well as for the isomerizing alkoxy carbonylation of the resulting 2-hexene with 2-hexanol and CO, catalyzed by the Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>–XANTPHOS–methanesulfonic acid system. The dependencies of the rates of the dehydration of 2-hexanol and the formation of esters of C<sub>7</sub> carboxylic acids on the concentration of 2-hexanol were shown to pass through a maximum. The possibility of the *one-pot* process was proved for the synthesis of esters from 2-hexanol, methanol, and CO with the predominant formation of heptanoic acid esters in the presence of the above catalytic system. The rates of dehydration of 2-hexanol and the formation of 2-hexyl esters of C<sub>7</sub> carboxylic acids were found to decrease with increasing the concentration of methanol in the reaction mass. Under mild conditions (temperature 115°C, CO pressure 3 MPa) with the addition of methanol, the total fraction of 2-hexyl and methyl heptanoic acid esters among C<sub>7</sub> carboxylic acid esters was determined to be 85.5%.

**Conclusions.** The reactions of intramolecular acid–catalytic dehydration of 2-hexanol and isomerizing alkoxy carbonylation of the resulting 2-hexene, catalyzed by the Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>–XANTPHOS–methanesulfonic acid system, can be performed as a *one-pot* process. Methanesulfonic acid simultaneously functions as a catalyst for the dehydration of 2-hexanol and a cocatalyst for the palladium–phosphine system for the alkoxy carbonylation of hexenes. In the presence of the Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>–XANTPHOS–methanesulfonic acid catalytic system, processes for the synthesis of heptanoic acid esters from 2-hexanol, methanol, and CO can be combined within one reactor. An increase in the methanol concentration negatively affects the rate of the dehydration of 2-hexanol and the formation of 2-hexyl esters of C<sub>7</sub> carboxylic acids. A small amount of methanol in the reaction mass leads to an increase in the fraction of heptanoic acid esters among C<sub>7</sub> carboxylic acid esters.

## Keywords

*one-pot* synthesis, ester synthesis, alcohol dehydration, isomerizing alkoxy carbonylation, 2-hexanol, methanol, palladium catalyst, XANTPHOS diphosphine, methanesulfonic acid

Submitted: 07.09.2023

Revised: 30.01.2024

Accepted: 17.04.2024

## For citation

Sevostyanova N.T., Batashev S.A., Rodionova A.S., Kozlenko D.K. Effect of 2-hexanol and methanol on the *one-pot* process of dehydration and alkoxy carbonylation for the synthesis of esters. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2024;19(3):192–201. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-192-201>

## ВВЕДЕНИЕ

Синтезы на основе СО используют для получения широкого спектра органических продуктов. Так, путем карбонилирования спиртов и алкоксикарбонилирования ненасыщенных соединений синтезируют сложные эфиры. В первом случае используют в основном гомогенные катализаторы на основе соединений родия и иридия с добавками иодидов, поскольку непосредственно карбонилированию подвергаются не спирты, а алкилиодиды [1, 2]. В этих процессах применяют главным образом метанол и этанол, в качестве основных продуктов образуются карбоновые кислоты и сложные эфиры, в качестве побочных продуктов — углеводороды и простые эфиры. Во втором случае наиболее активными катализаторами считаются гомогенные системы на основе палладиевых соединений с органофосфиновыми и Н-кислотными промоторами. В присутствии таких систем алкоксикарбонилирование приводит к образованию лишь изомерных сложных эфиров [3, 4]. Процесс алкоксикарбонилирования алкенов, протекающий с разрывом  $\pi$ -связи С–С, энергетически более предпочтителен, чем карбонилирование спирта, для реализации которого необходим разрыв  $\sigma$ -связи С–О, однако некоторые спирты доступнее алкенов. Ранее была установлена возможность реализации совмещенных в одном реакторе процессов дегидратации спиртов (первичных и вторичных) и карбонилирования образующихся алкенов с образованием сложных эфиров и карбоновых кислот в присутствии гомогенных

палладиевых катализаторов и *n*-толуолсульфокислоты (TsOH) [5–8]. В частности, был осуществлен совмещенный процесс на основе циклогексанола и СО в присутствии гомогенных каталитических систем на основе  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  [6],  $\text{PdCl}_2$  [7] и  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  [8] в сочетании с промотирующей добавкой  $\text{PPh}_3$  и TsOH. TsOH являлась катализатором дегидратации циклогексанола и сокатализатором алкоксикарбонилирования циклогексена. Однако практический интерес представляет синтез сложных эфиров алифатических кислот, в первую очередь линейного строения, представляющих, как правило, наибольшую ценность. Например, гептаноаты и деканоаты являются компонентами гормональных лекарственных средств (препараты тестостерона) [9]. Высокие селективности по сложным эфирам линейных карбоновых кислот достигаются в алкоксикарбонилировании, катализируемом палладиевыми системами с некоторыми дифосфинами, главным образом *трет*-бутил-замещенными дифосфинами [10–16] и дифосфинами группы XANTPHOS<sup>1</sup> [17, 18], в том числе и в случае алкенов с интернальным положением связи С=C (изомеризирующее алкоксикарбонилирование). Изомеризирующее алкоксикарбонилирование включает две стадии — миграцию кратной связи из интернального положения в терминальное и последующее алкоксикарбонилирование с образованием сложного эфира главным образом линейного строения.

Целью данной работы было изучение возможности совмещения в одном реакторе процессов (рис. 1): 1) дегидратации гексанола-2 (1) и изомеризирующего

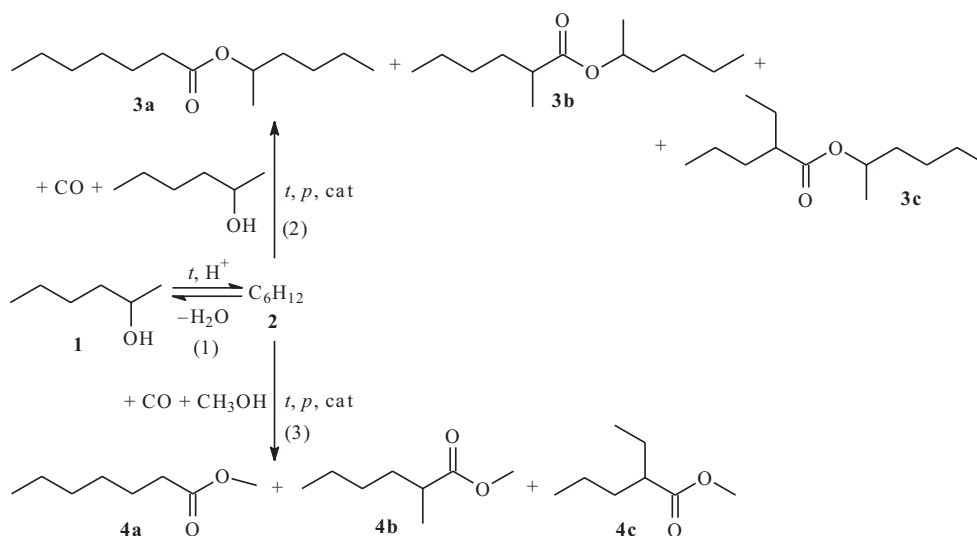


Рис. 1. Схема одnoreакторного синтеза сложных эфиров из гексанола-2, метанола и СО

Fig. 1. Scheme of the *one-pot* synthesis of esters from 2-hexanol, methanol, and CO

<sup>1</sup> XANTPHOS — фосфорорганическое соединение, полученное из гетероциклического ксантагена;  $\text{C}_{39}\text{H}_{32}\text{OP}_2$ . / XANTPHOS is an organophosphorus compound  $\text{C}_{39}\text{H}_{32}\text{OP}_2$  obtained from heterocyclic xanthene.

алкоксикарбонилирования образующегося гексана-2 (**2**) для получения 2-гексилгептаноата (продукт **3a**, реакции (1), (2)); 2) дегидратации спирта **1** и изомеризующего метоксикарбонилирования алкена **2**, приводящего к образованию метиловых эфиров карбоновых кислот  $C_7$  (продукты **4a–c**, реакции (1), (3)) с целью повышения скорости процесса получения сложных эфиров; а также исследование закономерностей влияния концентрации спирта **1** и метанола на скорость совмещенного процесса синтеза сложных эфиров.

В качестве катализатора в исследуемых совмещенных процессах применяли систему  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ –XANTPHOS–метансульфонокислота (MsOH). Выбор указанного каталитического предшественника обусловлен его наиболее высокой активностью в совмещенном модельном процессе на основе циклогексанола и CO по сравнению с  $PdCl_2$  и  $Pd(OAc)_2$  [6–8]. XANTPHOS и MsOH использовались в составе каталитических систем изомеризующего алкоксикарбонилирования [17, 18].

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Совмещенный процесс изучали в среде толуола (Компонент–Реактив, Россия) в периодическом стальном реакторе (Россия) согласно методике, представленной в работе [8]. В ходе опытов поддерживали температуру 115°C и давление смеси CO–Ar (1 : 1) 6.1 МПа (CO (БК Групп, Россия), Ar (Артон, Россия)). Концентрации компонентов каталитической системы составляли (моль/л):  $C(Pd(PPh_3)_2Cl_2) = 2.0 \cdot 10^{-3}$  (TCl, Япония),  $C(XANTPHOS) = 2.5 \cdot 10^{-3}$  (BIOSYNTH CARBOSYNTH, США),  $C(MsOH) = 0.16$  (Sigma-Aldrich, Франция).

Отбираемые в ходе каждого опыта пробы реакционной массы анализировали методом газ-жидкостной хроматографии на хроматографе «Кристаллюкс 4000M» (Мета-хром, Россия) с пламенно-ионизационным детектором и газом-носителем аргоном. Скорость потока газа-носителя 1.0 мл/мин, деление потока 1 : 60. Температура испарителя и детектора составляла 300 и 320°C соответственно. Разделение компонентов реакционной массы проводилось в капиллярной колонке Optima-5 (MACHEREY–NAGEL, Германия) размером 30 м × 0.32 мм с толщиной пленки 0.35 мкм в режиме программирования температуры: изотермический режим 80°C в течение 5 мин., в диапазоне 80–220°C скорость нагрева 20°/мин., в диапазоне 220–280°C скорость нагрева 8°/мин., изотермический режим

280°C в течение 2.5 мин. Расчеты площадей пиков осуществляли с помощью программы NetChrom<sup>2</sup>. Идентификацию пиков на хроматограммах проводили по времени удерживания путем сопоставления с временами удерживания стандартных образцов веществ. Концентрации веществ **1–4** рассчитывали методом внутреннего стандарта, в качестве которого использовали декан (ЭКОС-1, Россия). Внутренний стандарт вводили в постоянной концентрации в реакционный раствор в толуоле до начала опыта. Толуол был выбран в качестве среды для осуществления совмещенных процессов как наиболее часто используемый растворитель для реализации процессов алкоксикарбонилирования [6–8, 15, 19–22]. В качестве побочных продуктов было зафиксировано незначительное (суммарный выход не более 8%) образование простых эфиров, гептановой и 2-метилгексановой кислот.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С целью изучения возможности совмещения в одном реакторе дегидратации спирта **1** и алкоксикарбонилирования образующегося алкена **2** были проведены опыты 1 и 2 (табл. 1). Как известно, из всех спиртов метанол проявляет наиболее высокую реакционную способность в алкоксикарбонилировании [23]. В этой связи были проведены совмещенные процессы с использованием одновременно спирта **1** и метанола (табл. 1, опыты 3 и 4). Выходы продуктов **3a–c** рассчитывали по формуле (A):

$$\eta(3a-c) = \frac{C(3a-c)}{0.5C(1)} \cdot 100\%, \quad (A)$$

где  $C(1)$  — начальная концентрация спирта **1**, моль/л;  $C(3a-c)$  — концентрации сложных эфиров по окончании процесса, моль/л.

Выходы продуктов **4a–c** рассчитывали по формуле (B):

$$\eta(4a-c) = \frac{C(4a-c)}{C(CH_3OH)} \cdot 100\%, \quad (B)$$

где  $C(CH_3OH)$  — начальная концентрация метанола, моль/л;  $C(4a-c)$  — концентрации сложных эфиров по окончании процесса, моль/л.

Конверсии спирта **1** и метанола рассчитывали по формуле (C):

$$\eta(1, CH_3OH) = \frac{C'(1, CH_3OH)}{C(1, CH_3OH)} \cdot 100\%, \quad (C)$$

где  $C'(1, CH_3OH)$  — концентрации спиртов по окончании процесса, моль/л.

<sup>2</sup> <https://www.meta-chrom.ru/catalog/soft/netchrom/>. Дата обращения 28.02.2024. / Accessed February 28, 2024.

**Таблица 1.** Результаты исследования совмещенных процессов на основе спирта **1** и СО (опыты 1 и 2), а также спирта **1**, метанола и СО (опыты 3 и 4); время осуществления процессов составляло 7 ч**Table 1.** Results of the study of *one-pot* processes based on alcohol **1** and CO (experiments 1 and 2), as well as alcohol **1**, methanol, and CO (experiments 3 and 4); the time of the processes was 7 h

| № опыта<br>Exp. No. | C( <b>1</b> ), М | C(CH <sub>3</sub> OH), М | Выходы продуктов, %<br>Product yields, % |                 |           |                 | Конверсия<br>спирта <b>1</b> , %<br>Conversion<br>of alcohol <b>1</b> , % |
|---------------------|------------------|--------------------------|------------------------------------------|-----------------|-----------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------|
|                     |                  |                          | <b>3a</b>                                | <b>3(a+b+c)</b> | <b>4a</b> | <b>4(a+b+c)</b> | <b>1</b>                                                                  |
| 1                   | 0.500            | –                        | 36.1                                     | 60.3            | –         | –               | 94.7                                                                      |
| 2                   | 1.000            | –                        | 10.4                                     | 20.0            | –         | –               | 39.5                                                                      |
| 3                   | 0.250            | 0.250                    | 10.7                                     | 13.7            | 13.9      | 15.6            | 66.4                                                                      |
| 4                   | 0.500            | 0.500                    | 5.4                                      | 7.2             | 5.1       | 6.1             | 42.3                                                                      |

Как показывают данные табл. 1, в присутствии метанола снизились выходы продуктов **3(a+b+c)**, суммарный выход метиловых и 2-гексиловых сложных эфиров тоже был ниже по сравнению с опытами 1 и 2. В качестве промежуточных продуктов во всех опытах были обнаружены гексен-1 и гексен-2. Побочными продуктами являлись гептановая и 2-метилгексановая кислоты, а также простые эфиры.

С целью исследования закономерностей влияния концентрации спирта **1** на скорость совмещенного процесса синтеза сложных продуктов **3a–c** была проведена серия однофакторных экспериментов (опыты 1, 2, 5–7, табл. 2) с варьированием концентрации спирта **1** в среде толуола при постоянстве прочих условий реакции (в отсутствие метанола). В табл. 2 представлены значения начальной скорости дегидратации спирта **1** ( $r_1$ ), образования продукта **3a** ( $r_{3a}$ ) и суммы продуктов **3a+3b+3c** ( $r_{3a+3b+3c}$ ) в совмещенном процессе. Скорость  $r_1$  рассчитывали по тангенсу угла наклона начального участка кривой суммарного образования свободных гексенов, сложных эфиров, гептановой и 2-метилгексановой кислот. Скорости образования сложных

эфиров рассчитывали по тангенсам углов наклона начальных участков кривых их накопления.

Как показывают данные табл. 2, наибольшего значения скорость дегидратации достигла при концентрации спирта **1** 0.500 моль/л. Наибольшие значения скоростей образования сложных эфиров были получены при C(**1**) = 0.300 моль/л. Доля продукта **3a** среди образующихся эфиров **3a–c** варьировала от 57.5% при C(**1**) = 0.300 М до 74.7% при C(**1**) = 0.15 М. Конверсия спирта **1** в последнем случае достигла 89.7%.

На следующем этапе исследований с целью изучения закономерностей влияния метанола на совмещенный процесс была проведена серия однофакторных экспериментов по реализации совмещенных процессов с одновременным участием спирта **1**, метанола и СО. В этих опытах (опыты 4, 8–11, табл. 3) варьировали концентрацию метанола, начальная концентрация спирта **1** составляла 0.500 М. В табл. 3 представлены данные по изменению начальной скорости дегидратации спирта **1**. Зависимости начальных скоростей образования продуктов **3a–c** и **4a–c** представлены на рис. 2.

**Таблица 2.** Начальные скорости дегидратации спирта **1** ( $r_1$ ), образования продукта **3a** ( $r_{3a}$ ) и суммы продуктов **3a+3b+3c** ( $r_{3a+3b+3c}$ ) в опытах 1, 2, 5–7**Table 2.** Initial rates of alcohol **1** dehydration ( $r_1$ ), formation of product **3a** ( $r_{3a}$ ), and formation of the sum of products **3a+3b+3c** ( $r_{3a+3b+3c}$ ) in experiments 1, 2, and 5–7

| № опыта<br>Exp. No. | $C(1)$ , моль/л<br>$C(1)$ , mol/L | $r_1 \cdot 10^2$ , моль/(л·мин)<br>$r_1 \cdot 10^2$ , mol/(L·min) | $r_{3a} \cdot 10^4$ , моль/(л·мин)<br>$r_{3a} \cdot 10^4$ , mol/(L·min) | $r_{3a+3b+3c} \cdot 10^4$ , моль/(л·мин)<br>$r_{3a+3b+3c} \cdot 10^4$ , mol/(L·min) |
|---------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 1                   | 0.500                             | 1.70                                                              | 2.2                                                                     | 3.0                                                                                 |
| 2                   | 1.000                             | 0.85                                                              | 0.9                                                                     | 1.3                                                                                 |
| 5                   | 0.150                             | 0.26                                                              | 0.6                                                                     | 0.7                                                                                 |
| 6                   | 0.300                             | 1.21                                                              | 2.5                                                                     | 3.5                                                                                 |
| 7                   | 0.750                             | 1.01                                                              | 1.6                                                                     | 2.2                                                                                 |

**Таблица 3.** Начальные скорости дегидратации гексанола-2 в опытах 4, 8–11 с добавлением метанола; во всех опытах  $C(1) = 0.500$  М

**Table 3.** Initial rates of alcohol 1 dehydration in experiments 4 and 8–11 with the addition of methanol; in all experiments,  $C(1) = 0.500$  M

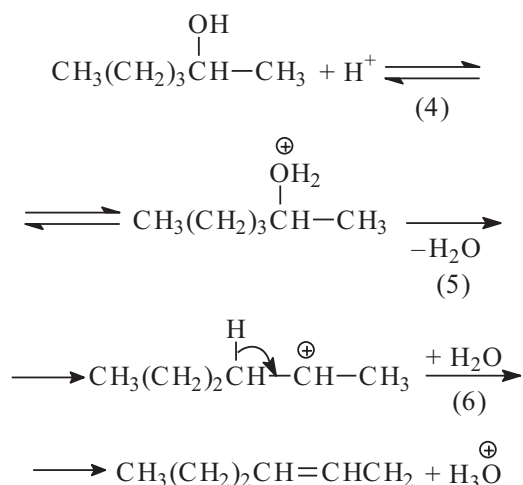
| № опыта<br>Exp. No. | $C(\text{CH}_3\text{OH})$ , моль/л<br>$C(\text{CH}_3\text{OH})$ , mol/L | $r_1 \cdot 10^2$ , моль/(л·мин)<br>$r_1 \cdot 10^2$ , mol/(L·min) |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 8                   | 0.025                                                                   | 1.48                                                              |
| 9                   | 0.050                                                                   | 1.29                                                              |
| 10                  | 0.150                                                                   | 1.10                                                              |
| 11                  | 0.300                                                                   | 0.90                                                              |
| 4                   | 0.500                                                                   | 0.78                                                              |

*Примечание:* опыты указаны в порядке увеличения концентрации метанола.

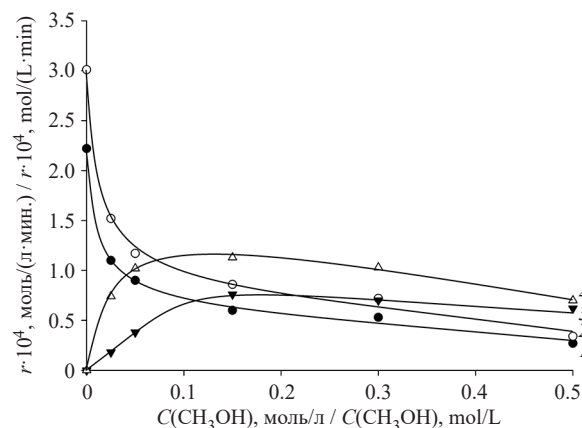
*Note:* experiments are listed in order of increasing methanol concentration.

Как показывают данные табл. 3 (в сопоставлении с опытом 1, табл. 2) и рис. 2, увеличение концентрации метанола привело к снижению скоростей дегидратации спирта **1**, образования продукта **3a** и суммы продуктов **3a+3b+3c**, в то время как зависимости скоростей образования продуктов **4a**, **4b** и **4c** проходили через максимумы. Суммарная доля продуктов **3a** и **4a** среди образующихся сложных эфиров варьировала от 53.7% при  $C(\text{CH}_3\text{OH}) = 0.025$  М до 80.3% при  $C(\text{CH}_3\text{OH}) = 0.50$  М, однако конверсия спирта **1** в последнем случае составила лишь 42.3%. В проведенных экспериментах 1–11 наибольшая доля 85.5% продуктов **3a+4a** среди различных сложных эфиров была получена в опыте 3.

Жидкофазная дегидратация вторичных спиртов в условиях кислотного катализа протекает по механизму E1 [24]:



Как известно, дегидратация спиртов осложняется побочными реакциями образования простых



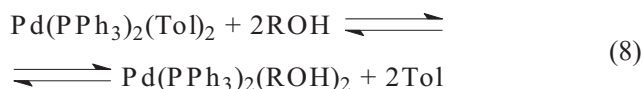
**Рис. 2.** Зависимости скоростей образования продуктов **3a** (1), **3a+3b+3c** (2), **4a** (3) и **4a+4b+4c** (4) в совмещенном процессе на основе спирта **1**, метанола и CO

**Fig. 2.** Dependencies of the rates of the formation of products (1) **3a**, (2) **3a+3b+3c**, (3) **4a**, and (4) **4a+4b+4c** in the one-pot process based on alcohol **1**, methanol, and CO

эфиров. В наших исследованиях увеличение концентрации спирта **1** до 0.500 М привело к увеличению скорости дегидратации. При дальнейшем повышении концентрации спирта **1**, по-видимому, прогрессировала сольватация карбокатиона, образующегося в реакции (5), молекулами спирта **1**, следствием которой являлось образование побочных продуктов — простых эфиров — и снижение скорости внутримолекулярной дегидратации. Под действием метанола эти негативные процессы, вероятно, протекают активнее, следствием чего является снижение скорости образования гексенов по мере увеличения концентрации метанола.

Образование побочных продуктов гептановой и 2-метилгексановой кислот возможно двумя путями — в результате гидролиза сложных эфиров **3a**, **3b**, **4a**, **4b** и гидроксикарбонилирования гексена-1 и гексена-2 аналогично описанному ранее для совмещенного процесса на основе циклогексанола и CO [7, 8].

Полученные зависимости скоростей образования продуктов **3a–c** в совмещенном процессе на основе гексанола-2 и CO, а также продуктов **4a–c** в совмещенном процессе на основе гексанола-2, метанола и CO проходят через максимумы, что согласуется с данными по алкоксикарбонилированию циклогексена с использованием циклогексанола и метанола, катализируемом системой  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2\text{–PPh}_3\text{–TsOH}$  [21, 22]. Восходящие ветви таких зависимостей обусловлены участием спиртов как сореагентов в алкоксикарбонилировании, в то время как нисходящие, по-видимому, связаны с вовлечением этих компонентов в реакции лигандного обмена, приводящие к образованию каталитически неактивных комплексов палладия (реакции (7), (8)) [21, 22].



Снижение скоростей образования продуктов **3a**, **3a+3b+3c** и общей скорости образования сложных эфиров **3a+3b+3c+4a+4b+4c** в присутствии метанола, предположительно, является следствием снижения скорости внутримолекулярной дегидратации спирта **1**, в то же время добавление метанола приводит к повышению доли сложных эфиров линейного строения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлена возможность совмещения в одном реакторе внутримолекулярной кислотокаталитической дегидратации спирта **1** и изомеризующего алкоксикарбонилирования образующегося гексена-2, катализируемого системой  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2\text{--XANTPHOS--MsOH}$ . MsOH одновременно выполняла функции катализатора дегидратации гексанола-2 и сокатализатора палладий-фосфиновой системы алкоксикарбонилирования гексенов. Получены экстремальные зависимости скоростей дегидратации спирта **1** и образования 2-гексильных эфиров карбоновых кислот  $\text{C}_7$  от концентрации спирта **1**. Основным продуктом совмещенного процесса являлся 2-гексилгептанат. Установлено снижение скорости дегидратации спирта **1** и образования 2-гексильных эфиров карбоновых кислот  $\text{C}_7$  с увеличением концентрации метанола. Получены экстремальные зависимости скоростей образования метильных эфиров карбоновых кислот  $\text{C}_7$  от концентрации метанола. Наибольшие селективности по сложным эфирам гептановой кислоты (до 85.5%) были получены при мольном соотношении гексанол-2 :  $\text{CH}_3\text{OH}$  = 1 : 1. Таким образом, дальнейшие исследования совмещенного процесса на основе гексанола-2 и СО с использованием добавок метанола необходимо направить на поиск оптимальных условий, обеспечивающих достижение высоких выходов сложных эфиров гептановой кислоты.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kalck P., Le C., Serp B.P. Recent advances in the methanol carbonylation reaction into acetic acid. *Coord. Chem. Rev.* 2020;402:213078. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.213078>
2. Севостьянова Н.Т., Баташев С.А. Катализаторы карбонилирования спиртов для получения карбоновых кислот и сложных эфиров (обзор). *Журн. прикладной химии.* 2022;95(8):947–970. <https://doi.org/10.31857/S0044461822080011>

## Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (№ 22-23-00102), <https://rscf.ru/project/22-23-00102/>.

## Acknowledgments

The study was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 22-23-00102), <https://rscf.ru/project/22-23-00102/>.

## Вклад авторов

**Н.Т. Севостьянова** — разработка идеи организации совмещенного процесса, анализ и интерпретация полученных данных, написание статьи.

**С.А. Баташев** — хроматографический анализ реакционной массы, анализ и интерпретация полученных данных, написание статьи.

**А.С. Родионова** — экспериментальные исследования совмещенного процесса с отбором проб реакционной массы, проведение расчетов по результатам опытов, написание статьи.

**Д.К. Козленко** — экспериментальные исследования совмещенного процесса с отбором проб реакционной массы, проведение расчетов по результатам опытов, написание статьи.

## Authors' contributions

**N.T. Sevostyanova** — the idea of organizing the *one-pot* process, analysis and interpretation of the received data, and writing the text of the article.

**S.A. Batashev** — chromatographic analysis of the reaction mass, analysis and interpretation of the received data, and participation in writing the article.

**A.S. Rodionova** — experimental studies of the *one-pot* process with sampling of the reaction mass, calculations based on the experimental results, and participation in writing the article.

**D.K. Kozlenko** — experimental studies of the *one-pot* process with sampling of the reaction mass, calculations based on the experimental results, and participation in writing the article.

Авторы Н.Т. Севостьянова, С.А. Баташев, А.С. Родионова, Д.К. Козленко подтверждают, что в отношении данной статьи отсутствует реальный или потенциальный конфликт интересов.

The authors N.T. Sevostyanova, S.A. Batashev, A.S. Rodionova, and D.K. Kozlenko confirm that there is no real or potential conflict of interest in relation to this article.

## REFERENCES

1. Kalck P., Le C., Serp B.P. Recent advances in the methanol carbonylation reaction into acetic acid. *Coord. Chem. Rev.* 2020;402:213078. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.213078>
2. Sevostyanova N.T., Batashev S.A. Catalysts for Carbonylation of Alcohols to Obtain Carboxylic Acids and Esters. *Russ. J. Appl. Chem.* 2022;95(8):1085–1106. <https://doi.org/10.1134/S107042722208002X>

- Севостьянова Н.Т., Баташев С.А. Алкоксикарбонилирование ненасыщенных субстратов растительного происхождения с использованием палладиевых катализаторов как путь к получению сложноэфирных продуктов. *Катализ в промышленности*. 2023;23(1):37–55. <https://doi.org/10.18412/1816-0387-2023-1-37-55>
- Liang W.-Y., Liu L., Zhou Q., Yang D., Lu Y., Liu Y. Pd-catalyzed alkoxy carbonylation of alkenes promoted by H<sub>2</sub>O free of auxiliary acid additive. *Mol. Catal.* 2020;482:110221. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2018.10.016>
- Eliseev O.L., Bondarenko T.N., Stepin N.N., Lapidus A.L. Carbonylation of alcohols in the Pd(OAc)<sub>2</sub>/TsOH/molten salt system. *Mendeleev Commun.* 2006;16(2):107–109. <https://doi.org/10.1070/MC2006v016n02ABEH002232>
- Севостьянова Н.Т., Баташев С.А. Влияние концентрации *n*-толуолсульфокислоты и температуры на совмещенный процесс дегидратации и гидрокарбалкоксилирования. *Бюллетень науки и практики*. 2016;7:8–13. <https://www.bulletennauki.ru/gallery/%D0%91%D0%9D%D0%9F%20%E2%84%967%202016.pdf>
- Севостьянова Н.Т., Баташев С.А., Родионова А.С. Одно-реакторный совмещенный процесс дегидратации циклогексанола и алкоксикарбонилирования циклогексена в присутствии каталитической системы PdCl<sub>2</sub>-PPh<sub>3</sub>-*n*-толуолсульфокислота. *Изв. АН. Сер. хим.* 2023;72(8):1936–1939.
- Севостьянова Н.Т., Баташев С.А., Родионова А.С. Совмещенный процесс синтеза циклогексилциклогексанкарбоксилата из циклогексанола и СО, катализируемый системой Pd(OAc)<sub>2</sub>-PPh<sub>3</sub>-*n*-толуолсульфокислота. *Тонкие химические технологии*. 2023;18(1):29–37. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2023-18-1-29-37>
- Elks J., Ganellin C.R. (Eds.). *Dictionary of Drugs*. Boston: Springer; 1990. 2062 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2085-3>
- Herrmann N., Köhnke K., Seidensticker T. Selective product crystallization for concurrent product separation and catalyst recycling in the isomerizing methoxycarbonylation of methyl oleate. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2020;8(29):10633–10638. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c03432>
- Roesle P., Stempfle F., Hess S.K., Zimmerer J., Río Bártulos C., Lepetit B., Eckert A., Kroth P.G., Mecking S. Synthetic polyester from algae oil. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014;53(26):6800–6804. <https://doi.org/10.1002/anie.201403991>
- Quinzler D., Mecking S. Linear semicrystalline polyesters from fatty acids by complete feedstock molecule utilization. *Angew. Chem.* 2010;122(25):4402–4404. <https://doi.org/10.1002/ange.201001510>
- Stempfle F., Ritter B.S., Mülhaupt R., Mecking S. Long-chain aliphatic polyesters from plant oils for injection molding, film extrusion and electrospinning. *Green Chem.* 2014;16(4):2008–2014. <https://doi.org/10.1039/C4GC00114A>
- Dong K., Sang R., Wei Z., Liu J., Dühren R., Spannenberg A., Jiao H., Neumann H., Jackstell R., Franke R., Beller M. Cooperative catalytic methoxycarbonylation of alkenes: uncovering the role of palladium complexes with hemilabile ligands. *Chem. Sci.* 2018;9(9):2510–2516. <https://doi.org/10.1039/C7SC02964K>
- Yang J., Liu J., Ge Y., Huang W., Ferretti F., Neumann H., Jiao H., Franke R., Jackstell R., Beller M. Efficient palladium-catalyzed carbonylation of 1,3-dienes: selective synthesis of adipates and other aliphatic diesters. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021;60(17):9527–9533. <https://doi.org/10.1002/anie.202015329>
- [Original Russian Text: Sevostyanova N.T., Batashev S.A. Catalysts for Carbonylation of Alcohols to Obtain Carboxylic Acids and Esters. *Zhurnal Prikladnoi Khimii*. 2022;95(8):947–970 (in Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0044461822080011> ]
- Sevostyanova N.T., Batashev S.A. Alkoxy carbonylation of unsaturated phytogenic substrates using palladium catalysts as a way for obtaining ester products. *Kataliz v Promyshlennosti*. 2023;23(1):37–55 (in Russ.). <https://doi.org/10.18412/1816-0387-2023-1-37-55>
- Liang W.-Y., Liu L., Zhou Q., Yang D., Lu Y., Liu Y. Pd-catalyzed alkoxy carbonylation of alkenes promoted by H<sub>2</sub>O free of auxiliary acid additive. *Mol. Catal.* 2020;482:110221. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2018.10.016>
- Eliseev O.L., Bondarenko T.N., Stepin N.N., Lapidus A.L. Carbonylation of alcohols in the Pd(OAc)<sub>2</sub>/TsOH/molten salt system. *Mendeleev Commun.* 2006;16(2):107–109. <https://doi.org/10.1070/MC2006v016n02ABEH002232>
- Sevostyanova N.T., Batashev S.A. Effects of the *p*-toluenesulfonic acid concentration and temperature on the combined process of dehydration and hydrocarbalcoxylation. *Byulleten 'nauki i praktiki = Bulletin of Science and Practice*. 2016;7:8–13 (in Russ.). <https://www.bulletennauki.ru/gallery/%D0%91%D0%9D%D0%9F%20%E2%84%967%202016.pdf>
- Sevostyanova N.T., Batashev S.A., Rodionova A.S. *One-pot* process involving dehydration of cyclohexanol and alkoxy carbonylation of cyclohexene in the presence of catalytic system PdCl<sub>2</sub>-PPh<sub>3</sub>-*p*-toluenesulfonic acid. *Russ. Chem. Bull.* 2023;72(8):1936–1939. <https://doi.org/10.1007/s11172-023-3980-1> [Original Russian Text: Sevostyanova N.T., Batashev S.A., Rodionova A.S. *One-pot* process involving dehydration of cyclohexanol and alkoxy carbonylation of cyclohexene in the presence of catalytic system PdCl<sub>2</sub>-PPh<sub>3</sub>-*p*-toluenesulfonic acid. *Izvestiya Akademii Nauk. Seriya Khimicheskaya*. 2023;72(8):1936–1939 (in Russ.).]
- Sevostyanova N.T., Batashev S.A., Rodionova A.S. Combined process of cyclohexyl cyclohexanecarboxylate synthesis from cyclohexanol and CO catalyzed by the Pd(OAc)<sub>2</sub>-PPh<sub>3</sub>-*p*-toluenesulfonic acid system. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2023;18(1):29–37 (in Russ.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2023-18-1-29-37>
- Elks J., Ganellin C.R. (Eds.). *Dictionary of Drugs*. Boston: Springer; 1990. 2062 p. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2085-3>
- Herrmann N., Köhnke K., Seidensticker T. Selective product crystallization for concurrent product separation and catalyst recycling in the isomerizing methoxycarbonylation of methyl oleate. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2020;8(29):10633–10638. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c03432>
- Roesle P., Stempfle F., Hess S.K., Zimmerer J., Río Bártulos C., Lepetit B., Eckert A., Kroth P.G., Mecking S. Synthetic Polyester from Algae Oil. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014;53(26):6800–6804. <https://doi.org/10.1002/anie.201403991>
- Quinzler D., Mecking S. Linear semicrystalline polyesters from fatty acids by complete feedstock molecule utilization. *Angew. Chem.* 2010;122(25):4402–4404. <https://doi.org/10.1002/ange.201001510>
- Stempfle F., Ritter B.S., Mülhaupt R., Mecking S. Long-chain aliphatic polyesters from plant oils for injection molding, film extrusion and electrospinning. *Green Chem.* 2014;16(4):2008–2014. <https://doi.org/10.1039/C4GC00114A>
- Dong K., Sang R., Wei Z., Liu J., Dühren R., Spannenberg A., Jiao H., Neumann H., Jackstell R., Franke R., Beller M. Cooperative catalytic methoxycarbonylation of alkenes: uncovering the role of palladium complexes with hemilabile ligands. *Chem. Sci.* 2018;9(9):2510–2516. <https://doi.org/10.1039/C7SC02964K>
- Yang J., Liu J., Ge Y., Huang W., Ferretti F., Neumann H., Jiao H., Franke R., Jackstell R., Beller M. Efficient palladium-catalyzed carbonylation of 1,3-dienes: selective synthesis of adipates and other aliphatic diesters. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021;60(17):9527–9533. <https://doi.org/10.1002/anie.202015329>

16. Stempfle F., Quinzler D., Heckler I., Mecking S. Long-chain linear  $C_{19}$  and  $C_{23}$  monomers and polycondensates from unsaturated fatty acid esters. *Macromolecules*. 2011;44(11):4159–4166. <https://doi.org/10.1021/ma200627e>
17. Illner M., Schmidt M., Pogrzeba T., Urban C., Esche E., Schomaecker R., Repke J.-U. Palladium-catalyzed methoxycarbonylation of 1-dodecene in a two phase system: the path towards a continuous process. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2018;57(27):8884–8894. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.8b01537>
18. Behr A., Vorholt A.J., Rentmeister N. Recyclable homogeneous catalyst for the hydroesterification of methyl oleate in thermomorphic solvent systems. *Chem. Eng. Sci.* 2013;99:38–43. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2013.05.040>
19. Nifant'ev I.E., Sevostyanova N.T., Averyanov V.A., Batashev S.A., Vorobiev A.A., Toloraya S.A., Bagrov V.V., Tavtorkin A.N. The concentration effects of reactants and components in the  $Pd(OAc)_2/p$ -toluenesulfonic acid/trans-2,3-bis(diphenyl-phosphinomethyl)-norbornane catalytic system on the rate of cyclohexene hydrocarbomethoxylation. *Appl. Catal. A: Gen.* 2012;449:145–152. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2012.09.020>
20. Vavasori A., Toniolo L., Cavinato G. Hydroesterification of cyclohexene using the complex  $Pd(PPh_3)_2(TsO)_2$  as catalyst precursor. Effect of a hydrogen source ( $TsOH$ ,  $H_2O$ ) on the TOF and a kinetic study ( $TsOH$ :  $p$ -toluenesulfonic acid). *J. Mol. Catal. A: Chem.* 2003;191(1):9–21. [https://doi.org/10.1016/S1381-1169\(02\)00358-8](https://doi.org/10.1016/S1381-1169(02)00358-8)
21. Аверьянов В.А., Севостьянова Н.Т., Баташев С.А. Кинетические закономерности гидрокарбоалкоксилирования циклогексена циклогексанолам, катализируемого системой  $Pd(PPh_3)_2Cl_2 - PPh_3 - p$ -толуолсульфокислота. *Нефтехимия*. 2008;48(4):286–294.
22. Аверьянов В.А., Баташев С.А., Севостьянова Н.Т., Носова Н.М. Кинетика и механизм катализируемого комплексом  $Pd(II)$  гидрокарбометоксилирования циклогексена. *Кинетика и катализ*. 2006;47(3):381–390.
23. Петров Э.С. Фосфиновые комплексы палладия в катализе реакций карбонилирования олефинов. *Журн. физ. химии*. 1988;62(10):2858–2868.
24. Белобородов В.Л., Зурабян С.Э., Лузин А.П., Тюкавкина Н.А. *Органическая химия*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019. Кн. 1. 640 с.
15. Yang J., Liu J., Ge Y., Huang W., Ferretti F., Neumann H., Jiao H., Franke R., Jackstell R., Beller M. Efficient palladium-catalyzed carbonylation of 1,3-dienes: selective synthesis of adipates and other aliphatic diesters. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021;60(17):9527–9533. <https://doi.org/10.1002/anie.202015329>
16. Stempfle F., Quinzler D., Heckler I., Mecking S. Long-chain linear  $C_{19}$  and  $C_{23}$  monomers and polycondensates from unsaturated fatty acid esters. *Macromolecules*. 2011;44(11):4159–4166. <https://doi.org/10.1021/ma200627e>
17. Illner M., Schmidt M., Pogrzeba T., Urban C., Esche E., Schomaecker R., Repke J.-U. Palladium-catalyzed methoxycarbonylation of 1-dodecene in a two phase system: the path towards a continuous process. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2018;57(27):8884–8894. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.8b01537>
18. Behr A., Vorholt A.J., Rentmeister N. Recyclable homogeneous catalyst for the hydroesterification of methyl oleate in thermomorphic solvent systems. *Chem. Eng. Sci.* 2013;99:38–43. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2013.05.040>
19. Nifant'ev I.E., Sevostyanova N.T., Averyanov V.A., Batashev S.A., Vorobiev A.A., Toloraya S.A., Bagrov V.V., Tavtorkin A.N. The concentration effects of reactants and components in the  $Pd(OAc)_2/p$ -toluenesulfonic acid/trans-2,3-bis(diphenyl-phosphinomethyl)-norbornane catalytic system on the rate of cyclohexene hydrocarbomethoxylation. *Appl. Catal. A: Gen.* 2012;449:145–152. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2012.09.020>
20. Vavasori A., Toniolo L., Cavinato G. Hydroesterification of cyclohexene using the complex  $Pd(PPh_3)_2(TsO)_2$  as catalyst precursor. Effect of a hydrogen source ( $TsOH$ ,  $H_2O$ ) on the TOF and a kinetic study ( $TsOH$ :  $p$ -toluenesulfonic acid). *J. Mol. Catal. A: Chem.* 2003;191(1):9–21. [https://doi.org/10.1016/S1381-1169\(02\)00358-8](https://doi.org/10.1016/S1381-1169(02)00358-8)
21. Aver'yanov V.A., Sevost'yanova N.T., Batashev S.A. Kinetics of cyclohexene hydrocarbalkoxylation with cyclohexanol catalyzed by the  $Pd(PPh_3)_2Cl_2-PPh_3-p$ -toluenesulfonic acid system. *Pet. Chem.* 2008;48(4):287–295. <https://doi.org/10.1134/S0965544108040063>  
[Original Russian Text: Aver'yanov V.A., Sevost'yanova N.T., Batashev S.A. Kinetics of cyclohexene hydrocarbalkoxylation with cyclohexanol catalyzed by the  $Pd(PPh_3)_2Cl_2-PPh_3-p$ -toluenesulfonic acid system. *Нефтехимия*. 2008;48(4):286–294 (in Russ.).]
22. Aver'yanov V.A., Batashev S.A., Sevost'yanova N.T., Nosova N.M. Kinetics and mechanism of cyclohexene hydrocarbomethoxylation catalyzed by a  $Pd(II)$  complex. *Kinet. Catal.* 2006;47(3):375–383. <https://doi.org/10.1134/S0023158406030086>  
[Original Russian Text: Aver'yanov V.A., Batashev S.A., Sevost'yanova N.T., Nosova N.M. Kinetics and mechanism of cyclohexene hydrocarbomethoxylation catalyzed by a  $Pd(II)$  complex. *Кинетика и Катализ*. 2006;47(3):381–390 (in Russ.).]
23. Petrov E.S. Phosphine complexes of palladium in the catalysis of olefin carbonylation reactions. *Zhurnal Fizicheskoi Khimii*. 1988;62(10):2858–2868 (in Russ.).
24. Beloborodov V.L., Zurabyan S.E., Luzin A.P., Tyukavkina N.A. *Organicheskaya khimiya (Organic Chemistry)*. Moscow: GEOTAR-Media; 2019. V. 1. 640 p. (in Russ.).

## Об авторах

**Севостьянова Надежда Тенгизовна**, к.х.н., доцент, старший научный сотрудник, руководитель научно-производственного центра «Химреактивдиагностика», ФГБОУ ВО «Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого» (300026, Россия, г. Тула, пр-т Ленина, д. 125). E-mail: [sevastyanova.nt@gmail.com](mailto:sevastyanova.nt@gmail.com). Scopus Author ID 25643582900, ResearcherID M-8567-2014, SPIN-код РИНЦ 9239-7136, <https://orcid.org/0000-0002-3499-2226>

**Баташев Сергей Александрович**, к.х.н., доцент, старший научный сотрудник научно-производственного центра «Химреактив-диагностика», ФГБОУ ВО «Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого» (300026, Россия, г. Тула, пр-т Ленина, д. 125). E-mail: [tulapharma@gmail.com](mailto:tulapharma@gmail.com). Scopus Author ID 14071256200, ResearcherID N-1405-2018, SPIN-код РИНЦ 8241-9789, <https://orcid.org/0000-0001-7537-7740>

**Родионова Анастасия Сергеевна**, исполнитель по гражданско-правовому договору реализации гранта Российского научно-го фонда, ФГБОУ ВО «Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого» (300026, Россия, г. Тула, пр-т Ленина, д. 125). E-mail: [rodionova.nastia@ya.ru](mailto:rodionova.nastia@ya.ru). Scopus Author ID 57189375048, <https://orcid.org/0000-0002-0896-5208>

**Козленко Дарья Константиновна**, исполнитель по гражданско-правовому договору реализации гранта Российского научно-го фонда, ФГБОУ ВО «Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого» (300026, Россия, г. Тула, пр-т Ленина, д. 125). E-mail: [dk.reshetnikova@yandex.ru](mailto:dk.reshetnikova@yandex.ru). Scopus Author ID 58600613300, <https://orcid.org/0009-0009-7166-8415>

## About the authors

**Nadezhda T. Sevostyanova**, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Senior Researcher, Head, Research and Production Center Himreaktivdiagnostika, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University (125, Lenina pr., Tula, 300026, Russia). E-mail: [sevastyanova.nt@gmail.com](mailto:sevastyanova.nt@gmail.com). Scopus Author ID 25643582900, ResearcherID M-8567-2014, RSCI SPIN-code 9239-7136, <https://orcid.org/0000-0002-3499-2226>

**Sergey A. Batashev**, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Senior Researcher, Research and Production Center Himreaktivdiagnostika, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University (125, Lenina pr., Tula, 300026, Russia). E-mail: [tulapharma@gmail.com](mailto:tulapharma@gmail.com). Scopus Author ID 14071256200, ResearcherID N-1405-2018, RSCI SPIN-code 8241-9789, <https://orcid.org/0000-0001-7537-7740>

**Anastasia S. Rodionova**, Researcher, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University (125, Lenina pr., Tula, 300026, Russia). E-mail: [rodionova.nastia@ya.ru](mailto:rodionova.nastia@ya.ru). Scopus Author ID 57189375048, <https://orcid.org/0000-0002-0896-5208>

**Dar'ya K. Kozlenko**, Researcher, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University (125, Lenina pr., Tula, 300026, Russia). E-mail: [dk.reshetnikova@yandex.ru](mailto:dk.reshetnikova@yandex.ru). Scopus Author ID 58600613300, <https://orcid.org/0009-0009-7166-8415>

Химия и технология лекарственных препаратов  
и биологически активных соединений  
Chemistry and technology of medicinal compounds  
and biologically active substances

УДК 577.112.345

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-202-213>

EDN FORUND



НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

## Производные L-орнитина с гетарильными и алкильными фрагментами в структуре: синтез и антибактериальная активность

Т.Г. Бодрова, У.А. Буданова✉, Ю.Л. Себякин

МИРЭА — Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова),  
Москва, 119571 Россия

✉ Автор для переписки, e-mail: c-221@yandex.ru

### Аннотация

**Цели.** Катионные амфифилы и антимикробные пептидомиметики широко исследуются в качестве антибактериальных средств в связи с их мембрано-активным механизмом действия. Особое внимание уделяется рациональному дизайну данных соединений для достижения высокой антимикробной активности. Целью данной работы является синтез и определение эффективности антибактериального действия бивалентных катионных амфифилов с L-орнитином в качестве разветвителя. Соединения отличаются степенью гидрофобности за счет варьирования N-концевых алифатических аминокислот в полярном блоке и чередованием диалкильного и алкил-гетарильного радикалов в липофильном блоке.

**Методы.** Для синтеза неполярных фрагментов амфифилов использованы методы алкилирования аминов алкилбромидом в присутствии карбонатных солей. Формирование амидных связей производных L-орнитина с аминокислотами осуществлялось карбодимидным методом. Для выделения продуктов реакции из реакционной смеси использовалась колоночная хроматография на силикагеле и окиси алюминия II степени активности по Брокману. Определена антимикробная активность синтезированных соединений по отношению к грамположительным *B. subtilis* 534 и грамотрицательным *E. coli* M17 штаммов бактерий. Значения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) фиксировались с помощью метода серийных микроразбавлений в питательной среде.

**Результаты.** Разработаны схемы получения бивалентных катионных амфифилов на основе производных L-орнитина. В дизайне целевых соединений использовались различия в структуре алифатических аминокислот (глицин, β-аланин, γ-аминомасляная кислота (ГАМК)), в длине алкильных радикалов (C<sub>8</sub>, C<sub>12</sub>) или в наличии индольного фрагмента. Показана высокая антибактериальная активность синтезированных соединений. Наиболее активными оказались липоаминокислоты с терминальными остатками ГАМК и несимметричным неполярным блоком (триптамил-додециламин). Значения МИК составили 0.39 мкг/мл в отношении грамположительных бактерий и 1.56 мкг/мл для грамотрицательных бактерий. Производное ГАМК с симметричным липофильным фрагментом на основе диоктиламина продемонстрировало активность с МИК 0.78 мкг/мл в отношении *B. subtilis* и 3.12 мкг/мл в отношении *E. coli*.

**Выводы.** Синтезировано девять новых липоаминокислотных катионных бивалентных амфифилов на основе L-орнитина. Структура полученных соединений подтверждена данными спектроскопии ядерного магнитного резонанса <sup>1</sup>H и масс-спектрометрии. Определены соединения-лидеры по антимикробной активности как по отношению к грамположительным, так и по отношению к грамотрицательным штаммам бактерий. Показано влияние степени липофильности в асимметричном неполярном блоке на уровень проявляемой антимикробной активности.

### Ключевые слова

пептидомиметики, катионные амфифилы, производные L-орнитина, минимальная ингибирующая концентрация, антибактериальная активность

Поступила: 03.07.2023  
Доработана: 07.11.2023  
Принята в печать: 15.04.2024

## Для цитирования

Бодрова Т.Г., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. Производные L-орнитина с гетарильными и алкильными фрагментами в структуре: синтез и антибактериальная активность. *Тонкие химические технологии*. 2024;19(3):202–213. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-202-213>

## RESEARCH ARTICLE

# L-Ornithine derivatives with structural hetaryl and alkyl moiety: Synthesis and antibacterial activity

Tatyana G. Bodrova, Ulyana A. Budanova✉, Yury L. Sebyakin

MIREA — Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, 119571 Russia

✉ Corresponding author; e-mail: c-221@yandex.ru

## Abstract

**Objectives.** Cationic amphiphiles and antimicrobial peptidomimetics are widely investigated as antibacterial agents due to their membrane-active mechanism of action. Particular attention is focused on the rational design of compounds in this class to achieve high antimicrobial activity. The aim of the present work is to synthesize bivalent cationic amphiphiles with L-ornithine as a branching element and evaluate the effectiveness of their antibacterial action. The compounds differ in terms of hydrophobicity due to the variation of *N*-terminal aliphatic amino acids in the polar block and alternation of dialkyl and alkyl-hetaryl radicals in the lipophilic block.

**Methods.** For the synthesis of nonpolar fragments of amphiphiles, methods for the alkylation of amines with alkyl bromides in the presence of carbonate salts were used. The formation of amide bonds of L-ornithine derivatives with amino acids was carried out using the carbodiimide method. For the reaction products recovery from the reaction mixture, column chromatography on silica gel and aluminum oxide activated Brockmann Grade II was used. The antimicrobial activity of the synthesized compounds against gram-positive *B. subtilis* 534 and gram-negative *E. coli* M17 bacterial strains was evaluated. Minimum inhibitory concentration (MIC) values were recorded using a serial microdilution method in a nutrient medium.

**Results.** Developed schemes for the preparation of bivalent cationic amphiphiles based on L-ornithine derivatives are presented. Differences in the structure of aliphatic amino acids (glycine,  $\beta$ -alanine,  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)), in the length of alkyl radicals ( $C_8$ ,  $C_{12}$ ), or in the presence of an indole moiety, were used in the design of target compounds. The high antibacterial activity of the synthesized compounds was demonstrated. The most active compounds were lipoamino acids with terminal GABA residues and asymmetrical non-polar block (tryptamyl–dodecylamine). The MIC values were 0.39  $\mu\text{g/mL}$  for gram-positive bacteria and 1.56  $\mu\text{g/mL}$  for gram-negative bacteria. A GABA derivative with a symmetrical lipophilic moiety based on dioctylamine demonstrated activity with an MIC of 0.78  $\mu\text{g/mL}$  against *B. subtilis* and 3.12  $\mu\text{g/mL}$  against *E. coli*.

**Conclusions.** Nine new lipoamino acid cationic bivalent amphiphiles based on L-ornithine were synthesized. The structure of the obtained compounds was confirmed by nuclear magnetic resonance  $^1\text{H}$  spectroscopy and mass spectrometry data. Leading compounds in antimicrobial activity against both gram-positive and gram-negative strains of bacteria were determined. The influence of the degree of lipophilicity in the asymmetric nonpolar block on the level of exhibited antimicrobial activity is demonstrated.

## Keywords

peptidomimetics, cationic amphiphiles, L-ornithine derivatives, minimum inhibitory concentration, antibacterial activity

Submitted: 03.07.2023

Revised: 07.11.2023

Accepted: 15.04.2024

## For citation

Bodrova T.G., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. L-Ornithine derivatives with structural hetaryl and alkyl moiety: Synthesis and antibacterial activity. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2024;19(3):202–213. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-202-213>

## ВВЕДЕНИЕ

Рост числа бактериальных инфекций, устойчивых к антибиотикам, является серьезной проблемой здравоохранения [1]. Это может приводить

к увеличению продолжительности пребывания пациента в стационаре, необходимости более широкого амбулаторного наблюдения и более высокой стоимости новых лекарств, необходимых для лечения [2]. Внутрибольничные инфекции давно

сопровождаются высокой устойчивостью к антибиотикам; однако в последние годы также отмечается постепенный рост внебольничных инфекций. Кроме того, глобализация привела к тому, что бактериальные гены перемещаются быстрее, чем раньше, и штаммы с множественной лекарственной устойчивостью распространяются по всему миру [3].

К сожалению, на сегодняшний день еще ни один антибиотик не прошел клинических испытаний, в отношении которых не было бы зарегистрировано случаев резистентности [4]. Это связано с тем, что существующие антибиотики обычно ингибируют бактериальные процессы, необходимые для выживания, стимулируя тем самым бактериальную эволюцию путем сохранения устойчивых к лекарственным препаратам мутаций [5–6].

Катионные амфифилы и антимикробные пептидомиметики широко исследуются в качестве антибактериальных средств в различных областях в связи с их мембрано-активным механизмом действия, к которому сложнее развивается устойчивость бактерий [7, 8]. Однако большинство из них ограничены в практическом применении из-за невысокой биосовместимости. Именно поэтому особое внимание уделяется рациональному дизайну данных соединений для достижения высокоэффективной антимикробной активности при минимальных дозах с одновременным соблюдением низких токсических побочных эффектов [9–12].

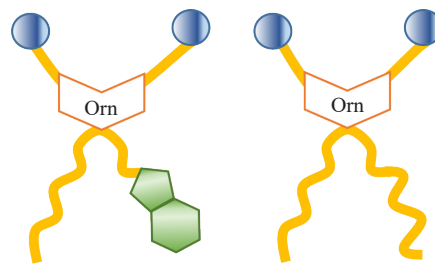
Известно, что производные индола проявляют разнообразные биологические свойства, включая антибактериальную [13–15], противогрибковую [16], противовирусную [17–18], противоопухолевую [19], противовоспалительную [20] и другие виды активности. В связи с этим включение индольного цикла в структуру пептидомиметика представляется перспективным подходом.

Целью данной работы является синтез и определение эффективности антибактериального действия бивалентных катионных амфифилов с L-орнитином в качестве разветвителя. Соединения отличаются степенью гидрофобности за счет варьирования N-концевых алифатических аминокислот в полярном блоке и чередованием диалкильного и алкил-гетарильного радикалов в липофильном блоке (рис.).

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Материалы и методы

Все химические вещества и реагенты коммерчески доступны и использовались без дополнительной очистки: ди-*трет*-бутил-дикарбонат, *N,N'*-дициклогексилкарбодиимид (*N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide, DCC), 4-диметиламинопиридин (4-dimethylaminopyridine, DMAP),



**Рис.** Схематичное изображение целевых структур;  
Orn — L-орнитин

**Fig.** Schematic representation of target structures;  
Orn — L-ornithine

1-гидроксibenзотриазол, L-лизин моногидрохлорид, L-орнитин моногидрохлорид, глицин, триптофан, L-фенилаланин,  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК) (*Sigma-Aldrich*, Германия);  $\beta$ -аланин, триптамин, 1-бромоктан, 1-бромдодекан (*Acros Organics*, Бельгия); калий углекислый, натрий углекислый, натрий сернокислый безводный (*Химмед*, Россия), трифторуксусная кислота (trifluoroacetic acid, TFA) (*Biochem*, Франция).

Спектры, полученные в результате спектроскопии ядерного магнитного резонанса  $^1\text{H}$  (ЯМР), регистрировали в дейтерированных растворителях (*Solvex-D*, Россия): дейтерохлороформ ( $\text{CDCl}_3$ ), диметилсульфоксид- $d_6$  (dimethyl sulfoxide- $d_6$ ,  $\text{DMSO}-d_6$ ) на ЯМР-спектрометре «Bruker DPX-300» (*Bruker BioSpin*, Германия) с рабочей частотой 300 МГц. Внутренний стандарт — гексаметилдисилоксан (*Sigma-Aldrich*, Германия). Масс-спектры регистрировали на времяпролетном масс-спектрометре VISION 2000 (*Thermo BioAnalysis*, Великобритания) методом MALDI (matrix assisted laser desorption/ionization), в качестве матрицы использовалась 2,4-дигидроксibenзойная кислота (*Sigma-Aldrich*, Германия).

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинках Sorbfil (ИМИД, Россия) в системах растворителей (*Компонент-реактив*, Россия): (А) хлороформ–метанол 1 : 1, (Б) хлористый метилен–метанол 1 : 1, (В) толуол–этилацетат 2 : 1, (Г) хлористый метилен–метанол 20 : 1, (Д) толуол–ацетонитрил 1 : 25, (Е) толуол–этилацетат 1 : 1, (Ж) толуол–этилацетат 7 : 1, (З) хлористый метилен–метанол 25 : 1.

Колоночную хроматографию проводили на силикагеле Merck 0.040–0.063 мм (*Merck*, Германия), окиси алюминия II степени активности по Брокману L40/250 (*Chemapol*, Чехия). Обнаружение пятен веществ с помощью ТСХ осуществляли нагреванием над пламенем спиртовки. Вещества, содержащие двойные связи, обнаруживали водным раствором перманганата калия (*Химмед*, Россия). Вещества, содержащие свободную аминогруппу, обнаруживали

5%-ным раствором нингидрина (*Acros Organics*, Бельгия) с последующим нагреванием до 55–75°C. Вещества, содержащие вторичные или третичные аминогруппы, обнаруживали в растворе реактива Драгендорфа [21].

### N-Триптамин-октиламин (3a)

Растворяли 0.50 г (3.12 ммоль) триптамина **2**, 0.30 г (1.56 ммоль) 1-бромоктана и 0.51 г (1.56 ммоль) карбоната цезия (*Химмед*, Россия) в 60 мл ацетонитрила. Реакцию проводили при перемешивании в течение 6 ч и температуре 25°C. После окончания реакции растворитель упаривали, в реакционную массу добавляли 30 мл дистиллированной воды и экстрагировали этилацетатом (3 × 40 мл). Органическую фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и упаривали на ротормном испарителе (*ИКА*, Германия). Контроль реакции осуществляли по данным ТСХ в системе (А). Продукт выделяли с помощью колоночной хроматографии на окиси алюминия в системе (Д). Получали 0.33 г (44%) продукта **3a**, фактор удерживания *R<sub>f</sub>* (А) 0.38.

<sup>1</sup>H ЯМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 0.87 (3H, т, CH<sub>3</sub>); 1.25 (10H, м, –CH<sub>2</sub>–); 1.5 (2H, м, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH); 2.35 (2H, с, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (ar)); 2.70 (2H, т, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH); 3.0 (2H, м, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (ar)); 3.75 (1H, кв, –NH); 7.15 (1H, м, ar-CH<sup>5</sup>–); 7.20 (1H, тд, ar-CH<sup>6</sup>–); 7.40 (2H, д, ar-CH<sup>7</sup>–), 7.71 (1H, д, ar-CH<sup>4</sup>–); 8.10 (1H, с, ar-NH).

### N-Триптамин-додециламин (3b)

Растворяли 2.50 г (15.6 ммоль) триптамина **2** и 3.12 г (12.5 ммоль) додецилбромид в тетрагидрофуране (*Компонент-реактив*, Россия), затем добавляли 2.60 г (18.8 ммоль) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и KI (*Химмед*, Россия) в каталитическом количестве. Реакцию проводили при комнатной температуре (25°C) и при интенсивном перемешивании в течение 6 ч. После чего осадок отфильтровывали, растворитель отгоняли, оставшуюся реакционную массу растворяли в этилацетате и промывали H<sub>2</sub>O (3 × 50 мл). Органическую фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и упаривали на ротормном испарителе. Продукт выделяли с помощью колоночной хроматографии на окиси алюминия в системе (З). Получали 0.89 г (36%) соединения **3b**, *R<sub>f</sub>* (Б) 0.36.

<sup>1</sup>H ЯМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 0.87 (3H, т, CH<sub>3</sub>); 1.25 (18H, м, –CH<sub>2</sub>–); 1.5 (2H, м, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH); 2.35 (2H, с, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (ar)); 2.70 (2H, т, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH); 3.00 (2H, м, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (ar)); 3.75 (1H, кв, –NH); 7.15 (1H, м, ar-CH<sup>5</sup>–); 7.20 (1H, тд, ar-CH<sup>6</sup>–); 7.42 (2H, д, ar-CH<sup>7</sup>–), 7.72 (1H, д, ar-CH<sup>4</sup>–); 8.10 (1H, с, ar-NH).

### [α-N,δ-N-Бис-(трет-бутоксикарбонил)-L-орнитил]-N'-триптамин-октиламид (5a)

Реакцию осуществляли по описанной методике [22]. Из 0.93 г (2.31 ммоль) α-N,δ-N-бис-(трет-бутоксикарбонил)-L-орнитина (Boc<sub>2</sub>Orn) **4** [22] и 0.63 г (2.31 ммоль) соединения **3a** получали 0.60 г (56%) соединения **5a**, *R<sub>f</sub>* (Е) 0.45.

<sup>1</sup>H ЯМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 0.87 (3H, т, CH<sub>3</sub>); 1.25 (10H, м, –CH<sub>2</sub>–); 1.41 (18H, с, CCH<sub>3</sub>); 1.60 (2H, м, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (Orn)); 1.69 (2H, м, β-CH<sub>2</sub>); 1.90 (2H, м, ε-NH–CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>– (Orn)); 2.90 (2H, с, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (ar)); 3.13 (2H, м, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (Orn)); 3.24–3.41 (2H, м, α-CH<sub>2</sub>); 3.49 (1H, с, ε-NH); 3.6–4.0 (2H, м, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (ar)); 4.50 (1H, α-NH (Orn)); 5.25 (1H, дд, –CH– (Orn)); 7.05 (1H, д, ar-CH–); 7.15 (1H, м, ar-CH<sup>5</sup>–); 7.20 (1H, тд, ar-CH<sup>6</sup>–); 7.43 (2H, д, ar-CH<sup>7</sup>–), 7.70 (1H, д, ar-CH<sup>4</sup>–); 8.25 (1H, с, ar-NH).

### [α-N,δ-N-Бис-(трет-бутоксикарбонил)-L-орнитил]-N'-триптамин-додециламид (5b)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **5a**. Из 0.19 г (0.56 ммоль) соединения **4** и 0.19 г (0.56 ммоль) соединения **3b** получали 0.22 г (52%) соединения **5b**, *R<sub>f</sub>* (Е) 0.63.

<sup>1</sup>H ЯМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 0.87 (3H, т, CH<sub>3</sub>); 1.25 (18H, м, –CH<sub>2</sub>–); 1.41 (18H, с, CCH<sub>3</sub>); 1.60 (2H, м, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (Orn)); 1.71 (2H, м, β-CH<sub>2</sub>); 1.90 (2H, м, ε-NH–CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>– (Orn)); 2.93 (2H, с, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (ar)); 3.11 (2H, м, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (Orn)); 3.2–3.4 (2H, м, α-CH<sub>2</sub>); 3.49 (1H, с, ε-NH); 3.62–3.98 (2H, м, CH<sub>2</sub>–CH<sub>2</sub>–NH (ar)); 4.50 (1H, с, α-NH (Orn)); 5.25 (1H, дд, –CH– (Orn)); 7.05 (1H, д, ar-CH–); 7.15 (1H, м, ar-CH<sup>5</sup>–); 7.21 (1H, тд, ar-CH<sup>6</sup>–); 7.40 (2H, д, ar-CH<sup>7</sup>–), 7.72 (1H, д, ar-CH<sup>4</sup>–); 8.25 (1H, с, ar-NH).

### L-Орнитил-N-триптамин-октиламид (6a)

К 0.51 г (0.86 ммоль) соединения **5a** в хлористом метиле добавляли 650 мкл (8.60 ммоль) TFA и перемешивали 3 ч. Контроль реакции осуществляли по данным ТСХ в системе (Г). После окончания реакции растворитель отгоняли в вакууме. Остаток растворяли в 40 мл этилацетата, промывали 5% раствором NaHCO<sub>3</sub> (2 × 30 мл), затем H<sub>2</sub>O (30 мл) до pH 7. Органическую фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, растворитель отгоняли на ротормном испарителе. Получали 15 мг (45%) соединения **6a**, *R<sub>f</sub>* (А) 0.15. MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight) (*m/z*): 425 [M+K]<sup>+</sup>, 409 [M+Na]<sup>+</sup>.

### L-Орнитил-*N*-триптамин-додэциламид (**6b**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **6a**. Из 0.22 г (0.35 ммоль) соединения **5b** получили 68 мг (44.3%) продукта **6b**,  $R_f$  (A) 0.23.

### [ $\alpha$ -*N*, $\delta$ -*N*-Бис-((*N*-трет-бутоксикарбонил)-глицил)-орнитил]-*N'*-триптамин-октиламид (**8a**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **5a**. Из 45 мг (0.26 ммоль) *N*-трет-бутоксикарбонилглицина (Вос-Gly) **7c** [22] и 40 мг (0.10 ммоль) соединения **6a** получали 25 мг (33.5%) соединения **8a**,  $R_f$  (Г) 0.49.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0.87 (3H, т,  $\text{CH}_3$ ); 1.25 (10H, м,  $-\text{CH}_2-$ ); 1.45 (18H, с,  $\text{CCH}_3$ ), 1.57 (2H, уш.с,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 1.61 (2H, уш.с.,  $\beta-\text{CH}_2$ ); 1.75 (2H, м,  $\delta-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  (Orn)); 2.60 (2H, с,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ar)); 3.22 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 3.35–3.55 (2H, м,  $\alpha-\text{CH}_2$ ); 3.95 (2H, уш.с.,  $-\text{CH}_2-$  (Gly)); 4.10 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ar)); 4.51 (1H,  $\alpha-\text{NH}$  (Orn)); 5.40 (1H, дд,  $-\text{CH}-$  (Orn)); 7.05 (1H, д, ar- $\text{CH}-$ ); 7.08–7.19 (1H, м, ar- $\text{CH}^5-$ ); 7.22 (1H, тд, ar- $\text{CH}^6-$ ); 7.40 (2H, д, ar- $\text{CH}^7$ ), 7.71 (1H, д, ar- $\text{CH}^4-$ ); 8.25 (1H, с, ar- $\text{NH}$ ).

### [ $\alpha$ -*N*, $\delta$ -*N*-Бис-((*N*-трет-бутоксикарбонил)- $\beta$ -аланил)-орнитил]-*N'*-триптамин-октиламид (**8b**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **5a**. Из 68 мг (0.36 ммоль) *N*-трет-бутоксикарбонил- $\beta$ -аланина (Вос- $\beta$ -Ala) **7d** [22], и 55 мг (0.14 ммоль) соединения **6a** получали 41 мг (35%) соединения **8b**,  $R_f$  (Г) 0.49.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0.87 (3H, т,  $\text{CH}_3$ ); 1.25 (10H, м,  $-\text{CH}_2-$ ); 1.43 (18H, с,  $\text{CCH}_3$ ), 1.62 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 1.73 (2H, м,  $\beta-\text{CH}_2$ ); 1.90 (2H, м,  $\delta-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  (Orn)); 2.25 (4H, уш.с.,  $\beta-\text{CH}_2$  ( $\beta$ -Ala)), 2.90 (2H, с,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ar)); 3.15 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 3.2–3.4 (2H, м,  $\alpha-\text{CH}_2$ ); 3.35 (4H, уш.с,  $\alpha-\text{CH}_2$  ( $\beta$ -Ala)), 3.49 (1H, с,  $\delta-\text{NH}$ ); 3.6–3.9 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ar)); 4.32 (1H, уш.с,  $-\text{NH}$  ( $\beta$ -Ala)); 4.50 (1H,  $\alpha-\text{NH}$  (Orn)); 5.25 (1H, дд,  $-\text{CH}-$  (Orn)); 7.05 (1H, д, ar- $\text{CH}-$ ); 7.15 (1H, м, ar- $\text{CH}^5-$ ); 7.20 (1H, тд, ar- $\text{CH}^6-$ ); 7.41 (2H, д, ar- $\text{CH}^7$ ), 7.72 (1H, д, ar- $\text{CH}^4-$ ); 8.25 (1H, с, ar- $\text{NH}$ ).

### [ $\alpha$ -*N*, $\delta$ -*N*-Бис-((*N*-трет-бутоксикарбонил)-ГАМК)-L-орнитил]-*N'*-триптамин-октиламид (**8c**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **8a**. Из 53 мг (0.26 ммоль) *N*-трет-бутоксикарбонил-ГАМК (Вос-ГАМК) **7e** [22] и 40 мг

(0.10 ммоль) соединения **6a** получали 12 мг (34%) соединения **8c**,  $R_f$  (E) 0.35.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0.87 (3H, т,  $\text{CH}_3$ ); 1.25 (10H, м,  $-\text{CH}_2-$ ); 1.41 (18H, с,  $\text{CCH}_3$ ), 1.55–1.66 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 1.62–1.73 (2H, м,  $\beta-\text{CH}_2$ ); 1.74–1.82 (4H, м,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ГАМК)), 1.90 (2H, м,  $\delta-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  (Orn)); 2.25 (4H, м,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ГАМК)), 2.91 (2H, с,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ar)); 3.00 (4H, м,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ГАМК)), 3.12 (4H, м,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ГАМК)), 3.15–3.19 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 3.2–3.4 (2H, м,  $\alpha-\text{CH}_2$ ); 3.49 (1H, с,  $\delta-\text{NH}$ ); 3.6–3.9 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ar)); 4.02 (2H, м,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ГАМК)), 4.50 (H,  $\alpha-\text{NH}$  (Orn)); 5.25 (1H, дд,  $-\text{CH}-$  (Orn)); 7.05 (1H, д, ar- $\text{CH}-$ ); 7.15 (1H, м, ar- $\text{CH}^5-$ ); 7.20 (1H, тд, ar- $\text{CH}^6-$ ); 7.41 (2H, д, ar- $\text{CH}^7$ ); 7.71 (1H, д, ar- $\text{CH}^4-$ ); 8.25 (1H, с, ar- $\text{NH}$ ).

### [ $\alpha$ -*N*, $\delta$ -*N*-Бис-((*N*-трет-бутоксикарбонил)-глицил)-L-орнитил]-*N'*-триптамин-додэциламид (**8d**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **5a**. Из 19 мг (0.11 ммоль) Вос-Gly **7c** и 20 мг (0.045 ммоль) соединения **6b** получали 19 мг (29%) соединения **8d**,  $R_f$  (Г) 0.49.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0.87 (3H, т,  $\text{CH}_3$ ); 1.25 (18H, м,  $-\text{CH}_2-$ ); 1.43 (18H, с,  $\text{CCH}_3$ ), 1.50 (2H, уш.с,  $\beta-\text{CH}_2$  (alkyl)); 1.71 (2H, уш.с,  $\gamma-\text{CH}_2-$  (Orn)); 1.9–2.3 (2H, м,  $\beta-\text{CH}_2-$  (Orn)); 3.11 (2H, уш.с,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ar)); 3.30 (2H, м,  $\delta-\text{CH}_2-$  (Orn)); 3.40 (4H, уш.с,  $-\text{CH}_2-$  (Gly)), 3.7–3.9 (2H, м,  $\alpha-\text{CH}_2-$  (ar)); 3.7–3.9 (2H, дм,  $\alpha-\text{CH}_2-$  (alkyl)), 4.12 (1H, м,  $-\text{CH}-$  (Orn)); 4.60 (1H, уш.с,  $\delta-\text{NH}$  (Orn)); 4.80 (2H, уш.с,  $-\text{NH}$  (Gly)); 5.11 (1H, уш.с,  $\alpha-\text{NH}$  (Orn)); 7.05 (1H, д, ar- $\text{CH}-$ ); 7.15 (1H, м, ar- $\text{CH}^5-$ ); 7.20 (1H, тд, ar- $\text{CH}^6-$ ); 7.41 (2H, д, ar- $\text{CH}^7$ ), 7.70 (1H, д, ar- $\text{CH}^4-$ ); 8.25 (1H, с, ar- $\text{NH}$ ).

### [ $\alpha$ -*N*, $\delta$ -*N*-Бис-((*N*-трет-бутоксикарбонил)- $\beta$ -аланил)-L-орнитил]-*N'*-триптамин-додэциламид (**8e**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **5a**. Из 26 мг (0.015 ммоль) Вос- $\beta$ -Ala **7d** и 27 мг (0.006 ммоль) соединения **6b** получали 16 мг (16%) соединения **8e**,  $R_f$  (Г) 0.44.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0.87 (3H, т,  $\text{CH}_3$ ); 1.25 (18H, м,  $-\text{CH}_2-$ ); 1.43 (18H, с,  $\text{CCH}_3$ ), 1.49 (2H, уш.с,  $\beta-\text{CH}_2$  (alkyl)); 1.70 (2H, уш.с,  $\gamma-\text{CH}_2-$  (Orn)); 1.9–2.3 (2H, м,  $\beta-\text{CH}_2-$  (Orn)); 3.03 (4H, уш.с,  $\beta-\text{CH}_2$  ( $\beta$ -Ala)), 3.10 (2H, уш.с,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (ar)); 3.30 (2H, м,  $\delta-\text{CH}_2-$  (Orn)); 3.51 (4H, уш.с,  $\alpha-\text{CH}_2$  ( $\beta$ -Ala)), 3.7–3.9 (2H, м,  $\alpha-\text{CH}_2-$  (ar)); 3.7–3.9 (2H, м,  $\alpha-\text{CH}_2-$  (alkyl)); 4.10 (1H, м,  $-\text{CH}-$  (Orn)); 4.60 (1H, уш.с,  $\delta-\text{NH}$  (Orn)); 4.81 (2H, уш.с,  $-\text{NH}$  ( $\beta$ -Ala)); 5.08

(1H, уш.с,  $\alpha$ -NH (Orn)); 7.05 (1H, д, ar-CH $\text{--}$ ); 7.15 (1H, м, ar-CH $\text{--}$ ); 7.19 (1H, тд, ar-CH $\text{--}$ ); 7.40 (2H, д, ar-CH $\text{--}$ ), 7.69 (1H, д, ar-CH $\text{--}$ ); 8.25 (1H, с, ar-NH).

**[ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-Бис-((N-трет-бутоксикарбонил)-ГАМК)-L-орнитил]-N'-триптаamil-додециламид (8f)**

Реакцию проводили аналогично получению соединения **5a**. Из 28 мг (0.015 ммоль) Вос-ГАМК **7e** и 27 мг (0.006 ммоль) соединения **6b** получали 47 мг (24%) соединения **8f**,  $R_f$  (Г) 0.44.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0.87 (3H, т, CH $_3$ ); 1.25 (18H, м,  $\text{--CH}_2\text{--}$ ); 1.41 (18H, с, CCH $_3$ ), 1.55 (2H, уш.с,  $\beta$ -CH $_2$  (alkyl)); 1.70 (2H, м,  $\gamma$ -CH $_2\text{--}$  (Orn)); 1.89 (4H, м,  $\gamma$ -CH $_2\text{--}$  (ГАМК)), 2.21 (2H, м,  $\beta$ -CH $_2\text{--}$  (Orn)); 3.03 (4H, уш.с,  $\beta$ -CH $_2$  (ГАМК)), 3.08 (2H, уш.с, CH $_2$ -CH $_2$ -NH (ar)); 3.29 (2H, м,  $\delta$ -CH $_2\text{--}$  (Orn)); 3.50 (4H, уш.с,  $\alpha$ -CH $_2$  (ГАМК)), 3.7–3.9 (2H, м,  $\alpha$ -CH $_2\text{--}$  (ar)); 3.7–3.9 (2H, м,  $\alpha$ -CH $_2\text{--}$  (alkyl)), 4.10 (1H, м,  $\text{--CH--}$  (Orn)); 4.58 (1H, уш.с,  $\delta$ -NH (Orn)); 4.77 (2H, уш.с,  $\text{--NH--}$  (ГАМК)); 5.10 (1H, уш.с,  $\alpha$ -NH (Orn)); 7.05 (1H, д, ar-CH $\text{--}$ ); 7.15 (1H, м, ar-CH $\text{--}$ ); 7.18 (1H, тд, ar-CH $\text{--}$ ); 7.40 (2H, д, ar-CH $\text{--}$ ), 7.71 (1H, д, ar-CH $\text{--}$ ); 8.25 (1H, с, ar-NH).

**Трифторацетатная соль [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-бис-((N-трет-бутоксикарбонил)-глицил)-L-орнитил]-N'-триптаamil-октиламида (9a)**

Соединение **8a** 24 мг (0.033 ммоль) растворяли в безводном хлористом метиле и охлаждали до 0°C. К полученному раствору добавляли 0.33 ммоль TFA. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Контроль реакции осуществляли по данным ТСХ в системе (Г). TFA и растворитель отгоняли на ротонном испарителе. Получали 23 мг (98%) продукта **9a**. MALDI-TOF ( $m/z$ ): 537 [M+K] $^+$ , 521 [M+Na] $^+$ .

**Трифторацетатная соль [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-бис-((N-трет-бутоксикарбонил)- $\beta$ -аланил)-L-орнитил]-N'-триптаamil-октиламида (9b)**

Реакцию проводили аналогично получению соединения **9a**. Из 41 мг (0.059 ммоль) соединения **8b** получали 40 мг (99%) продукта **9b**. MALDI-TOF ( $m/z$ ): 567 [M+K] $^+$ , 551 [M+Na] $^+$ .

**Трифторацетатная соль [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-бис-((N-трет-бутоксикарбонил)-ГАМК)-L-орнитил]-N'-триптаamil-октиламида (9c)**

Реакцию проводили аналогично получению соединения **9a**. Из 12 мг (0.019 ммоль) соединения **8c**

получали 11 мг (98%) продукта **9c**. MALDI-TOF ( $m/z$ ): 579 [M+K] $^+$ , 595 [M+Na] $^+$ .

**Трифторацетатная соль [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-бис-((N-трет-бутоксикарбонил)-глицил)-L-орнитил]-N'-триптаamil-додециламида (9d)**

Реакцию проводили аналогично получению соединения **9a**. Из 19 мг (0.026 ммоль) соединения **8d** получали 18 мг (99%) продукта **9d**. MALDI-TOF ( $m/z$ ): 595 [M+K] $^+$ , 579 [M+Na] $^+$ .

**Трифторацетатная соль [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-бис-((N-трет-бутоксикарбонил)- $\beta$ -аланил)-L-орнитил]-N'-триптаamil-додециламида (9e)**

Реакцию проводили аналогично получению соединения **9a**. Из 16 мг (0.021 ммоль) соединения **8e** получали 16 мг (99%) продукта **9e**. MALDI-TOF ( $m/z$ ): 623 [M+K] $^+$ , 607 [M+Na] $^+$ .

**Трифторацетатная соль [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-ди-((N-трет-бутоксикарбонил)-ГАМК)-L-орнитил]-N'-триптаamil-додециламида (9f)**

Реакцию проводили аналогично получению соединения **9a**. Из 41 мг (0.053 ммоль) соединения **8f** получали 43.3 мг (99%) продукта **9f**. MALDI-TOF ( $m/z$ ): 651 [M+K] $^+$ , 635 [M+Na] $^+$ .

**[ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-Бис-(трет-бутоксикарбонил)-L-орнитил]-N'-диоктиламид (11)**

Реакцию проводили аналогично получению соединения **5a**. Из 1.00 г (4.14 ммоль) Вос $_2$ Orn **4**, 1.71 г (8.29 ммоль) DCC и 1.66 г диоктиламина **10** получали 0.95 г (75%) соединения **11**,  $R_f$  (E) 0.64.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0.87 (6H, т, CH $_3$ ); 1.27 (20H, м,  $\text{--CH}_2\text{--}$ ); 1.44 (18H, с, CCH $_3$ ), 1.55 (4H, уш.с,  $\text{--CH}_2\text{--CH}_2\text{--NH--CH}_2\text{--CH}_2\text{--}$ ), 1.73 (2H, м, CH $_2$ -CH $_2$ -NH (Orn)); 1.92 (2H, м,  $\delta$ -NH-CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_2\text{--}$  (Orn)); 3.03–3.25 (2H, м, CH $_2$ -CH $_2$ -NH (Orn)); 3.50 (4H, м, CH $_2$ -CH $_2$ -NH-CH $_2$ -CH $_2$ ) 4.52 (1H, с,  $\delta$ -NH); 5.01 (1H,  $\alpha$ -NH (Orn)).

**L-Орнитил-N-диоктиламид (12)**

Реакцию проводили аналогично получению соединения **6a**. Из 0.95 г (1.69 ммоль) соединения **11** получали 0.30 г (49%) соединения **12**,  $R_f$  (A) 0.19.

### [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-Бис-((N-трет-бутоксикарбонил)-глицил)-L-орнитил]-N'-диоктиламид (**13a**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **5a**. Из 0.12 г (0.07 ммоль) Вос-Gly **7c** и 0.02 г (0.028 ммоль) соединения **12** получали 23 мг (29%) соединения **13a**,  $R_f$  (Г) 0.57.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0.87 (6H, т,  $\text{CH}_3$ ); 1.27 (20H, м,  $-\text{CH}_2-$ ); 1.44 (18H, с,  $\text{CCH}_3$ ); 1.55 (4H, уш.с,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 1.59 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 1.90 (2H, м,  $\delta\text{-NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  (Orn)); 3.10–3.25 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 3.20 (4H, м,  $-\text{CH}_2-$  (Gly)); 3.45 (4H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 3.81 (2H, уш.с,  $-\text{NH}$  (Gly)); 4.81 (1H, с,  $\delta\text{-NH}$ ); 5.10 (1H,  $\alpha\text{-NH}$  (Orn)).

### [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-Бис-((N-трет-бутоксикарбонил)- $\beta$ -аланил)-L-орнитил]-N'-диоктиламид (**13b**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **5a**. Из 0.12 г (0.063 ммоль) Вос- $\beta$ -Ala **7d** и 0.10 г (0.028 ммоль) соединения **12** получали 19.5 мг (31%) соединения **13b**,  $R_f$  (З) 0.55.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0.87 (6H, т,  $\text{CH}_3$ ); 1.27 (20H, м,  $-\text{CH}_2-$ ); 1.44 (18H, с,  $\text{CCH}_3$ ); 1.55 (4H, уш.с,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 1.60 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 1.89 (2H, м,  $\delta\text{-NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  (Orn)); 3.00 (4H, уш.с,  $\beta\text{-CH}_2$  ( $\beta$ -Ala)); 3.12–3.25 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 3.45 (4H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 3.50 (4H, уш.с,  $\alpha\text{-CH}_2$  ( $\beta$ -Ala)); 4.80 (1H, с,  $\delta\text{-NH}$ ); 5.10 (2H, уш.с,  $-\text{NH}$  ( $\beta$ -Ala)); 5.28 (1H, д,  $\alpha\text{-NH}$  (Orn)).

### [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-Бис-((N-трет-бутоксикарбонил)-ГАМК)-L-орнитил]-N'-диоктиламид (**13c**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **5a**. Из 0.14 г (0.07 ммоль) Вос-ГАМК **7e** и 0.10 г (0.028 ммоль) соединения **12** получали 20 мг (27%) соединения **13c**,  $R_f$  (З) 0.60.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0.87 (6H, т,  $\text{CH}_3$ ); 1.27 (20H, м,  $-\text{CH}_2-$ ); 1.44 (18H, с,  $\text{CCH}_3$ ); 1.55 (4H, уш.с,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 1.73 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 1.91 (4H, м,  $\gamma\text{-CH}_2-$  (ГАМК)); 1.92 (2H, м,  $\delta\text{-NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  (Orn)); 2.97 (4H, уш.с,  $\beta\text{-CH}_2$  (ГАМК)); 3.01–3.22 (2H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$  (Orn)); 3.50 (4H, м,  $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ); 3.58 (4H, уш.с,  $\alpha\text{-CH}_2$  (ГАМК)); 4.50 (1H, с,  $\delta\text{-NH}$ ); 4.77 (2H, уш.с,  $-\text{NH}$  (ГАМК)); 5.01 (1H,  $\alpha\text{-NH}$  (Orn)).

#### Трифторацетатная соль

### [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-бис-((N-трет-бутоксикарбонил)-глицил)-L-орнитил]-N'-диоктиламида (**14a**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **9a**. Из 23 мг (0.033 ммоль) соединения **13a**

получали 23 мг (99%) продукта **14a**. MALDI-TOF ( $m/z$ ): 508  $[\text{M}+\text{K}]^+$ , 492  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

#### Трифторацетатная соль

### [ $\alpha$ -N, $\delta$ -N-бис-((N-трет-бутоксикарбонил)- $\beta$ -аланил)-L-орнитил]-N'-диоктиламида (**14b**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **9a**. Из 19 мг (0.028 ммоль) соединения **13b** получали 20 мг (99%) продукта **14b**. MALDI-TOF ( $m/z$ ): 536  $[\text{M}+\text{K}]^+$ , 520  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

#### Трифторацетатная соль

### [ $\alpha$ -N, $\beta$ -N-бис-((N-трет-бутоксикарбонил)-ГАМК)-L-орнитил]-N'-диоктиламида (**14c**)

Реакцию проводили аналогично получению соединения **9a**. Из 20 мг (0.028 ммоль) соединения **13c** получали 21 мг (99%) продукта **14c**. MALDI-TOF ( $m/z$ ): 564  $[\text{M}+\text{K}]^+$ , 548  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

## Антибактериальная активность

Изучение антибактериальной активности проводили с помощью определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) методом серийных микроразбавлений в жидкой питательной среде [23]. В качестве тест-микроорганизмов использовали суспензии *B. Subtilis* 534 и *E. coli* M17 с концентрацией  $1.5 \times 10^8$  КОЕ/мл и оптической плотностью 0.5 единиц по Мак-Фарланду. В лунки 96-луночного планшета наносили по 50 мкл зараженного бульона и соответствующие количества исследуемых соединений. Планшеты инкубировали при температуре  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  в течение 16–18 ч. МИК веществ — первая прозрачная лунка в ряду при отсчете справа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В дизайне целевых соединений использовались различия в структуре алифатических аминокислот (глицин,  $\beta$ -аланин, ГАМК), в длине алкильных радикалов ( $\text{C}_8$ ,  $\text{C}_{12}$ ) или в наличии индольного фрагмента.

Разработана схема получения бивалентных катионных амфифилов на основе производных L-орнитина, содержащих остаток триптамина, различающихся длиной алифатических цепей  $\text{C}_8$  и  $\text{C}_{12}$  (схема 1).

Для получения соединения **3a** алкилирование триптамина **2** проводили октилбромидом в присутствии карбоната калия и йодида калия в ацетонитриле. Реакцию алкилирования додецилбромидом осуществляли в тетрагидрофуране в присутствии карбоната цезия. Продукты выделяли с помощью колоночной хроматографии на окиси алюминия.

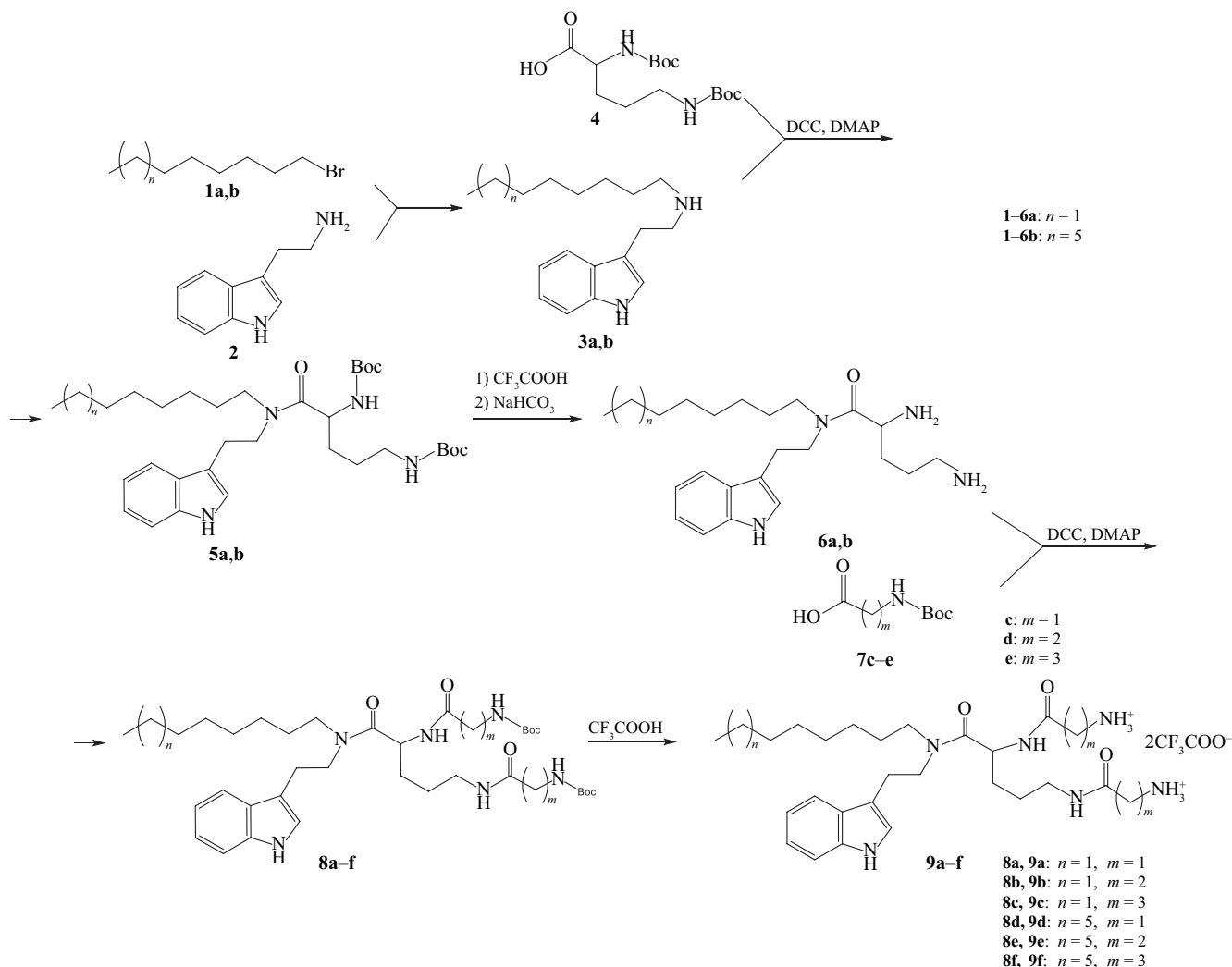


Схема 1. Синтез амфифилов с гетарильным фрагментом

Scheme 1. Synthesis of amphiphiles with hetaryl moiety

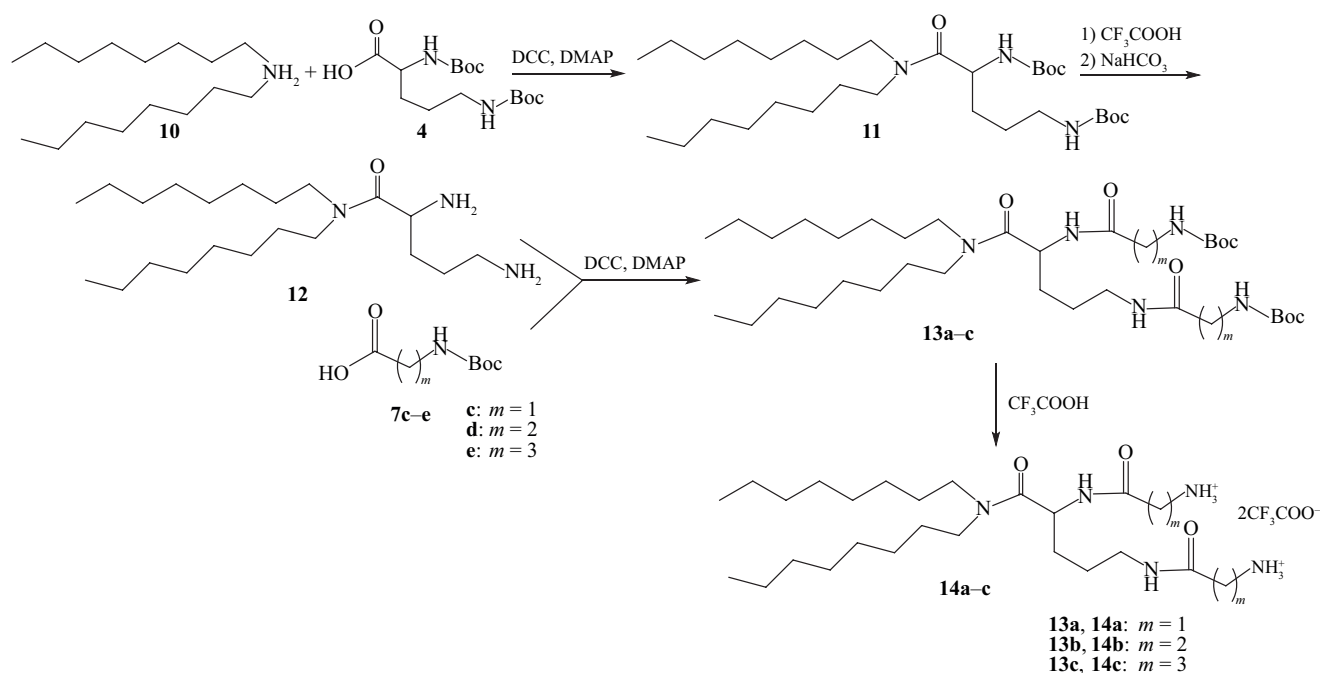
К полученным производным триптамина присоединяли Вос-защищенный L-орнитин по карбодиимидному методу. Продукты выделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле. Для получения соединений **6a,b** со свободными аминогруппами на **5a,b** действовали раствором TFA в хлористом метиле (соотношение объемов 1 : 1) с последующей обработкой 5% раствором  $\text{NaHCO}_3$ .

Присоединение остатков Вос-защищенных глицина,  $\beta$ -аланина и ГАМК к **6a,b** проводили в присутствии DCC и DMAP. Защитные группы удаляли стандартным способом с получением трифторацетатных солей **9a-f**. Структура целевых и промежуточных соединений подтверждалась данными  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. В ЯМР-спектрах присутствовали сигналы протонов, характерные для алифатических радикалов в гидрофобном блоке, ароматических колец остатка триптамина и углеводородного скелета аминокислот.

Для получения производных L-орнитина с симметричным липофильным фрагментом из двух алкильных цепей использовалась схема 2.

Соединение **11** получали аналогично **5a,b** из Вос-защищенного L-орнитина **4** и диоксиламина **10** по карбодиимидному методу. Продукт реакции выделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле. К свободным аминогруппам производного L-орнитина **12** присоединяли алифатические аминокислоты с последующим удалением Вос-защитных группировок. Структуру полученных соединений подтверждали данными масс-спектрометрии методом MALDI. В масс-спектрах соединений **14a-c** присутствовали пики молекулярных ионов.

Для синтезированных соединений определена анти-микробная активность по отношению к грамположительным *B. subtilis* и грамотрицательным *E. coli* штаммам бактерий. Значения МИК фиксировались с помощью метода серийных микроразбавлений в питательной среде (табл.).



**Схема 2.** Синтез амфифилов с диалкильным фрагментом

**Scheme 2.** Synthesis of amphiphiles with dialkyl moiety

**Таблица.** Минимальная ингибирующая концентрация соединений **9a–f**, **14a–c** в отношении грамотрицательных бактерий *E. coli* и грамположительных бактерий *B. subtilis*

**Table.** Minimum inhibitory concentration (MIC) of compounds **9a–f**, **14a–c** against gram-negative bacteria *E. coli* and gram-positive bacteria *B. subtilis*

| Структуры<br>Structures | Шифр<br>образца<br>Sample<br>code | –R    | МИК, мкг/мл<br>MIC, µg/mL |                        |
|-------------------------|-----------------------------------|-------|---------------------------|------------------------|
|                         |                                   |       | <i>E. coli</i> M17        | <i>B. subtilis</i> 534 |
|                         | <b>9a</b>                         | Gly   | 3.12                      | 6.25                   |
|                         | <b>9b</b>                         | β-Ala | 3.12                      | 1.56                   |
|                         | <b>9c</b>                         | ГМК   | 1.56                      | 1.56                   |
|                         | <b>9d</b>                         | Gly   | 6.25                      | 3.12                   |
|                         | <b>9e</b>                         | β-Ala | 3.12                      | 0.39                   |
|                         | <b>9f</b>                         | ГМК   | 1.56                      | 0.39                   |
|                         | <b>14a</b>                        | Gly   | 6.25                      | 6.25                   |
|                         | <b>14b</b>                        | β-Ala | 6.25                      | 1.56                   |
|                         | <b>14c</b>                        | ГМК   | 3.12                      | 0.78                   |

Наиболее активными оказались липоаминокислоты с терминальными остатками ГАМК и несимметричным неполярным блоком (триптамил–додециламин). Значения МИК составили 0.39 мкг/мл в отношении грамположительных бактерий и 1.56 мкг/мл для грамотрицательных бактерий. Производное ГАМК с симметричным липофильным фрагментом на основе диоксиламина продемонстрировало активность с МИК 0.78 мкг/мл в отношении *B. subtilis* и 3.12 мкг/мл в отношении *E. coli*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проделанной работы осуществлен синтез девяти новых липоаминокислотных бивалентных катионных амфифилов на основе L-орнитина. Структура полученных соединений подтверждена данными  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Показана высокая антибактериальная активность синтезированных соединений. Выявлены соединения-лидеры с низкими показателями значения МИК как по отношению к грамположительным, так и по отношению к грамотрицательным штаммам бактерий. Показано влияние степени липофильности в асимметричном неполярном блоке на уровень проявляемой антимикробной активности.

## Благодарности

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования РТУ МИРЭА при

поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Соглашения № 075-15-2021-689 от 01.09.2021 г.

## Acknowledgments

This work was performed using the equipment of the Shared Science and Training Center for Collective Use at the RTU MIREA and supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of agreement No. 075-15-2021-689 dated September 01, 2021.

## Вклад авторов

**Т.Г. Бодрова** — проведение исследований, сбор и предоставление материала.

**У.А. Буданова** — проведение отдельных этапов исследования, написание статьи.

**Ю.Л. Себякин** — разработка концепции научной работы, обзор литературы, научное редактирование статьи.

## Authors' contributions

**T.G. Bodrova** — conducting research, collecting and providing material.

**U.A. Budanova** — carrying out individual stages of the study, writing the text of the article.

**Yu.L. Sebyakin** — development of the concept of scientific work, literature review, scientific editing of the article.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Francine P. Systems Biology: New Insight into Antibiotic Resistance. *Microorganisms*. 2022;10(12):2362. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122362>
2. Van Duin D., Paterson D.L. Multidrug-Resistant Bacteria in the Community: An Update. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2020;34(4):709–722. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2020.08.002>
3. Mayegowda S.B., Ng M., Alghamdi S., Atwah B., Alhindi Z., Islam F. Role of Antimicrobial Drug in the Development of Potential Therapeutics. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2022;2022:2500613. <https://doi.org/10.1155/2022/2500613>
4. Bakka T.A., Strøm M.B., Andersen J.H., Gautun O.R. Synthesis and antimicrobial evaluation of cationic low molecular weight amphipathic 1, 2, 3-triazoles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2017;27(5):1119–1123. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.01.092>
5. Taubes G. The bacteria fight back. *Science*. 2008;321(5887):356–361. <https://doi.org/10.1126/science.321.5887.356>
6. Bortolotti A., Troiano C., Bobone S., Konai M.M., Ghosh C., Bocchinfuso G., Acharya Y., Santucci V., Bonacorsi S., Di Stefano C., Haldar J., Stella L. Mechanism of lipid bilayer perturbation by bactericidal membrane-active small molecules. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2023;1865(1):184079. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2022.184079>
7. Kristiansson E., Fick J., Janzon A., Grabic R., Rutgerström C., Weijdegård B., Söderström H., Larsson D.G. Pyrosequencing of antibiotic-contaminated river sediments reveals high levels of resistance and gene transfer elements. *PLoS One*. 2011;6(2):e17038. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017038>
8. Guo Y., Hou E., Wen T., Yan X., Han M., Bai L.P., Fu X., Liu J., Qin S. Development of Membrane-Active Honokiol/Magnolol Amphiphiles as Potent Antibacterial Agents against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Med. Chem.* 2021;64(17):12903–12916. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01073>
9. Schweizer L., Ramirez D., Schweizer F. Effects of Lysine N- $\zeta$ -Methylation in Ultrashort Tetrabasic Lipopeptides (UTBLPs) on the Potentiation of Rifampicin, Novobiocin, and Niclosamide in Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics*. 2022;11(3):335. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030335>
10. Neubauer D., Jaśkiewicz M., Bauer M., Gołacki K., Kamysz W. Ultrashort Cationic Lipopeptides-Effect of N-Terminal Amino Acid and Fatty Acid Type on Antimicrobial Activity and Hemolysis. *Molecules*. 2020;25(2):257. <https://doi.org/10.3390/molecules25020257>

11. Dawgul M.A., Greber K.E., Bartoszewska S., Baranska-Rybak W., Sawicki W., Kamysz W. *In Vitro* Evaluation of Cytotoxicity and Permeation Study on Lysine- and Arginine-Based Lipopeptides with Proven Antimicrobial Activity. *Molecules*. 2017;22(12):2173. <https://doi.org/10.3390/molecules22122173>
12. Wang M., Feng X., Gao R., Sang P., Pan X., Wei L., Lu C., Wu C., Cai J. Modular Design of Membrane-Active Antibiotics: From Macromolecular Antimicrobials to Small Scorpionlike Peptidomimetics. *J. Med. Chem.* 2021;64(14):9894–9905. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00312>
13. Rehberg N., Sommer G.A., Drießen D., Kruppa M., Adeniyi E.T., Chen S., Wang L., Wolf K., Tasch B.O.A., Ioerger T.R., Zhu K., Müller T.J.J., Kalscheuer R. Nature-Inspired (di)Azine-Bridged Bisindole Alkaloids with Potent Antibacterial *in Vitro* and *in Vivo* Efficacy against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Chem.* 2020;63(21):12623–12641. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00826>
14. Yu H.F., Qin X.J., Ding C.F., Wei X., Yang J., Luo J.R., Liu L., Khan A., Zhang L.C., Xia C.F., Luo X.D. Nepenthe-Like Indole Alkaloids with Antimicrobial Activity from *Ervatamia chinensis*. *Org. Lett.* 2018;20(13):4116–4120. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b01675>
15. Liu J., Li H., He Q., Chen K., Chen Y., Zhong R., Li H., Fang S., Liu S., Lin S. Design, synthesis, and biological evaluation of tetrahydroquinoline amphiphiles as membrane-targeting antimicrobials against pathogenic bacteria and fungi. *Eur. J. Med. Chem.* 2022;243:114734. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114734>
16. Lawrence C.L., Okoh A.O., Vishwapathi V., McKenna S.T., Critchley M.E., Smith R.B. *N*-alkylated linear heptamethine polyenes as potent non-azole leads against *Candida albicans* fungal infections. *Bioorg. Chem.* 2020;102:104070. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104070>
17. Whitby L.R., Boyle K.E., Cai L., Yu X., Gochin M., Boger D.L. Discovery of HIV fusion inhibitors targeting gp41 using a comprehensive  $\alpha$ -helix mimetic library. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012;22(8):2861–2865. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.02.062>
18. Lee W.G., Gallardo-Macias R., Frey K.M., Spasov K.A., Bollini M., Anderson K.S., Jorgensen W.L. Picomolar inhibitors of HIV reverse transcriptase featuring bicyclic replacement of a cyanovinylphenyl group. *J. Am. Chem. Soc.* 2013;135(44):16705–16713. <https://doi.org/10.1021/ja408917n>
19. Pape V.F., Tóth S., Füredi A., Szebenyi K., Lovrics A., Szabó P., Wiese M., Szakács G. Design, synthesis and biological evaluation of thiosemicarbazones, hydrazinobenzothiazoles and arylhydrazones as anticancer agents with a potential to overcome multidrug resistance. *Eur. J. Med. Chem.* 2016;117:335–354. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.078>
20. Özdemir A., Altıntop M.D., Turan-Zitouni G., Çiftçi G.A., Ertorun İ., Alataş Ö., Kaplancikli Z.A. Synthesis and evaluation of new indole-based chalcones as potential antiinflammatory agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2015;89:304–309. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.10.056>
21. Короткин М.Д., Филатова С.М., Дениева З.Г., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. Синтез производных аминокислот на основе диэтанолamina с симметричными и асимметричными радикалами в гидрофобном домене с потенциальной антимикробной активностью. *Тонкие химические технологии*. 2022;17(1):50–64. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-1-50-64>
22. Гусева М.К., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. Синтез и оценка антимикробной активности катионных амфифилов на основе бивалентных производных диэтиленetriamina. *Хим.-фарм. журн.* 2022;56(12):30–35. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-12-38-43>
- [Guseva M.K., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. Synthesis and evaluation of the antimicrobial activity of cationic amphiphiles based on bivalent diethylenetriamine derivatives. *Pharm. Chem. J.* 2023;56(12):1607–1612. <https://doi.org/10.1007/s11094-023-02834-z>]
- [Original Russian Text: Guseva M.K., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. Synthesis and evaluation of the antimicrobial activity of cationic amphiphiles based on bivalent diethylenetriamine derivatives. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2023;56(12):38–43 (in Russ.). <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-12-38-43>]

## Об авторах

**Бодрова Татьяна Геннадьевна**, магистрант, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: [btatg2014@yandex.ru](mailto:btatg2014@yandex.ru)

**Буданова Ульяна Александровна**, к.х.н., доцент кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: [c-221@yandex.ru](mailto:c-221@yandex.ru). Scopus Author ID 14622352500, ResearcherID E-1659-2014, SPIN-код РИНЦ 3901-8710, <https://orcid.org/0000-0003-1702-9435>

**Себякин Юрий Львович**, д.х.н., профессор кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: [c-221@yandex.ru](mailto:c-221@yandex.ru). Scopus Author ID 6701455145, ResearcherID T-2835-2019, SPIN-код РИНЦ 3491-3514, <https://orcid.org/0000-0002-7027-378X>

### About the authors

**Tatyana G. Bodrova**, Master Student, Medicinal and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: btatg2014@yandex.ru

**Ulyana A. Budanova**, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, N.A. Preobrazhensky Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medical and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: c-221@yandex.ru. Scopus Author ID 14622352500, ResearcherID E-1659-2014, RSCI SPIN-code 3901-8710, <https://orcid.org/0000-0003-1702-9435>

**Yury L. Sebyakin**, Dr. Sci. (Chem.), Professor, N.A. Preobrazhensky Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medical and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: c-221@yandex.ru. Scopus Author ID 6701455145, ResearcherID T-2835-2019, RSCI SPIN-code 3491-3514, <https://orcid.org/0000-0002-7027-378X>

Химия и технология лекарственных препаратов  
и биологически активных соединений  
Chemistry and technology of medicinal compounds  
and biologically active substances

УДК 615.281.8, 544.165, 615.275.4

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-214-231>

EDN FUJWGT



ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

## Технология PROTAC® и перспективы ее применения в борьбе с инфекциями

М.А. Захарова✉, М.В. Чудинов

МИРЭА — Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова),  
Москва, 119571 Россия

✉ Автор для переписки, e-mail: [matildafox@mail.ru](mailto:matildafox@mail.ru)

### Аннотация

**Цели.** Описать фармацевтическую технологию направленной деградации белковых молекул (PROTAC®, PROteolysis TArgeting Chimera), подходы к конструированию молекулы PROTAC®, методы подбора и синтеза лигандов и линкера, а также применение данной технологии в борьбе с различными заболеваниями и возможные ограничения ее использования.

**Результаты.** Обзор охватывает 77 источников, в основном за 2020–2023 гг. В обзоре изложен принцип технологии PROTAC®, который заключается в конструировании химерной молекулы, состоящей из трех фрагментов. Один фрагмент специфически связывается с биомшенью, другой рекрутирует протеолитическую систему клетки-хозяина, а третий связывает их между собой. Описаны направления современного развития технологии, а также возможности и ограничения химерных молекул в борьбе с разными типами инфекционных заболеваний.

**Выводы.** Показаны перспективы использования технологии PROTAC® в борьбе с онкологическими, нейродегенеративными, аутоиммунными и инфекционными заболеваниями.

### Ключевые слова

PROTAC, убиквитин-протеасомная система, лигазы E3, молекулярный дизайн, противовирусные препараты

**Поступила:** 30.08.2023

**Доработана:** 03.11.2023

**Принята в печать:** 11.04.2024

### Для цитирования

Захарова М.А., Чудинов М.В. Технология PROTAC® и перспективы ее применения в борьбе с инфекциями. *Тонкие химические технологии.* 2024;19(3):214–231. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-214-231>

REVIEW ARTICLE

# PROTAC® technology and potential for its application in infection control

Maria A. Zakharova✉, Mikhail V. Chudinov

MIREA — Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, 119571 Russia

✉ Corresponding author; e-mail: matildafox@mail.ru

## Abstract

**Objectives.** To describe the pharmaceutical technology of controlled degradation of protein molecules (PROTAC®, Proteolysis Targeting Chimera), approaches to the design of the PROTAC® molecule, methods of ligand and linker selection and synthesis, as well as the application of this technology in dealing with a variety of diseases and the possible limitations of its use.

**Results.** The review covers 77 sources, mostly from 2020–2023. The review outlines the principle of PROTAC® technology: the construction of a chimeric molecule consisting of three fragments. One fragment specifically binds to the biotarget, another recruits the proteolytic system of the host cell, and the third binds them together. The main areas of the current development of the technology are described herein, as well as the opportunities and limitations of chimeric molecules in the fight against different types of infectious diseases.

**Conclusion.** The potential to use PROTAC® technology to combat cancer as well as neurodegenerative, autoimmune, and infectious diseases is shown.

## Keywords

PROTAC, ubiquitin-proteasome system, E3 ligases, molecular design, antiviral drugs

Submitted: 30.08.2023

Revised: 03.11.2023

Accepted: 11.04.2024

## For citation

Zakharova M.A., Chudinov M.V. PROTAC® technology and potential for its application in infection control. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2024;19(3):214–231. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-214-231>

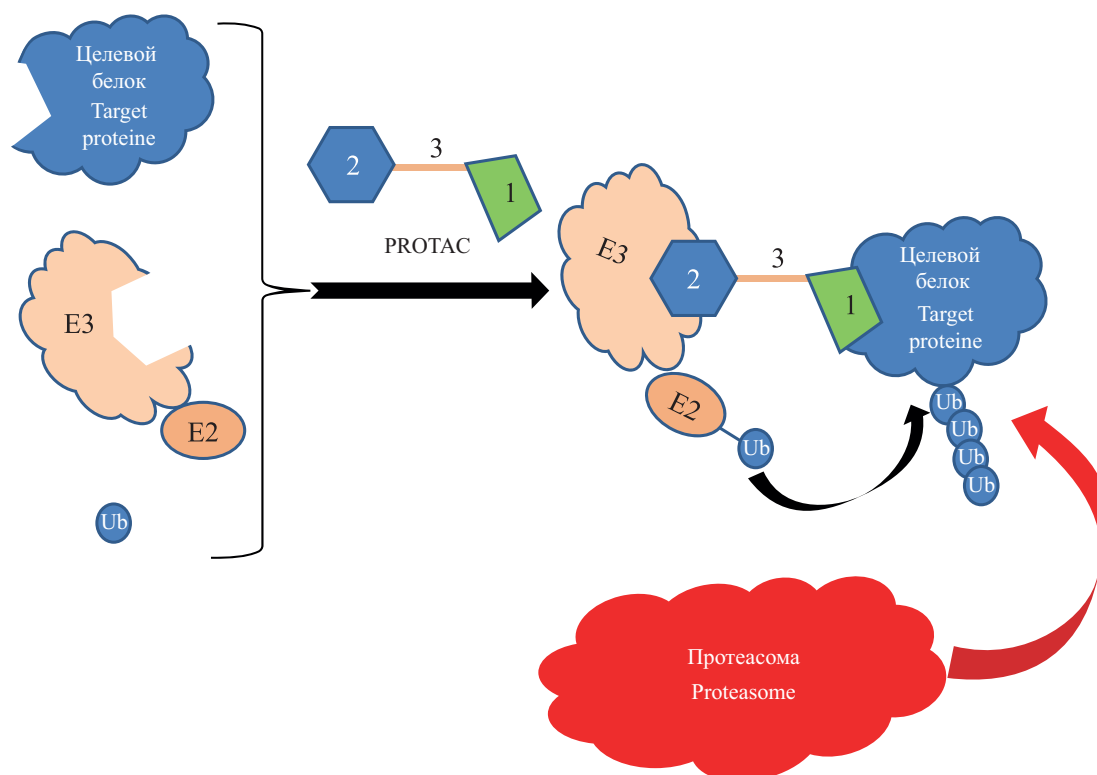
## ВВЕДЕНИЕ

Технология химерных молекул для направленной деградации белков (PROTAC®, PROteolysis TARgeting Chimeras) — одна из самых перспективных разработок в рациональном дизайне лекарственных препаратов. Концепция лекарств, основанных на направленной деградации избранных белков-мишеней, была предложена в 2001 г. [1], но активное развитие ее началось лишь несколько лет назад. В 2016 г. база данных PubMed<sup>1</sup> содержала ссылки лишь на 13 публикаций с ключевым словом «PROTAC», а в 2022 г. таких ссылок насчитывалось уже 479. Хотя на настоящий момент ни один лекарственный препарат, основанный на этой технологии, еще не получил одобрения FDA (U.S. Food and Drug Administration, Управление по санитарному надзору за качеством

пищевых продуктов и медикаментов США), на различных стадиях клинических испытаний находится не менее 15 таких препаратов, в основном, противоопухолевых. Теоретический механизм действия молекулы PROTAC® схематически представлен на рис. 1. Целевая молекула строится из 3 блоков: блок 1 отвечает за связывание с белком-мишенью, блок 2 — за взаимодействие с ферментом убиквитинлигазой E3 (EC 2.3.2.27)<sup>2</sup>, а блок 3 связывает их между собой. Молекула PROTAC® связывается первым фрагментом-лигандом с целевым белком-мишенью, а второй фрагмент взаимодействует с лигазой E3. Таким образом, белковые молекулы оказываются физически сближены. Основная функция лигаз E3 — запуск механизма мечения различных белков пептидным фрагментом — убиквитином. Этот механизм опосредован еще одним ферментом — лигазой E2 — и служит в клетке

<sup>1</sup> <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>. Дата обращения 26.02.2024. / Accessed February 26, 2024.

<sup>2</sup> <https://www.brenda-enzymes.org/>. Дата обращения 26.02.2024. / Accessed February 26, 2024.



**Рис. 1.** PROTAC-индуцированная деградация целевого белка убиквитин-протеасомной системой (Ub — убиквитин)

**Fig. 1.** PROTAC-induced degradation of the target protein by the ubiquitin-proteasome system (Ub — ubiquitin)

для разрушения «ненужных» белковых молекул специальным протеасомным ферментным комплексом [2]. В результате действия молекулы PROTAC® молекула целевого белка оказывается помечена полиубиквитиновой цепочкой и подвергается атаке протеасомы, в результате которой разрушается.

Очевидным полем для применения технологии служит борьба с онкологическими заболеваниями. Селективное направленное разрушение компонентов опухолевых клеток — это главное направление химиотерапии рака, а технология PROTAC® позволяет атаковать такие мишени, которые недоступны обычным препаратам — суицидным ингибиторам. Технология может использоваться в борьбе с нейродегенеративными заболеваниями, например, при болезни Альцгеймера, аутоиммунными болезнями и во всех областях, где используются специфически нацеливаемые препараты, например, моноклональные антитела. Здесь проявляется несомненное достоинство PROTAC® — относительная простота и дешевизна действующей субстанции, построенной из малых молекул, получаемых обычным химическим синтезом.

Достоинствам и перспективам технологии посвящено немало обзорных работ, вышедших в последние годы [3–10]. Однако простота идеи скрывает немало сложностей в ее воплощении. Этот обзор

посвящен достижениям и проблемам в конструировании химерных молекул, предназначенных для селективной деградации белков-мишеней, а также перспективам применения технологии PROTAC® в борьбе с инфекционными агентами.

## Конструирование молекулы PROTAC®

Молекула PROTAC® состоит из трех структурных компонентов. Каждый из них выбирается в соответствии со строением биомишени, что в свою очередь определяет фармакодинамические и фармакокинетические свойства химеры. Алгоритм конструирования следующий: чаще всего выбирают хорошо изученные лиганды с доказанной аффинностью к мишени. В структуре лиганда определяется точка модификации, предпочтительно на периферии, там, где не будет затронут фармакофор, и в этой точке к ней присоединяется линкерная группа. Для полученного полупродукта проверяют связывание с мишенью и в случае успеха на другой конец линкера присоединяют лиганд к лигазе E3, выбранный из набора известных структур. Конструирование молекулы PROTAC® завершено, но ее работоспособность будет зависеть от множества нюансов в выборе всех трех компонентов.

## Выбор лигандов к лигазе E3

Количество убиквитин-переносящих лигаз в организме человека превышает 600 [2], но лишь немногие из них имеют низкомолекулярные лиганды и пригодны для работы с молекулой PROTAC®. Лигаза E3 — фермент, выполняющий функцию присоединения убиквитина к произвольному белку, и в этом смысле различий между разными типами лигаз почти нет. Однако некоторые из них имеют своеобразную «кнопку включения» — сайт связывания низкомолекулярного лиганда. Взаимодействие с этим лигандом активирует фермент. Фактически из всего возможного разнообразия на практике обычно используют 3 лигазы — CRBN (cereblon), VHL (сокр. от нем. Von Hippel–Lindau) и cIAP (cellular inhibitor of apoptosis). На них приходится более 95% описанных активных химер PROTAC®, и более

половины — на CRBN [6]. Известные синтетические лиганды к трем этим белкам приведены на рис. 2.

Лиганды CRBN — это талидомид **1** и его производные **2–5**; их связывание с CRBN отвечает за противоопухолевую активность этих соединений [12]. Лиганды других используемых ферментов — псевдопептидные молекулы, содержащие неприродные аминокислоты. Сравнение структур лигандов объясняет причины популярности CRBN: простота, синтетическая доступность и активность в рацемической форме. Есть и еще одна причина этого выбора — активность молекул PROTAC®, нацеленных на один и тот же белок, но сконструированных под разные лигазы, различна [3]. На CRBN построены самые эффективные химеры. Однако выбор лигазы должен определяться в первую очередь биомиссией, т.к. в разных органах и тканях протеом имеет существенные различия [13, 14].

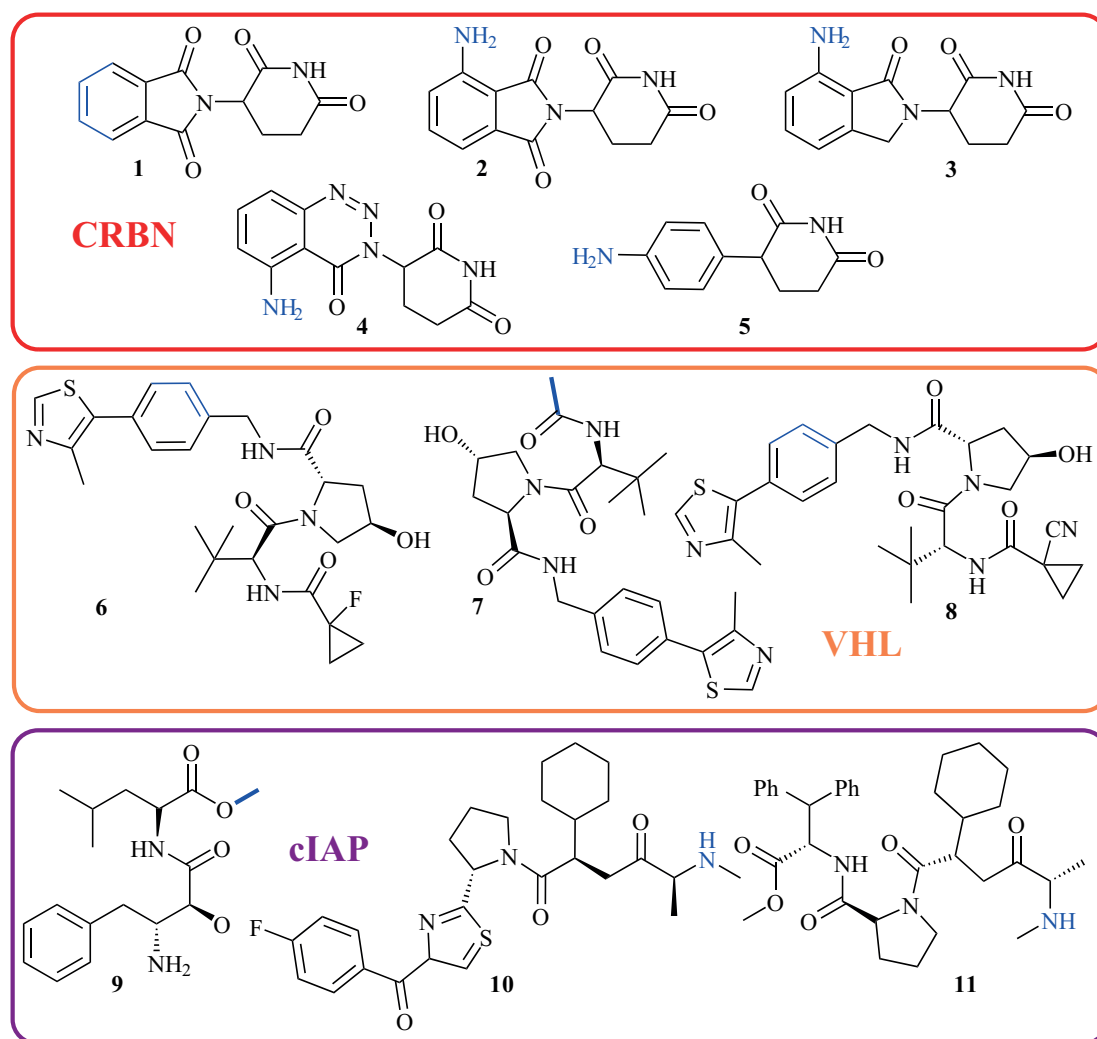


Рис. 2. Лиганды лигаз E3. Синим отмечены возможные точки модификации [11]

Fig. 2. Ligands of ligases E3. Possible modification points are marked in blue [11]

## Синтез лигандов к CRBN

По данным обзора [11], частота применения лигандов к CRBN в успешных молекулах PROTAC® различается в зависимости от точки присоединения и типа линкера (рис. 3).

Самые распространенные лиганды **15–17** основаны на структуре помалидомида **2**, методы их синтеза представлены на схеме 1. Из наиболее доступного Вос-*L*-глутамин в присутствии конденсирующего агента (обычно карбонилдиимидзола) получают циклическое производное **12**, которое после удаления защитной группы ацилируют 3-замещенным фталевым ангидридом. К полученным производным **14** присоединяют линкерные группы либо прямым замещением фтора на амин **15**, либо сначала восстанавливают нитрогруппу соединения **14b** до амина и получают помалидомид **2**, который ацилируют или алкилируют по аминогруппе. Аналогично из 3-гидроксифталевого ангидрида получают 4-гидрокситалидомид **14c**, который алкилируют по фенольному гидроксилу для синтеза лигандов типа **18**. Лиганды типов **19–20**, в которых линкер

присоединен через углеродную цепочку, получают Pd-катализируемым кросс-сочетанием с терминальными ацетиленами. Есть немало альтернативных путей к этим структурам, но практически все они основаны на конденсации замещенного фталевого ангидрида с глутамином, глутаминовой кислотой или циклическим 3-аминопиперидин-2,6-дионом **13**. Различия определяются, главным образом, удобством присоединения линкерной цепочки и общим выходом синтетической схемы.

Сходным образом получают производные, замещенные по 4 положению фенильного кольца фталевого ангидрида. Более подробно ознакомиться с методами синтеза лигандов E3 можно в обзорной статье Bricelj *et al.* [11].

## Выбор линкерной группы и сборка молекулы PROTAC®

Эффективность действия химерной молекулы зависит не только от аффинности лигандов к целевому белку и лигазе E3, но и от правильного подбора связывающей их линкерной группы. Ряд

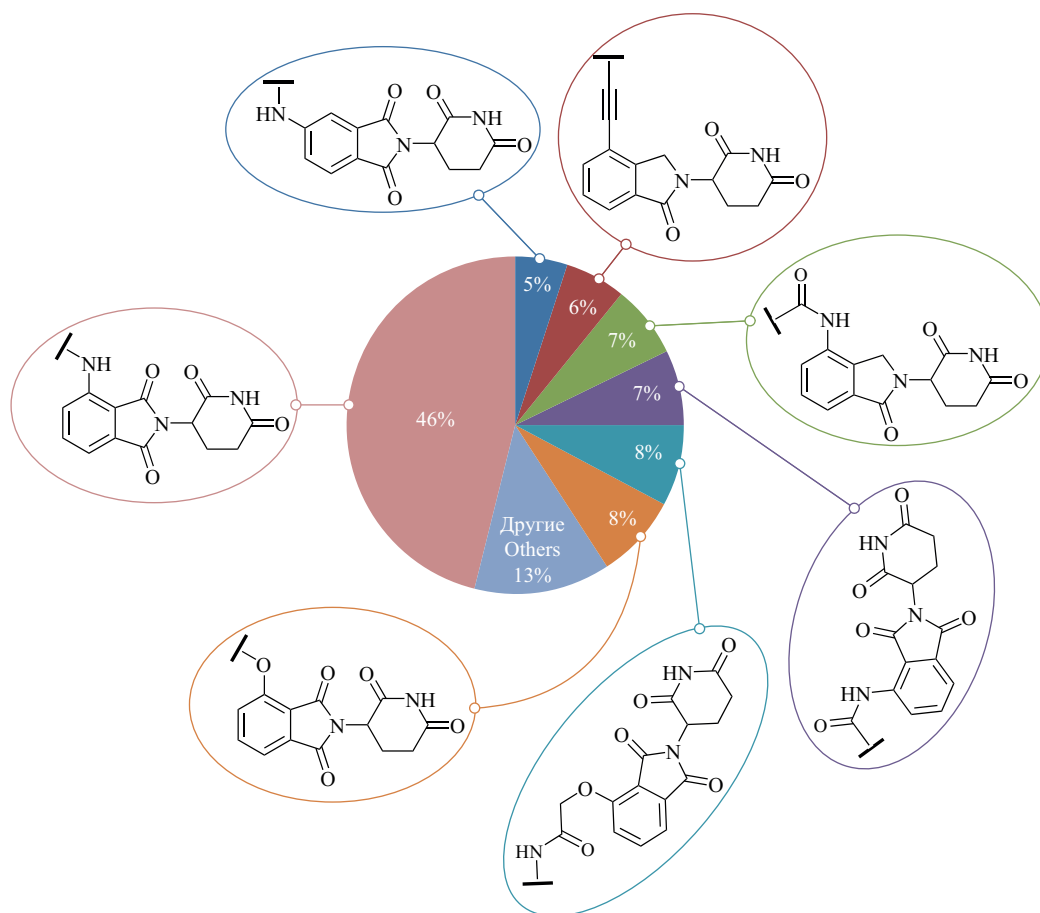
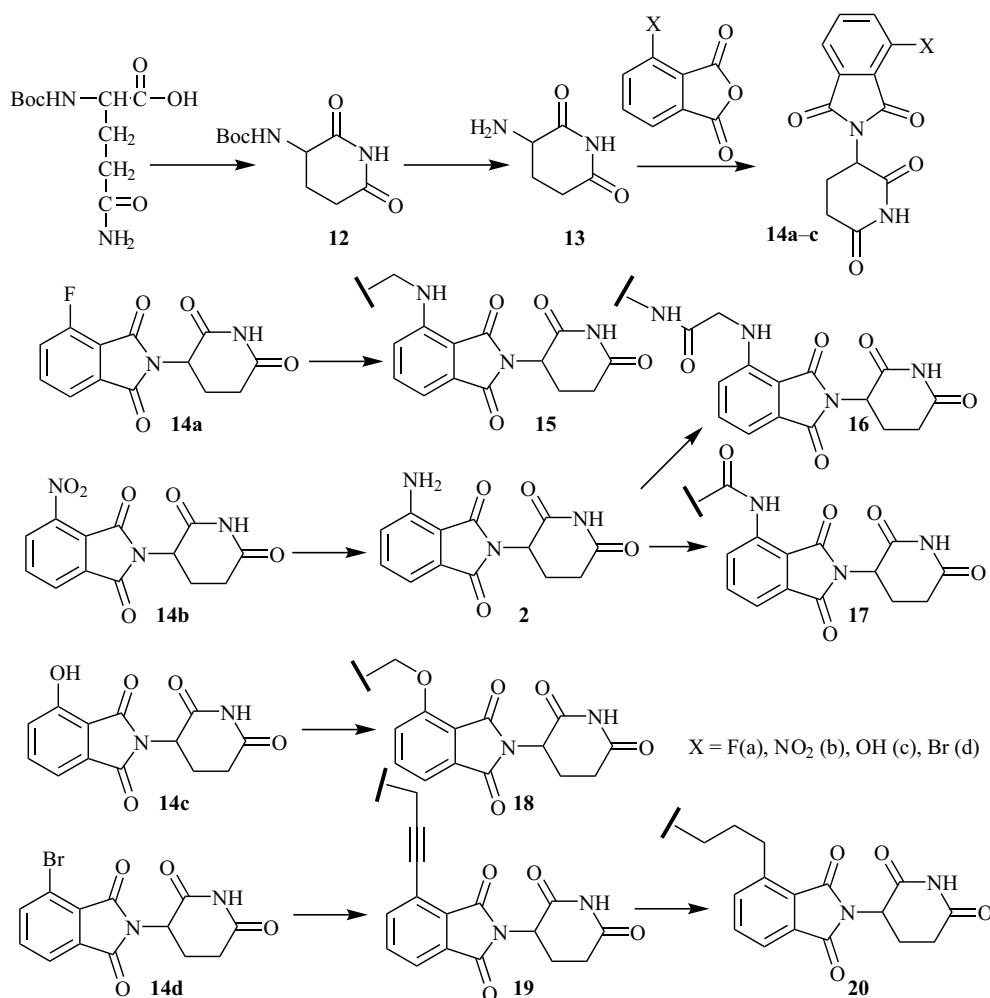


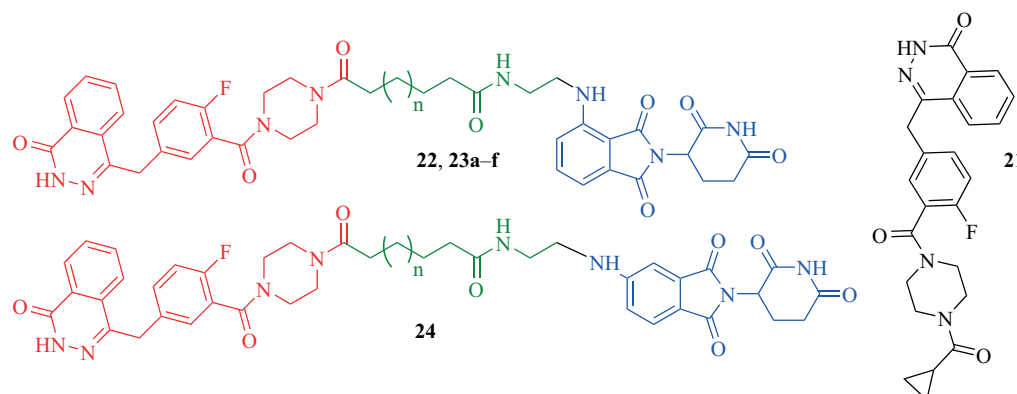
Рис. 3. Структуры синтетических лигандов к CRBN в успешных молекулах PROTAC® [11]

Fig. 3. Structures of synthetic ligands to CRBN in successful PROTAC® [11]

**Схема 1.** Синтез лигандов CRBN на основе 3-замещенного фталевого ангидрида**Scheme 1.** Synthesis of CRBN ligands based on 3-substituted phthalic anhydride

исследований [15, 16] показал, что длина, гибкость и структурные особенности линкерной группы играют критическую роль для образования троичного комплекса «целевой белок–PROTAC®–лигаза ЕЗ». Чаще всего в роли исходного линкера выбирают простые и относительно короткие углеводородные цепочки или полиэтиленгликоли, которые в процессе оптимизации структуры постепенно видоизменяют. Точка присоединения линкера к лигандам и ориентация линкерной цепочки должны быть подобраны так, чтобы не снижать аффинность лигандов. Чаще всего подбор осуществляют методами рационального дизайна, исходя из установленной структуры сайта связывания. Основные правила подбора точки присоединения таковы: (1) молекулярный фрагмент лиганда нельзя сильно изменять, чтобы не утратить аффинность; (2) линкер должен входить в активный центр со стороны, доступной для сольватации [6]. Пример влияния линкера на активность химерной молекулы показан

в работе Cao *et al.* [17] (рис. 4). Химерная молекула SK-575 **22** была разработана для деградации ядерного белка PARP1 (поли(ADP-рибоза)полимераза) — валидированной онкомишени — и базировалась на структуре ингибитора **21** (Olaparib). Она показала эффективную деградацию белка-мишени (>99%) при концентрации 100 нМ в модельной клеточной системе, однако ее гомологи имели меньшую активность. Сопоставимой активностью обладали гомологи **23с–е**, у которых длина спейсерной цепочки отличалась на 1–2 атома. Более короткие или более длинные линкеры заметно снижали активность химеры. Изомер **24** при той же концентрации разрушал лишь 77% целевого белка. Предположительно, точка присоединения линкера влияет на стабильность троичного комплекса. В большей степени на эффективность деградации белка-мишени оказывает влияние тип линкера. Аналоги соединения **22** с полиэтиленгликольными линкерами были в 3–5 раз менее активны (таблица).



**Рис. 4.** Структуры молекул PROTAC® для деградации PARP1 (синий фрагмент — лиганд CRBN, красный — лиганд к PARP1, зеленый — спейсерная группа) [17] и исходного ингибитора

**Fig. 4.** Structures of PROTACs® for degradation of poly(ADP-ribose)polymerase (PARP1) (blue is the CRBN ligand, red is the ligand to PARP1, green is the spacer group) [17] and the initial inhibitor

**Таблица.** Значение  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) в зависимости от длины линкера

**Table.**  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) value depending on linker length

| Соединение<br>Compound | <b>22</b><br>$n = 7$                  | <b>23a</b><br>$n = 1$ | <b>23b</b><br>$n = 3$ | <b>23c</b><br>$n = 5$ | <b>23d</b><br>$n = 6$ | <b>23e</b><br>$n = 8$ | <b>23e</b><br>$n = 9$ | <b>24</b><br>$n = 7$ |
|------------------------|---------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| $IC_{50}$ , $\mu M$    | <b><math>0.019 \pm 0.006^*</math></b> | $>10$                 | $0.83 \pm 0.26$       | $0.123 \pm 0.071$     | $0.029 \pm 0.008$     | $0.021 \pm 0.003$     | $0.025 \pm 0.004$     | $0.035 \pm 0.015$    |

Примечание:  $n$  — количество углеродных групп в цепи.  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) — концентрация полумаксимального ингибирования.

\* Показатели говорят о высокой эффективности соединения **22**.

Note:  $n$  is the number of carbon groups in the chain.  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) is concentration of half-maximal inhibition.

\* Parameters show the high efficiency of compound **22**.

Стоит отметить, что степень деградации целевого белка зависит от множества факторов, и аффинность к целевому белку не является прямым показателем эффективности молекулы PROTAC®. Для работы молекулы PROTAC® аффинность необходима, но высокая константа связывания с целевым белком не гарантирует ее эффективность.

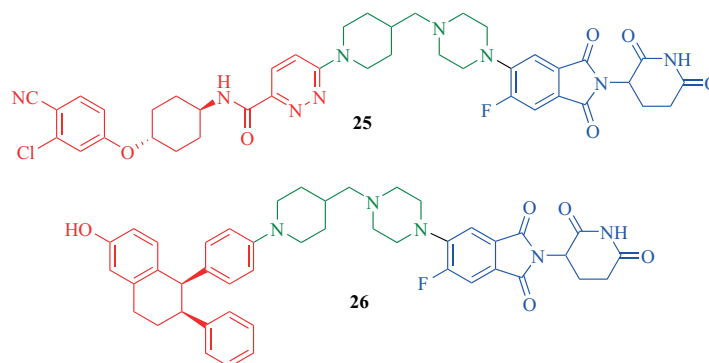
Последовательность работ по конструированию молекул PROTAC®, описывающая экспериментальные приемы и применяемые тестовые системы, представлена в форме протокола в работе [18]. Принципы дизайна молекул PROTAC®, ориентированных на различные мишени, подробно обсуждаются в работах [19, 20]. Разработка и сборка конечной молекулы в большинстве работ описана в пошаговой последовательности (синтез лигандов — выбор спейсера — сборка химеры — изучение активности), но быстрый синтез больших библиотек целевых молекул для высокоэффективного скрининга и оптимизации может стать одним из направлений развития технологии. Примеры технологических платформ для высокоэффективного синтеза библиотек молекул PROTAC® приведены в работах [21–23].

## ВЫБОР МИШЕНИ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИИ

Выбор целевого белка является главным в конструировании молекулы PROTAC®, он определяется поставленной задачей терапии. Сама концепция направленного разрушения белка выглядит наиболее подходящей для борьбы с онкологическими заболеваниями [24–26]. Действительно, первые молекулы PROTAC®, прошедшие клинические испытания I и II фазы, направлены на андрогеновые (ARV-110, **25**) [27, 28] и эстрогеновые (ARV-471, **26**) [29] рецепторы и предназначены для борьбы с раком простаты и раком молочной железы соответственно (рис. 5).

Важным достоинством технологии PROTAC® в сравнении с традиционными лекарственными препаратами является то, что для связывания химеры может использоваться не только активный сайт белка-мишени, но и любой его фрагмент. Таким образом, спектр биомишеней расширяется за счет множества ранее недоступных для терапии целей.

Ориентация на хорошо изученные мишени объединяет все удачные примеры разработки химерных молекул — разрушителей белков. Мишенями для



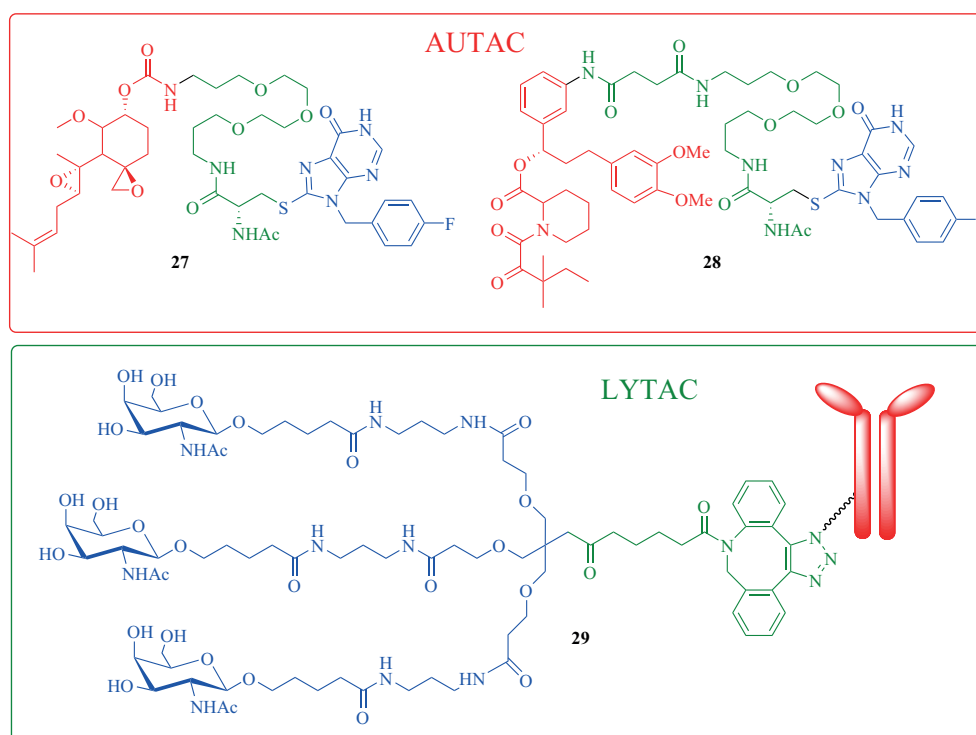
**Рис. 5.** Первые клинически успешные примеры применения технологии PROTAC® (синий фрагмент — лиганд CRBN, красный — лиганд к целевому рецептору, зеленый — спейсерная группа)

**Fig. 5.** The first clinically successful examples of PROTAC® technology application (blue is the CRBN ligand, red is the ligand to the target receptor, green is the spacer group)

молекул PROTAC® служат рецепторы [27, 29, 30], протеинкиназы [31], бромодомен-содержащие белки и белки-трансдукторы [3], а также множество других протеинов.

Как все успешные инновации, технология PROTAC® породила целый спектр новых направлений, объединенных идеей использования собственных механизмов клетки для атаки биомишени.

Первым таким направлением стало использование альтернативных путей деградации целевых белков, не опосредованных убиквитин-протеасомной системой. Аутофагия — еще один из способов избавления клеток от ненужных компонентов [32]. Takahashi *et al.* [33] показали, что возможно сконструировать молекулы **27–28**, названные ими AUTAC (аутофаг-нацеленная химера) (рис. 6),

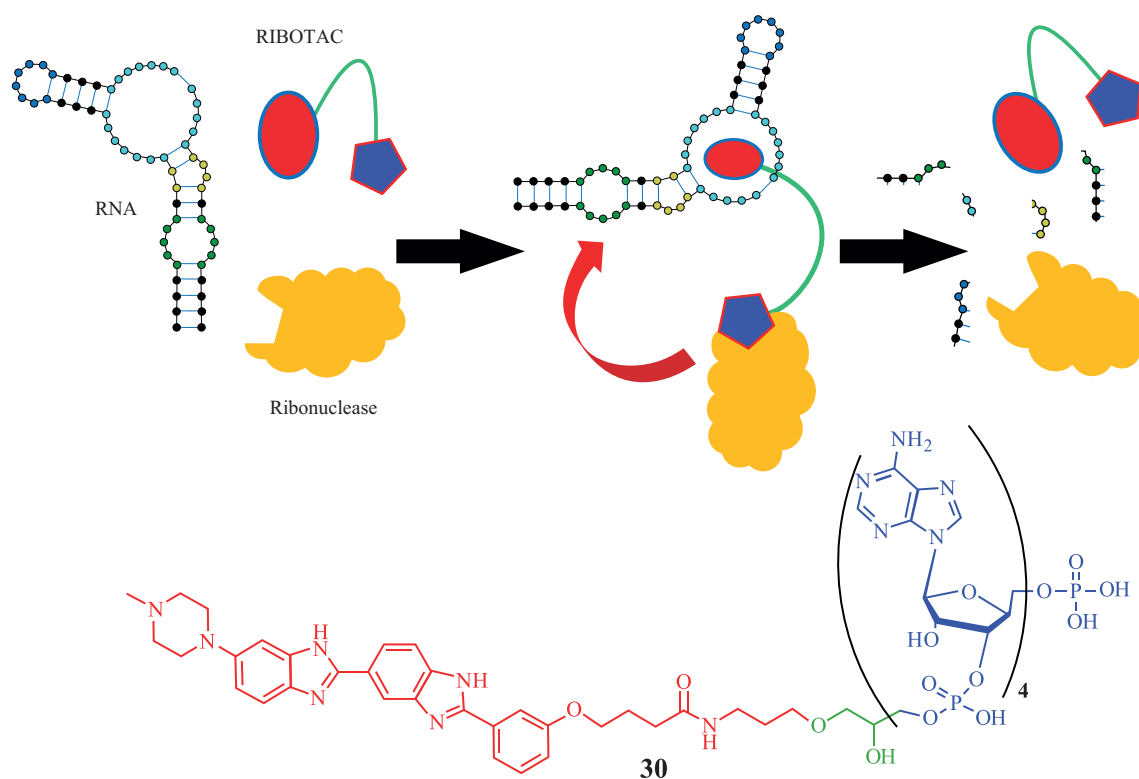


**Рис. 6.** Структуры AUTAC **27–28** (синий фрагмент — гуанилатный маркер, красный — лиганд к целевому рецептору, зеленый — спейсерная группа) [33] и LYTAC **29** (синий — лиганд ASGPR, красный — антитело к целевому белку, зеленый — спейсерная группа) [39]

**Fig. 6.** The structures of autophagy-targeted chimera (AUTAC) **27–28** (blue is a guanylate marker, red is a ligand to the target receptor, green is a spacer group) [33] and lysosome-targeted chimera (LYTAC) **29** (blue is an ASGPR ligand, red is an antibody to the target protein, green is a spacer group) [39]

которые используют механизм аутофагии для направленного разрушения целевого белка. Как и молекула PROTAC®, такая химера действует внутри клетки. AUTAC связывает «боеголовку» для целевого белка с производным гуанина, которое помечает белок для уничтожения путем аутофагии [34]. Направленный протеолиз может вызываться так называемыми белками теплового шока (HSP). Химеры, использующие связывание с белком HSP90 (HEMTAC), описаны в работе Li *et al.* [35]. Около 40% белков относятся к мембранным или внеклеточным, эти мишени недостижимы для протеасомной системы и не подвержены аутофагии. Многие из них играют важную роль в процессах канцерогенеза, возрастных и аутоиммунных заболеваниях [36]. Против внеклеточных белков может быть задействован лизосомальный путь деградации [37, 38]. Описан ряд структур, так называемых LYTAC (лизосома-нацеленная химера), в которых для транспорта внеклеточного белка-мишени в лизосому используют лиганды к специфическим белкам-переносчикам CI-M6PR [38] или ASGPR 29 [39, 40] (рис. 6). В роли лигандов к целевому белку использовали моноклональные антитела [39] или аптамеры [40, 41].

Альтернативой технологии PROTAC® является активно разрабатываемая технология RIBOTAC — химерные молекулы, нацеленные на разрушение РНК [42]. В этом случае изменяется не только способ деградации, но и тип биомишени. Когда мишенью выступает нуклеотидная последовательность, связывание с ней обычно обеспечивает либо антисмысловой олигонуклеотид, либо малая интерферирующая РНК (siRNA). Использовать лиганды такого типа для нацеливания химеры значит отказаться практически от всех преимуществ новой технологии — простоты и дешевизны синтеза, стабильности молекулы, возможности использовать энтеральные пути введения в организм. Поэтому в технологии RIBOTAC для нацеливания на мишень используют малые молекулы, селективно связывающиеся с РНК, особенно с теми РНК, которые образуют устойчивые вторичные и третичные структуры [43] (рис. 7). Разрушителем мишени выступает интерферон-зависимая рибонуклеаза L (EC 3.1.26) — фермент, участвующий в работе иммунной системы. Он активируется олигоаденилатным фрагментом, который в структуре RIBOTAC отвечает за связывание с рибонуклеазой. Поиски лигандов рибонуклеазы среди других малых молекул описаны в работе [45].



**Рис. 7.** RIBOTAC-индуцированная деградация РНК рибонуклеазой L. МикроРНК-210-нацеленная химерная молекула TGP-210-RL **30** [44] (синий фрагмент — лиганд к рибонуклеазе L, красный — лиганд к МикроРНК-210, зеленый — спейсерная группа)

**Fig. 7.** RIBOTAC-induced degradation of RNA by ribonuclease L. MicroRNA-210 is a targeted chimeric molecule TGP-210-RL **30** [44] (blue is a ligand to ribonuclease L, red is a ligand to microRNA-210, green is a spacer group)

Еще одна альтернатива — химеры, в которых лигандом к целевому белку выступают не малые молекулы, а различные биополимеры: пептиды, олигонуклеотиды или антитела (Non-small molecule PROTACs или NSM-PROTAC) [46]. Такие конструкции утрачивают ряд преимуществ исходной технологии, взамен приобретая более точное нацеливание на ранее недоступные мишени.

## ПРОБЛЕМЫ ТЕХНОЛОГИИ И СПОСОБЫ ИХ РЕШЕНИЯ

Существует набор сложностей, изначально присущих технологии PROTAC®, которые пока не дают ей захватить лидирующие позиции в дизайне лекарственных средств [47]. Первой такой проблемой являются изначально плохие фармакологические свойства большинства химерных молекул. Почти все они выбиваются из принятых параметров лекарственного подобия (drug-likeness) из-за значительных размеров и молекулярной массы. Низкая растворимость также затрудняет разработку лекарственных форм для перорального введения. Отчасти эта проблема может быть решена традиционными методами структурно-ориентированного дизайна [48, 49].

Другая сложность в разработке химерных молекул связана с относительно слабым набором доступных инструментов для этой работы. Если для поиска и оптимизации традиционных лекарственных препаратов существует огромное разнообразие физико-химических методов и тестовых систем, то для новой технологии такого множества подходов еще не разработано. Как упоминалось ранее, эффективность действия молекулы PROTAC® не связана напрямую с легко измеряемой аффинностью, а скорее со стабильностью троичного комплекса и параметрами белок-белкового взаимодействия. От чего зависят эти величины, а также селективность молекул PROTAC®, пока до конца неясно. Таким образом, рациональный дизайн новых химер еще не скоро превратится в рутинную процедуру. Обзор, посвященный инструментам и методам рационального дизайна молекул PROTAC®, представлен Liu *et al.* [50].

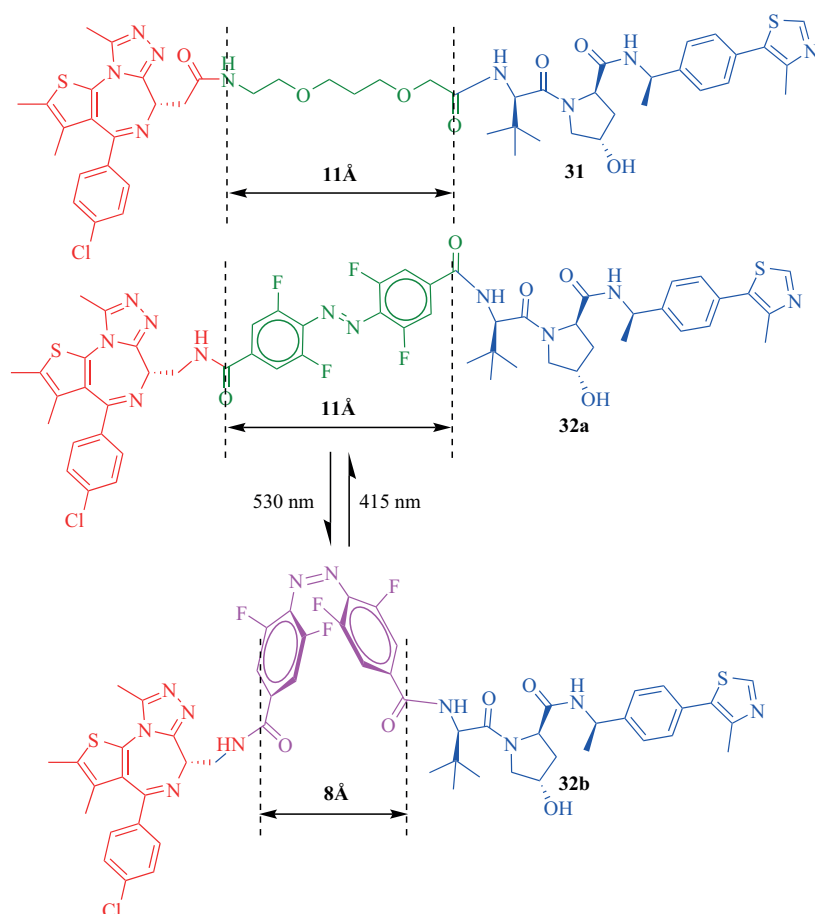
Еще одна проблема связана с механизмом действия молекул PROTAC®. Когда традиционные суицидные ингибиторы попадают в клетку, каждая молекула препарата «убивает» только одну молекулу-мишень (фермент или рецептор), таким образом, действие препарата напрямую связано с концентрацией и аффинностью. Но PROTAC® рекрутирует собственные системы клетки, и после распада белка-мишени химера включается в новый каталитический цикл. Таким образом, действие препарата

будет продолжаться вплоть до полного выведения или разрушения всех молекул PROTAC®. Это открывает путь, с одной стороны, к высочайшей эффективности, а с другой — к неконтролируемым побочным эффектам. Крайне желательно предусмотреть химический «выключатель» — способ прекратить или возобновить действие молекулы-разрушителя в нужный момент.

Такого рода разработки ведутся в области фотофармакологии [52]. Пример фотопереключаемой молекулы PROTAC® показан на рис. 8. Исходной структурой послужила химерная молекула ARV-771 **31**, нацеливаемая на онкомишень BRD-4. Длина спейсера в ней составляет 11 Å, и если ее изменить в большую или меньшую сторону, стабильность троичного комплекса нарушается и PROTAC® перестает работать. В структуре фотопереключаемой молекулы **32a** полиэтиленгликольный спейсер заменен на фрагмент замещенного *транс*-азобензола равной длины. При облучении светом с длиной волны 530 нм азобензол изомеризуется в *цис*-форму **32b**, при этом расстояние между лигандами сокращается до 8 Å и вещество утрачивает активность. Обратный переход инициируется облучением при 415 нм.

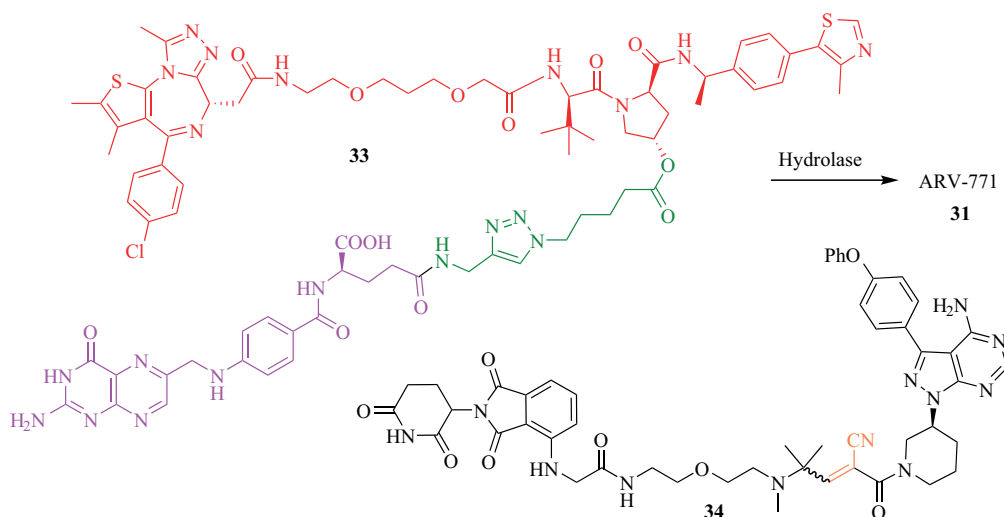
«Выключатель» может иметь и чисто химическую природу. Описаны варианты химерных противораковых молекул, использующих фолатную систему нацеливания [53]. В нормальных клетках рецепторы фолиевой кислоты присутствуют в незначительном количестве, в сравнении с многими типами опухолевых клеток, активно экспрессирующих эти рецепторы. Когда неактивное пролекарство **33**, конъюгированное с фолиевой кислотой, транспортируется в раковые клетки, активная субстанция — PROTAC® ARV-771 **31** — высвобождается под действием эндогенных гидролаз (рис. 9).

Другой способ приблизить фармакодинамику молекулы PROTAC® к обычным моделям состоит в использовании ковалентных ингибиторов в качестве «боеголовки». Если лиганд в составе химеры связывается с целевым белком ковалентно, при разрушении мишени протеасомой высвобождается уже отработанная молекула, неспособная снова включиться в каталитический цикл. Таким образом, молекула PROTAC® начинает работать как обычный суицидный ингибитор, но сохраняет преимущество в спектре мишеней. Есть и другие концепции дизайна технологии PROTAC®, использующие ковалентное связывание, в том числе обратимое [55]. В работе Jin *et al.* [56] предлагается контролировать процесс деградации целевого белка, вводя в клетку вещество, селективно связывающее активную молекулу PROTAC®.



**Рис. 8.** Фотопереключаемая молекула PROTAC® (синий фрагмент — лиганд к лигазе E3 VHL, красный — лиганд к целевому белку BRD4, зеленый — спейсерные группы) [51]

**Fig. 8.** Photoinduced switching PROTAC® (blue is ligand to the E3 VHL ligase, red is ligand to the target protein BRD4, and green is spacer groups) [51]



**Рис. 9.** PROTAC® 33 с фолатной системой доставки в опухолевую клетку (красным выделен фрагмент исходной активной субстанции, фиолетовым — фолатная группа, зеленым — спейсерный фрагмент) [53]; ковалентный PROTAC® (оранжевый фрагмент — акриламидная группа, отвечающая за ковалентное связывание с мишенью) [54]

**Fig. 9.** PROTAC® 33 with folate delivery system to the tumor cell (the fragment of the initial active substance is highlighted in red, the folate group is highlighted in purple, the spacer fragment is highlighted in green) [53]; covalent PROTAC® (an orange fragment is an acrylamide group responsible for covalent binding to the target) [54]

## ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ PROTAC® В БОРЬБЕ С ИНФЕКЦИЯМИ — ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ

На первый взгляд, использование новой технологии против патогенных организмов и вирусов кажется очень перспективным, однако количество публикаций, описывающих антибактериальные или противовирусные молекулы PROTAC®, пока сравнительно невелико. Следует рассматривать стратегии применения направленной деградации белков против бактериальных, вирусных и протозойных инфекций отдельно вследствие существенных различий между биомишенями.

Строго говоря, применение технологии PROTAC® в ее исходном виде против прокариотических клеток, то есть бактерий, невозможно, т.к. убиквитин-протеасомная система существует только у эукариот. Но сама идея направленной деградации целевых белков через активацию собственных систем клетки вполне может быть распространена на бактериальные клетки. В 2022 г. Morreale *et al.* [57] предложили концепцию VasPROTAC, опирающуюся на протеазную систему грамположительных бактерий и микобактерий ClpCP, сходную с убиквитин-протеазной системой эукариот. По сравнению с эукариотическими протеасомами, которые распознают сложные полиубиквитиновые цепочки, механизм активации ClpCP гораздо проще. Меткой деградации служит фосфатная группа, связанная с остатком аргинина целевого белка. В качестве доказательства жизнеспособности концепции, исследователи проверили эффективность деградации модельного белка (стрептавидина) *in vitro*, соединив его лиганд (биотин) с фосфорилированным аргинином через линкер в соединении VasPROTAC-1 **35** (рис. 10).

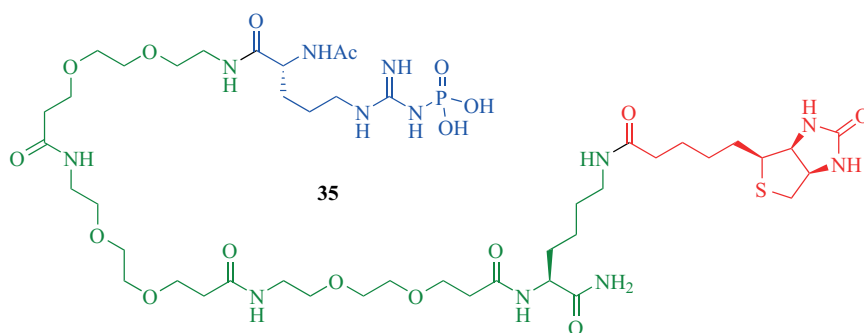
Соединение **35** в концентрации 100 мМ действительно разрушало целевой белок *in vitro*

в присутствии ClpCP у *Bacillus subtilis*. Однако фармакокинетика VasPROTAC-1, построенного на основе фосфорилированного аргинина, неудовлетворительна, а гуанидинфосфатная группа нестабильна. Исследователи предложили замену аргинин-фосфатного лиганда на циклические пептидные молекулы, подобные цикломарину А — антибиотику, выделенному из морского актиномицета и обладающему значительной аффинностью к ClpCP.

VasPROTAC на настоящий момент скорее фундаментальная концепция, чем технология. Для применения на практике нужно преодолеть еще немало препятствий. Высокая избирательность молекулы PROTAC® в случае антибактериальной терапии скорее недостаток: бесчисленное разнообразие генетически изменчивых патогенных микроорганизмов делает крайне затруднительным выбор мишени и универсальный подход к конструированию химеры. Тем не менее есть авторитетные обзоры [58–61], подтверждающие актуальность таких исследований.

Противопротозойные молекулы PROTAC® кажутся более вероятными, т.к. возбудители относятся к эукариотам, убиквитин-протеасомная система у них присутствует, хотя и менее изучена, чем человеческая. Однако исследований, описывающих такие химеры, на настоящий момент еще не опубликовано.

Наибольшее число работ, посвященных применению технологии в борьбе с инфекциями, направлено на разработку противовирусных молекул PROTAC®. Жизненный цикл вируса протекает в человеческой клетке, а значит, для деструкции белковых компонентов вируса убиквитин-протеасомная система подходит. Перспективной кажется и технология RIBOTAC, т.к. вирусная РНК имеет значительные отличия. Однако остается ряд неразрешенных вопросов: доступны ли места локализации вируса в клетке для протеасомы? Может ли химера не только снизить



**Рис. 10.** VasPROTAC-1 — модельная химера, использующая протеазную систему ClpCP для разрушения стрептавидина (синим выделен лиганд ClpCP, красным — лиганд к целевому белку, биотин, зеленым — линкерная группа) [57]

**Fig. 10.** VasPROTAC-1 is a model chimera using the ClpCP protease system to destroy streptavidin (the ClpCP ligand is blue, the target protein ligand, biotin, is red, and the linker group is green) [57]

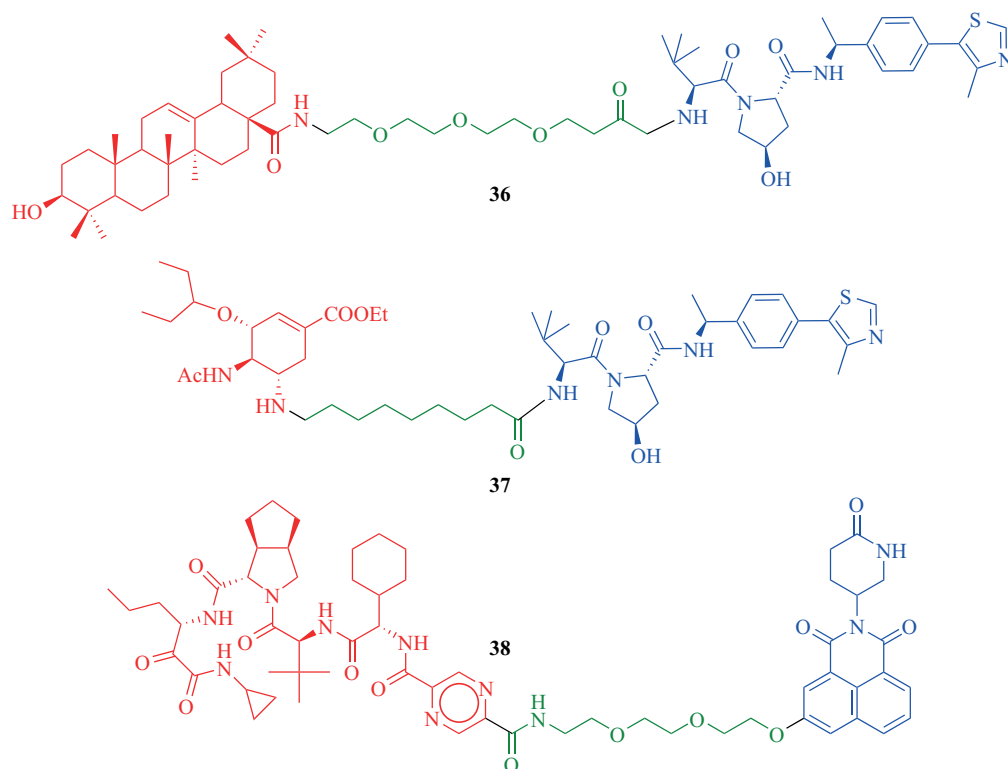
вирусную нагрузку, но и предотвратить заражение? Проблемы использования технологии в борьбе с вирусами рассмотрены в нескольких обзорных работах [14, 60–64].

Возможны два пути применения технологии в борьбе с вирусной инфекцией: разрушение собственно вирусных мишеней или разрушение белков клетки-хозяина, ответственных за патологические процессы. Примеров использования PROTAC® для деградации белков вируса пока относительно немного. Структуры наиболее активных из описанных соединений приведены на рис. 11.

Li *et al.* [65] использовали пентациклическую тритерпеноидную олеаноловую кислоту как «боеголовку» для нацеливания на гемагглютинин вируса гриппа. Олеаноловая кислота проявляет противовирусное действие в отношении вируса гриппа А и обладает умеренной аффинностью к гемагглютинину [66]. Были синтезированы два набора молекул PROTAC® с лигандами к лигазам CRBN и VHL и с различными спейсерными группами. Деструкцию целевого белка проводили *in vitro* в модельной клеточной системе. Максимальный уровень деструкции гемагглютинина (средняя концентрация деградации  $DC_{50} = 1.44 \mu\text{M}$ ) показало соединение **36** с лигандом VHL.

Осельтамивир является известным препаратом для лечения гриппа, ингибирующим нейраминидазу вируса гриппа — фермент, участвующий в процессе репликации. Соединения на основе осельтамивира были использованы для нацеливания на нейраминидазу штамма вируса гриппа А H1N1 [67]. Была получена большая серия соединений, в которых использовались лиганды к CRBN и VHL, разнообразные линкеры и различный тип присоединения линкера к молекуле осельтамивира. *In vitro* наилучшую активность продемонстрировало соединение **37** (полумаксимальная эффективная концентрация  $EC_{50} = 0.33 \mu\text{M}$ ), почти такую же, как у препарата сравнения — осельтамивира фосфата ( $EC_{50} = 0.36 \mu\text{M}$ ). Соединение не проявляет цитотоксичности по отношению к нормальным клеткам в концентрации до  $50 \mu\text{M}$ .

Функция сериновой протеазы NS3/4A вируса гепатита С заключается в расщеплении вирусного полипротеина, это важная стадия репликации вируса. Таким образом, деградация протеазы NS3/4A с помощью PROTAC® должна ингибировать образование и размножение вириона. Телапревир, пептидомиметический ингибитор протеазы NS3/4A, использовали как «боеголовку» соединения **38**, а трициклический имидный фрагмент послужил в нем лигандом



**Рис. 11.** Структуры молекул PROTAC®, направленных на различные вирусные белки (синим выделены лиганды E3, красным — лиганды к целевому белку, зеленым — линкерные группы)

**Fig. 11.** Structures of PROTACs® aimed at various viral proteins (E3 ligands are blue, ligands to the target protein are red, linker groups are green)

лигазы E3 CRBN. Соединение **38** в клеточной модели показало высокую способность к разрушению протеазы ( $DC_{50} = 50 \text{ nM}$ ) [68].

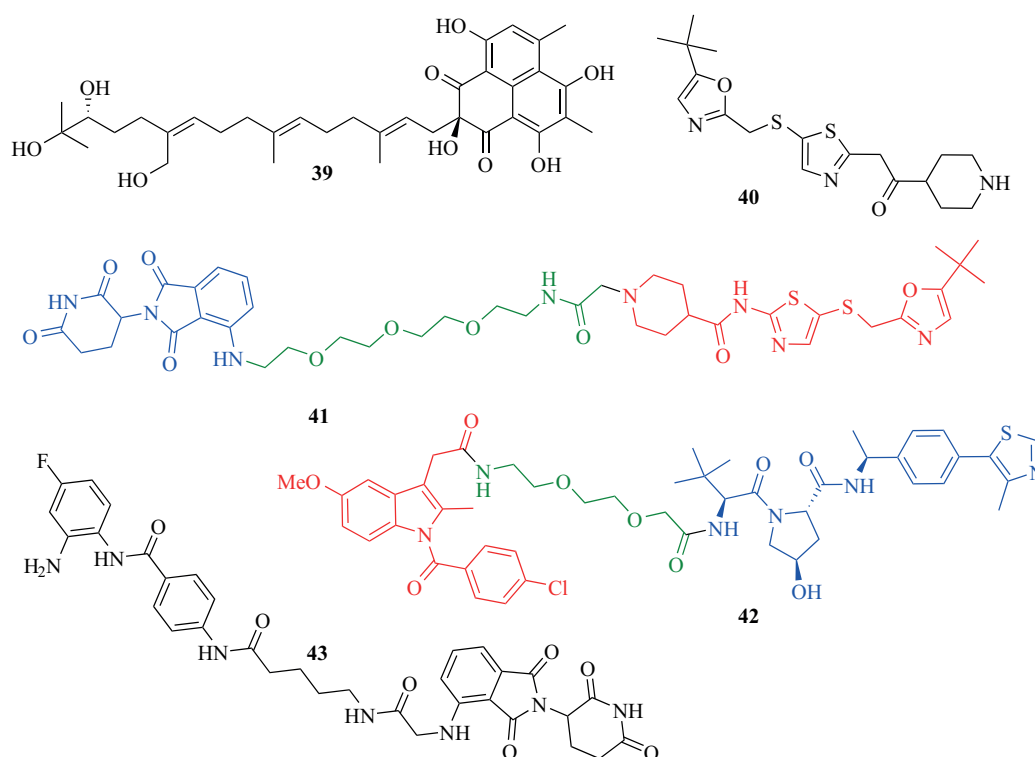
Для разрушения нуклеиновых кислот вируса SARS-CoV2 применяли описанную выше технологию RIBOTAC [69, 70], связывая антисмысловые последовательности с лигандами к рибонуклеазе L.

Отмечено, что некоторые собственные способы борьбы организма с вирусами аналогичны действию технологии PROTAC®. Так, например, одна из лигаз E3 (URB5) имеет родство к белку коронавируса MERS-CoV ORF4b, подавляющему иммунную систему клетки. В результате ее действия этот белок помечается полиубиквитиновой цепочкой и разрушается протеасомой, повышая сопротивляемость организма вирусу [71]. Существуют и природные вещества, работающие по сходному принципу: метаболит APL-16-5 (**39**, рис. 12), выделенный из грибка *Aspergillus* sp. CPCC 400735, обладает противовирусным действием в отношении гриппа А за счет того, что является лигандом одновременно полимеразы вируса и лигазы E3 TRIM25 [72].

Другой способ борьбы с вирусной инфекцией — подавление патологических клеточных процессов, вызванных вирусом. В этом случае действие технологии PROTAC® более традиционно. Инфекция,

вызываемая цитомегаловирусом, развивается при участии циклин-зависимых протеинкиназ (cyclin-dependent kinases, CDK), ингибиторы которых тестируются в роли противовирусных препаратов [73]. В частности, соединение SNS-032 **40** компании *Selleck* (США), селективный ингибитор CDK, послужило основой для противовирусного препарата PROTAC® **41** [74]. Соединение **41** ( $EC_{50} = 0.025 \pm 0.001 \mu\text{M}$ ) оказалось почти в четыре раза более эффективным, чем исходное SNS-032 ( $EC_{50} = 0.105 \pm 0.004 \mu\text{M}$ ).

В поисках эффективной терапии для COVID-19 во время пандемии было заново проверено множество зарегистрированных препаратов из самых разных классов. В частности, некоторая эффективность против коронавирусной инфекции обнаружилась у индометацина — старого противовоспалительного препарата. *Desantis et al.* [75] разработали несколько препаратов PROTAC®, использующих структуру индометацина в роли «боеголовки», нацеленной на простагландин-Е синтазу 2 (prostaglandin-E synthase 2, PGE-2). Этот фермент взаимодействует с коронавирусным белком NSP7, необходимым для репликации SARS-CoV2. Точный механизм противовирусного действия индометацина неясен, однако разрушение PGE-2 подавляет репликацию. Наиболее активное



**Рис. 12.** Структуры антивирусных молекул PROTAC® (синим выделены лиганды E3, красным — лиганды к целевому белку, зеленым — линкерные группы)

**Fig. 12.** Structures of antiviral PROTACs® (E3 ligands are blue, ligands to the target protein are red, linker groups are green)

соединение **42** ( $EC_{50} = 18.1 \mu M$ ) в 5 раз эффективнее индометацина ( $EC_{50} = 94.4 \mu M$ ). Интересно, что эти препараты PROTAC® активны и против других типов коронавирусов, например, HCoV-OC43, при этом они не проявляют цитотоксичности в отношении незараженных клеток.

Одной из причин высокой смертности от COVID-19 является гиперактивация воспалительного ответа, вызываемая гистон-деацетилазами (histone deacetylases, HDAC). Ингибирование HDAC-3 снижает воспаление. Нацеленные на HDAC-3 химеры для лечения COVID-19 были предложены Zahid *et al.* [76] на основе противовоспалительного препарата PROTAC® HD-TAC7 **43** (*MedChemExpress*, США). Компьютерный анализ показал, что предложенные молекулы теоретически могут быть использованы для борьбы с воспалительными реакциями при COVID-19, однако возможности практического применения ограничиваются нерешенными проблемами фармакокинетики. Молекулярно-динамическое моделирование и компьютерный анализ использованы также в работе [77] для конструирования возможных молекул PROTAC®, нацеленных на протеазу SARS-CoV-2 — еще одну подтвержденную вирусную мишень. Однако результаты расчетов предстоит проверить химическим синтезом и исследованием активности на моделях и *in vivo*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

PROTAC®, технология направленной деградации белков, основана на использовании гетеробифункциональных молекул для привлечения механизмов внутриклеточной деградации белков к интересующему внутриклеточному белку-мишени. Эта химически индуцированная близость между молекулярным

механизмом деградации белка и мишенью приводит к полиубиквитинированию и протеасомной деградации целевого белка. Химерная молекула PROTAC® собирается из трех частей: лиганда к белку-мишени, лиганда к ферменту лигаза E3, рекрутирующему убиквитин-протеасомную систему, и связывающего их между собой линкера. Общедоступная база данных PROTAC-DB 2.0<sup>3</sup> содержит информацию о 3270 разработанных химерах, 360 «боеголовках», 1500 линкерах и 80 лигандах лигаз E3, а также данные об известных кристаллических структурах трюичных комплексов.

Изначально рассчитанная на борьбу с онкологическими и нейродегенеративными заболеваниями технология может быть направлена и против инфекций. Новые модификации предполагают использование не только протеасомной системы, но и других защитных механизмов клетки. В роли биологической мишени также выступают нуклеиновые кислоты. По состоянию на конец 2022 г. не менее 20 проектов PROTAC® по всему миру проходили клинические испытания и как минимум один из них достиг третьей фазы. Точное нацеливание собственных защитных систем организма, не менее эффективное, чем технология моноклональных антител, но более дешевое, открывает путь к лечению самых различных заболеваний.

## Вклад авторов

Все авторы в равной степени внесли свой вклад в исследовательскую работу.

## Authors' contribution

All authors equally contributed to the research work.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sakamoto K.M., Kim K.B., Kumagai A., Mercurio F., Crews C.M., Deshaies R.J. Protacs: chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2001;98(15):8554–8559. <https://doi.org/10.1073/pnas.141230798>
2. Kleiger G., Mayor T. Perilous journey: a tour of the ubiquitin-proteasome system. *Trends Cell Biol.* 2014;24(6):352–359. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2013.12.003>
3. Bekes M., Langley D.R., Crews C.M. PROTAC targeted protein degraders: the past is prologue. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2022;21(3):181–200. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00371-6>
4. He M., Cao C., Ni Z., Liu Y., Song P., Hao S., *et al.* PROTACs: great opportunities for academia and industry (an update from 2020 to 2021). *Signal Transduct. Target. Ther.* 2022;7(1):181. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00999-9>
5. Королева О.А., Дутикова Ю.В., Трубников А.В., Зенов Ф.А., Манасова Е.В., Штиль А.А., Куркин А.В. PROTAC — стратегия развития мишень-направленных лекарств: принципы и ограничения. *Известия Академии Наук. Серия химическая.* 2022;71(11):2310–2334. [Koroleva O.A., Dutikova Yu.V., Trubnikov A.V., *et al.* PROTAC: targeted drug strategy. Principles and limitations. *Russ. Chem. Bull.* <https://doi.org/10.1007/s11172-022-3659-z>]

<sup>3</sup> <http://cadd.zju.edu.cn/protacdb/>. Дата обращения 26.02.2024. / Accessed February 26, 2024.

- [Original Russian Text: Koroleva O.A., Dutikova Yu.V., Trubnikov A.V., Zenov F.A., Manasova E.V., Shtil' A.A., Kurkin A.V. PROTAC: targeted drug strategy. Principles and limitations. *Izvestiya Akademii Nauk. Seriya khimicheskaya*. 2022;71(11):2310–2334 (in Russ.).]
- Cao C., He M., Wang L., He Y., Rao Y. Chemistries of bifunctional PROTAC degraders. *Chem. Soc. Rev.* 2022;51(16):7066–7114. <https://doi.org/10.1039/d2cs00220e>
  - Liu Z., Hu M., Yang Y., Du C., Zhou H., Liu C., *et al.* An overview of PROTACs: a promising drug discovery paradigm. *Mol. Biomed.* 2022;3(1):46. <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00112-0>
  - Yang N., Kong B., Zhu Z., Huang F., Zhang L., Lu T., *et al.* Recent advances in targeted protein degraders as potential therapeutic agents. *Mol. Divers.* 2024;28:309–333. <https://doi.org/10.1007/s11030-023-10606-w>
  - Li S., Chen T., Liu J., Zhang H., Li J., Wang Z., *et al.* PROTACs: Novel tools for improving immunotherapy in cancer. *Cancer Lett.* 2023;560:216128. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2023.216128>
  - Guedeney N., Cornu M., Schwalen F., Kieffer C., Voisin-Chiret A.S. PROTAC technology: A new drug design for chemical biology with many challenges in drug discovery. *Drug Discov. Today.* 2023;28(1):103395. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.103395>
  - Bricej A., Steinebach C., Kuchta R., Gutschow M., Sosic I. E3 Ligase Ligands in Successful PROTACs: An Overview of Syntheses and Linker Attachment Points. *Front. Chem.* 2021;9:707317. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.707317>
  - Chamberlain P.P., Lopez-Girona A., Miller K., Carmel G., Pagarigan B., Chie-Leon B., *et al.* Structure of the human Cereblon-DDB1-lenalidomide complex reveals basis for responsiveness to thalidomide analogs. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2014;21(9):803–809. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2874>
  - Simpson L.M., Glennie L., Brewer A., Zhao J.F., Crooks J., Shpiro N., *et al.* Target protein localization and its impact on PROTAC-mediated degradation. *Cell Chem. Biol.* 2022;29(10):1482–1504.e7. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2022.08.004>
  - Shah V.J., Đikić I. Localization matters in targeted protein degradation. *Cell Chem. Biol.* 2022;29(10):1465–1466. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2022.09.006>
  - Bemis T.A., La Clair J.J., Burkart M.D. Unraveling the Role of Linker Design in Proteolysis Targeting Chimeras. *J. Med. Chem.* 2021;64(12):8042–8052. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00482>
  - Gadd M.S., Testa A., Lucas X., Chan K.H., Chen W., Lamont D.J., *et al.* Structural basis of PROTAC cooperative recognition for selective protein degradation. *Nat. Chem. Biol.* 2017;13(5):514–521. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2329>
  - Cao C., Yang J., Chen Y., Zhou P., Wang Y., Du W., *et al.* Discovery of SK-575 as a Highly Potent and Efficacious Proteolysis-Targeting Chimera Degradator of PARP1 for Treating Cancers. *J. Med. Chem.* 2020;63(19):11012–11033. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00821>
  - Carmony K.C., Kim K.B. PROTAC-induced proteolytic targeting. In: Dohmen R., Scheffner M. (Eds.). *Ubiquitin Family Modifiers and the Proteasome*. Methods in Molecular Biology. Humana Press; 2012. V. 832. P. 627–638. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-474-2\\_4419](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-474-2_4419)
  - Bondeson D.P., Smith B.E., Burslem G.M., Buhimschi A.D., Hines J., Jaime-Figueroa S., *et al.* Lessons in PROTAC Design from Selective Degradation with a Promiscuous Warhead. *Cell Chem. Biol.* 2018;25(1):78–87.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.09.010>
  - Paiva S.L., Crews C.M. Targeted protein degradation: elements of PROTAC design. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2019;50:111–119. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.02.022>
  - Rao Z., Li K., Hong J., Chen D., Ding B., Jiang L., *et al.* A practical “preTACs-cytoblot” platform accelerates the streamlined development of PROTAC-based protein degraders. *Eur. J. Med. Chem.* 2023;251:115248. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115248>
  - Guo L., Zhou Y., Nie X., Zhang Z., Zhang Z., Li C., *et al.* A platform for the rapid synthesis of proteolysis targeting chimeras (Rapid-TAC) under miniaturized conditions. *Eur. J. Med. Chem.* 2022;236:114317. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114317>
  - Bhela I.P., Ranza A., Balestrero F.C., Serafini M., Aprile S., Di Martino R.M.C., *et al.* A Versatile and Sustainable Multicomponent Platform for the Synthesis of Protein Degradators: Proof-of-Concept Application to BRD4-Degrading PROTACs. *J. Med. Chem.* 2022;65(22):15282–15299. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01218>
  - Liu Z., Zhang Y., Xiang Y., Kang X. Small-Molecule PROTACs for Cancer Immunotherapy. *Molecules.* 2022;27(17):5439. <https://doi.org/10.3390/molecules27175439>
  - Li J., Chen X., Lu A., Liang C. Targeted protein degradation in cancers: Orthodox PROTACs and beyond. *The Innovation.* 2023;4(3):100413. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2023.100413>
  - Yedla P., Babalghith A.O., Andra V.V., Syed R. PROTACs in the Management of Prostate Cancer. *Molecules.* 2023;28(9):3698. <https://doi.org/10.3390/molecules28093698>
  - Gao X., Burris Iii H.A., Vuky J., Dreicer R., Sartor A.O., Sternberg C.N., *et al.* Phase 1/2 study of ARV-110, an androgen receptor (AR) PROTAC degrader, in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC). *J. Clin. Oncol.* 2022;40(6\_suppl):17–17. [https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.6\\_suppl.017](https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.6_suppl.017)
  - Ha S., Luo G., Xiang H. A Comprehensive Overview of Small-Molecule Androgen Receptor Degradators: Recent Progress and Future Perspectives. *J. Med. Chem.* 2022;65(24):16128–16154. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01487>
  - Hamilton E.P., Schott A.F., Nanda R., Lu H., Keung C.F., Gedrich R., *et al.* ARV-471, an estrogen receptor (ER) PROTACdegrader, combined with palbociclib in advanced ER+/human epidermal growth factor receptor 2–negative (HER2–) breast cancer: Phase 1b cohort (part C) of a phase 1/2 study. *J. Clin. Oncol.* 2022;40(16\_suppl):TPS1120–TPS1120. [https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16\\_suppl.TPS1120](https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.TPS1120)
  - Xu H., Ohoka N., Yokoo H., Nemoto K., Ohtsuki T., Matsufuji H., *et al.* Development of Agonist-Based PROTACs Targeting Liver X Receptor. *Front. Chem.* 2021;9:674967. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.674967>
  - Yu F., Cai M., Shao L., Zhang J. Targeting Protein Kinases Degradation by PROTACs. *Front. Chem.* 2021;9:679120. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.679120>
  - Dikic I., Elazar Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2018;19(6):349–364. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0003-4>
  - Takahashi D., Moriyama J., Nakamura T., Miki E., Takahashi E., Sato A., *et al.* AUTACs: Cargo-Specific Degradators Using Selective Autophagy. *Mol. Cell.* 2019;76(5):797–810.e10. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.09.009>
  - Li X., Liu Q., Xie X., Peng C., Pang Q., Liu B., *et al.* Application of Novel Degradators Employing Autophagy for Expediting Medicinal Research. *J. Med. Chem.* 2023;66(3):1700–1711. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01712>

35. Li Z., Ma S., Zhang L., Zhang S., Ma Z., Du L., *et al.* Targeted Protein Degradation Induced by HEMTACs Based on HSP90. *J. Med. Chem.* 2023;66(1):733–751. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01648>
36. Brown K.J., Seol H., Pillai D.K., Sankoorikal B.J., Formolo C.A., Mac J., *et al.* The human secretome atlas initiative: implications in health and disease conditions. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013;1834(11):2454–2461. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2013.04.007>
37. Banik S.M., Pedram K., Wisnovsky S., Ahn G., Riley N.M., Bertozzi C.R. Lysosome-targeting chimaeras for degradation of extracellular proteins. *Nature.* 2020;584(7820):291–297. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2545-9>
38. Caianiello D.F., Zhang M., Ray J.D., Howell R.A., Swartzel J.C., Branham E.M.J., *et al.* Bifunctional small molecules that mediate the degradation of extracellular proteins. *Nat. Chem. Biol.* 2021;17(9):947–953. <https://doi.org/10.1038/s41589-021-00851-1>
39. Ahn G., Banik S.M., Miller C.L., Riley N.M., Cochran J.R., Bertozzi C.R. LYTACs that engage the asialoglycoprotein receptor for targeted protein degradation. *Nat. Chem. Biol.* 2021;17(9):937–946. <https://doi.org/10.1038/s41589-021-00770-1>
40. Wu Y., Lin B., Lu Y., Li L., Deng K., Zhang S., *et al.* Aptamer-LYTACs for Targeted Degradation of Extracellular and Membrane Proteins. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2023;62(15):e202218106. <https://doi.org/10.1002/anie.202218106>
41. Kong L., Meng F., Wu S., Zhou P., Ge R., Liu M., *et al.* Selective degradation of the p53-R175H oncogenic hotspot mutant by an RNA aptamer-based PROTAC. *Clin. Transl. Med.* 2023;13(2):e1191. <https://doi.org/10.1002/ctm2.1191>
42. Dey S.K., Jaffrey S.R. RIBOTACs: Small Molecules Target RNA for Degradation. *Cell Chem. Biol.* 2019;26(8):1047–1049. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2019.07.015>
43. Childs-Disney J.L., Yang X., Gibaut Q.M.R., Tong Y., Batey R.T., Disney M.D. Targeting RNA structures with small molecules. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2022;21(10):736–762. <https://doi.org/10.1038/s41573-022-00521-4>
44. Costales M.G., Suresh B., Vishnu K., Disney M.D. Targeted Degradation of a Hypoxia-Associated Non-coding RNA Enhances the Selectivity of a Small Molecule Interacting with RNA. *Cell Chem. Biol.* 2019;26(8):1180–1186e5. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2019.04.008>
45. Borgelt L., Haacke N., Lampe P., Qiu X., Gasper R., Schiller D., *et al.* Small-molecule screening of ribonuclease L binders for RNA degradation. *Biomed. Pharmacother.* 2022;154:113589. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113589>
46. Ma S., Ji J., Tong Y., Zhu Y., Dou J., Zhang X., *et al.* Non-small molecule PROTACs (NSM-PROTACs): Protein degradation kaleidoscope. *Acta Pharm. Sin. B.* 2022;12(7):2990–3005. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.02.022>
47. Gao H., Sun X., Rao Y. PROTAC Technology: Opportunities and Challenges. *ACS Med. Chem. Lett.* 2020;11(3):237–240. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.9b00597>
48. O'Brien Laramy M.N., Luthra S., Brown M.F., Bartlett D.W. Delivering on the promise of protein degraders. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2023;22(5):410–427. <https://doi.org/10.1038/s41573-023-00652-2>
49. Cecchini C., Pannilunghi S., Tardy S., Scapozza L. From Conception to Development: Investigating PROTACs Features for Improved Cell Permeability and Successful Protein Degradation. *Front. Chem.* 2021;9:672267. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.672267>
50. Liu X., Zhang X., Lv D., Yuan Y., Zheng G., Zhou D. Assays and technologies for developing proteolysis targeting chimera degraders. *Future Med. Chem.* 2020;12(12):1155–1179. <https://doi.org/10.4155/fmc-2020-0073>
51. Pfaff P., Samarasinghe K.T.G., Crews C.M., Carreira E.M. Reversible Spatiotemporal Control of Induced Protein Degradation by Bistable PhotoPROTACs. *ACS Cent. Sci.* 2019;5(10):1682–1690. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.9b00713>
52. Zeng S., Zhang H., Shen Z., Huang W. Photopharmacology of Proteolysis-Targeting Chimeras: A New Frontier for Drug Discovery. *Front. Chem.* 2021;9:639176. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.639176>
53. Liu J., Chen H., Liu Y., Shen Y., Meng F., Kaniskan H.U., *et al.* Cancer Selective Target Degradation by Folate-Caged PROTACs. *J. Am. Chem. Soc.* 2021;143(19):7380–7387. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c00451>
54. Gabizon R., Shraga A., Gehrtz P., Livnah E., Shorer Y., Gurwicz N., *et al.* Efficient Targeted Degradation via Reversible and Irreversible Covalent PROTACs. *J. Am. Chem. Soc.* 2020;142(27):11734–11742. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b13907>
55. Yuan M., Chu Y., Duan Y. Reversible Covalent PROTACs: Novel and Efficient Targeted Degradation Strategy. *Front. Chem.* 2021;9:691093. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.691093>
56. Jin Y., Fan J., Wang R., Wang X., Li N., You Q., *et al.* Ligation to Scavenging Strategy Enables On-Demand Termination of Targeted Protein Degradation. *J. Am. Chem. Soc.* 2023;145(13):7218–7229. <https://doi.org/10.1021/jacs.2c12809>
57. Morreale F.E., Kleine S., Leodolter J., Junker S., Hoi D.M., Ovchinnikov S., *et al.* BacPROTACs mediate targeted protein degradation in bacteria. *Cell.* 2022;185(13):2338–2353e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.05.009>
58. Gopal P., Dick T. Targeted protein degradation in antibacterial drug discovery? *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2020;152:10–14. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2019.11.005>
59. Sarathy J.P., Aldrich C.C., Go M.L., Dick T. PROTAC antibiotics: the time is now. *Expert Opin. Drug Discov.* 2023;18(4):363–370. <https://doi.org/10.1080/17460441.2023.2178413>
60. Venkatesan J., Murugan D., Rangasamy L. A Perspective on Newly Emerging Proteolysis-Targeting Strategies in Antimicrobial Drug Discovery. *Antibiotics (Basel).* 2022;11(12):1717. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121717>
61. Espinoza-Chavez R.M., Salerno A., Liuzzi A., Ilari A., Milelli A., Uliassi E., *et al.* Targeted Protein Degradation for Infectious Diseases: from Basic Biology to Drug Discovery. *ACS Bio Med. Chem. Au.* 2023;3(1):32–45. <https://doi.org/10.1021/acsbiochemau.2c00063>
62. Desantis J., Goracci L. Proteolysis targeting chimeras in antiviral research. *Future Med. Chem.* 2022;14(7):459–462. <https://doi.org/10.4155/fmc-2022-0005>
63. Ma Y., Frutos-Beltran E., Kang D., Pannecouque C., De Clercq E., Menendez-Arias L., *et al.* Medicinal chemistry strategies for discovering antivirals effective against drug-resistant viruses. *Chem. Soc. Rev.* 2021;50(7):4514–4540. <https://doi.org/10.1039/d0cs01084g>
64. Reboud-Ravaux M., ElAmri C. COVID-19 Therapies: Protease Inhibitions and Novel Degradation Strategies. *Front. Drug Discov.* 2022;2. <https://doi.org/10.3389/fddsv.2022.892057>
65. Li H., Wang S., Ma W., Cheng B., Yi Y., Ma X., *et al.* Discovery of Pentacyclic Triterpenoid PROTACs as a Class of Effective Hemagglutinin Protein Degradation. *J. Med. Chem.* 2022;65(10):7154–7169. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c02013>

66. Li W., Yang F., Meng L., Sun J., Su Y., Shao L., *et al.* Synthesis, Structure Activity Relationship and Anti-influenza A Virus Evaluation of Oleanolic Acid-Linear Amino Derivatives. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 2019;67(11):1201–1207. <https://doi.org/10.1248/cpb.c19-00485>
67. Xu Z., Liu X., Ma X., Zou W., Chen Q., Chen F., *et al.* Discovery of oseltamivir-based novel PROTACs as degraders targeting neuraminidase to combat H1N1 influenza virus. *Cell Insight*. 2022;1(3):100030. <https://doi.org/10.1016/j.cellin.2022.100030>
68. De Wispelaere M., Du G., Donovan K.A., Zhang T., Eleuteri N.A., Yuan J.C., *et al.* Small molecule degraders of the hepatitis C virus protease reduce susceptibility to resistance mutations. *Nat. Commun.* 2019;10(1):3468. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11429-w>
69. Haniff H.S., Tong Y., Liu X., Chen J.L., Suresh B.M., Andrews R.J., *et al.* Targeting the SARS-CoV-2 RNA Genome with Small Molecule Binders and Ribonuclease Targeting Chimera (RIBOTAC) Degradation. *ACS Cent. Sci.* 2020;6(10):1713–1721. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00984>
70. Su X., Ma W., Feng D., Cheng B., Wang Q., Guo Z., *et al.* Efficient Inhibition of SARS-CoV-2 Using Chimeric Antisense Oligonucleotides through RNase L Activation. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2021;60(40):21662–21667. <https://doi.org/10.1002/anie.202105942>
71. Zhou Y., Zheng R., Liu D., Liu S., Disoma C., Li S., *et al.* UBR5 Acts as an Antiviral Host Factor against MERS-CoV via Promoting Ubiquitination and Degradation of ORF4b. *J. Virol.* 2022;96(17):e0074122. <https://doi.org/10.1128/jvi.00741-22>
72. Zhao J., Wang J., Pang X., Liu Z., Li Q., Yi D., *et al.* An anti-influenza A virus microbial metabolite acts by degrading viral endonuclease PA. *Nat. Commun.* 2022;13(1):2079. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29690-x>
73. Wild M., Kicuntod J., Seyler L., Wangen C., Bertzbach L.D., Conradie A.M., *et al.* Combinatorial Drug Treatments Reveal Promising Anticytomegaloviral Profiles for Clinically Relevant Pharmaceutical Kinase Inhibitors (PKIs). *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(2):575. <https://doi.org/10.3390/ijms22020575>
74. Hahn F., Hamilton S.T., Wangen C., Wild M., Kicuntod J., Bruckner N., *et al.* Development of a PROTAC-Based Targeting Strategy Provides a Mechanistically Unique Mode of Anti-Cytomegalovirus Activity. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(23):12858. <https://doi.org/10.3390/ijms222312858>
75. Desantis J., Mercorelli B., Celegato M., Croci F., Bazzacco A., Baroni M., *et al.* Indomethacin-based PROTACs as pan-coronavirus antiviral agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2021;226:113814. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113814>
76. Zahid S., Ali Y., Rashid S. Structural-based design of HD-TAC7 PROteolysis TARgeting chimeras (PROTACs) candidate transformations to abrogate SARS-CoV-2 infection. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2023;41(23):14566–14581. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2183037>
77. Shaheer M., Singh R., Sobhia M.E. Protein degradation: a novel computational approach to design protein degrader probes for main protease of SARS-CoV-2. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2022;40(21):10905–10917. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1953601>

## Об авторах

**Захарова Мария Андреевна**, аспирант, кафедра биотехнологии и промышленной фармации, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 6). E-mail: [zaharova\\_ma@mirea.ru](mailto:zaharova_ma@mirea.ru). <https://orcid.org/0009-0004-3043-7438>

**Чудинов Михаил Васильевич**, к.х.н., доцент кафедры биотехнологии и промышленной фармации, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: [chudinov@mirea.ru](mailto:chudinov@mirea.ru). Scopus Author ID 6602589900, ResearcherID L-5728-2016, SPIN-код РИНЦ 3920-8067, <https://orcid.org/0000-0001-9735-9690>

## About the authors

**Maria A. Zakharova**, Postgraduate Student, Department of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: [zaharova\\_ma@mirea.ru](mailto:zaharova_ma@mirea.ru). <https://orcid.org/0009-0004-3043-7438>

**Mikhail V. Chudinov**, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: [chudinov@mirea.ru](mailto:chudinov@mirea.ru). Scopus Author ID 6602589900, ResearcherID L-5728-2016, RSCI SPIN-code 3920-8067, <https://orcid.org/0000-0001-9735-9690>

УДК 616-092+575:599.9

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-232-239>

EDN HRONBL



## НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

# Метилирование группы генов микроРНК как маркер диагностики и прогноза немелкоклеточного рака легкого

В.И. Логинов<sup>1,2</sup>, М.С. Губенко<sup>1</sup>, А.М. Бурденный<sup>1,3,✉</sup>, И.В. Пронина<sup>1,4</sup>, П.В. Постников<sup>4</sup>, Ю.А. Ефимова<sup>5</sup>, Ф.В. Радус<sup>5</sup>, Е.С. Мочалова<sup>4</sup>, Т.П. Казубская<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, 125315 Россия

<sup>2</sup> Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, Москва, 115522, Россия

<sup>3</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, Российская академия наук, Москва, 119334 Россия

<sup>4</sup> Национальная антидопинговая лаборатория (Институт), Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (НАДЛ МГУ), Москва, 105005 Россия

<sup>5</sup> МИРЭА — Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова) Москва, 119571 Россия

<sup>6</sup> Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, Министерство здравоохранения Российской Федерации, Москва, 115478 Россия

✉ Автор для переписки, e-mail: [burdennyu@gmail.com](mailto:burdennyu@gmail.com)

## Аннотация

**Цели.** Рак легкого представляет собой гетерогенное злокачественное новообразование с низким диагностическим потенциалом, характеризующееся бессимптомным течением вплоть до поздних стадий, высокой частотой неблагоприятных исходов и высокой вероятностью метастазирования. Его самой распространенной формой является немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). Последние исследования показывают значительную роль некодирующих РНК, в частности, микроРНК, в развитии НМРЛ. МикроРНК выполняют функцию пост-транскрипционных регуляторов экспрессии белок-кодирующих генов, в том числе, связанных с онкогенезом, и вовлечены в процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток. Одним из путей регуляции экспрессии самих микроРНК является изменение метилирования CpG-островка, прилежащего к гену микроРНК или перекрывающего его. Показано, что гены микроРНК в несколько раз чаще подвергаются метилированию, чем белок-кодирующие гены. Целью настоящего исследования являлось изучение изменения уровня метилирования ряда генов микроРНК и составление потенциальной панели маркеров для диагностики и прогноза НМРЛ.

**Методы.** Образцы опухолей НМРЛ собраны и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина. Высокомолекулярную ДНК выделяли из ткани стандартным методом. Анализ уровня метилирования проводили с применением бисульфитной конверсии ДНК и количественной метилспецифичной полимеразной цепной реакцией с детекцией в реальном времени. Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический критерий Манна–Уитни для независимых выборок. Различия считали достоверными при  $p < 0.05$ .

**Результаты.** В результате анализа уровней метилирования генов микроРНК нами было показано значимое ( $p < 0.05$ ) увеличение уровня метилирования восьми генов микроРНК: MIR124-1/2/3, MIR125B-1, MIR129-2, MIR137, MIR375, MIR1258, MIR339 ( $p < 0.01$ , FDR  $\leq 0.25$ ). Был проведен ROC-анализ, позволивший предложить панель маркеров для диагностики НМРЛ по характеру метилирования исследованных генов микроРНК в опухоли и норме.

**Выводы.** Полученные нами результаты способствуют пониманию молекулярных механизмов развития НМРЛ и могут быть использованы при разработке новых диагностических и прогностических подходов в клинической онкологии.

#### Ключевые слова

микроРНК, метилирование, панель маркеров, немелкоклеточный рак легкого

Поступила: 22.02.2024

Доработана: 29.03.2024

Принята в печать: 15.04.2024

#### Для цитирования

Логинов В.И., Губенко М.С., Бурденный А.М., Пронина И.В., Постников П.В., Ефимова Ю.А., Радус Ф.В., Мочалова Е.С., Казубская Т.П. Метилирование группы генов микроРНК как маркер диагностики и прогноза немелкоклеточного рака легкого. *Тонкие химические технологии*. 2024;19(3):232–239. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-232-239>

#### RESEARCH ARTICLE

## Methylation of a group of microRNA genes as a marker for the diagnosis and prognosis of non-small cell lung cancer

Vitaliy I. Loginov<sup>1,2</sup>, Marina S. Gubenko<sup>1</sup>, Alexey M. Burdenny<sup>1,3,✉</sup>, Irina V. Pronina<sup>1,4</sup>, Pavel V. Postnikov<sup>4</sup>, Yulia A. Efimova<sup>5</sup>, Fedor V. Radus<sup>5</sup>, Elena S. Mochalova<sup>4</sup>, Tatyana P. Kazubskaya<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, 125315 Russia

<sup>2</sup> Research Center for Medical Genetics, Moscow, 115522 Russia

<sup>3</sup> Emanuel Institute for Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia

<sup>4</sup> National Anti-Doping Laboratory (Institute), M.V. Lomonosov Moscow State University (NADL MSU), Moscow, 105005 Russia

<sup>5</sup> MIREA — Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, 119571 Russia

<sup>6</sup> Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, 115478 Russia

✉ Corresponding author, e-mail: [burdenny@gmail.com](mailto:burdenny@gmail.com)

#### Abstract

**Objectives.** Lung cancer, representing a difficult-to-diagnose heterogeneous malignant neoplasm, is characterized by an asymptomatic course up to late stages, a high incidence of adverse outcomes, and a high probability of metastasis. Its most common form is non-small cell lung cancer (NSCLC). Recent studies have demonstrated a significant role of non-coding RNAs—in particular, microRNAs—in the development of NSCLC. MicroRNAs, which function as post-transcriptional regulators of the expression of protein-coding genes, including those associated with oncogenesis, are involved in the processes of cell proliferation, differentiation, and apoptosis. One of the approaches for regulating the expression of microRNAs themselves is to change the methylation of the CpG island adjacent to the microRNA gene or overlapping it. It has been shown that microRNA genes are several times more likely to undergo methylation than protein-coding genes. The aim of the present work is to study changes in the level of methylation of a number of microRNA genes and compile a potential panel of markers for the diagnosis and prognosis of NSCLC.

**Methods.** Samples of NSCLC tumors were collected and clinically characterized at the Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. High-molecular-weight DNA was isolated from tissues using a standard method. The level of methylation was analyzed using bisulfite conversion of DNA and quantitative methyl-specific polymerase chain reaction with real-time detection. The significance of differences between the studied groups was assessed by the nonparametric Mann–Whitney U test for independent samples. Differences were considered significant at  $p < 0.05$ .

**Results.** The analysis of methylation levels of microRNA genes revealed a significant ( $p < 0.05$ ) increase in the methylation level of eight microRNA genes: MIR124-1/2/3, MIR125B-1, MIR129-2, MIR137, MIR375, MIR1258, and MIR339 ( $p < 0.01$ , false discovery rate  $\leq 0.25$ ). On the basis of receiver operating characteristic analysis, a panel of markers is proposed for the diagnosis of NSCLC according to the nature of methylation of the studied microRNA genes in the tumor and in the normal tissue.

**Conclusions.** Our results, which contribute to the understanding of molecular mechanisms involved in NSCLC development, can be used in the development of new diagnostic and prognostic approaches in clinical oncology.

#### Keywords

microRNA, methylation, panel of markers, non-small cell lung cancer

Submitted: 22.02.2024

Revised: 29.03.2024

Accepted: 15.04.2024

## For citation

Loginov V.I., Gubenko M.S., Burdenny A.M., Pronina I.V., Postnikov P.V., Efimova Yu.A., Radus F.V., Mochalova E.S., Kazubskaya T.P. Methylation of a group of microRNA genes as a marker for the diagnosis and prognosis of non-small cell lung cancer. *Tonk. Khim. Tekhnol.* = *Fine Chem. Technol.* 2024;19(3):232–239. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-232-239>

## ВВЕДЕНИЕ

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) является наиболее распространенным (до 85%) видом рака легкого. Сложность в диагностике НМРЛ связана с его гетерогенностью (диагностируют аденокарциному легкого, плоскоклеточный рак легкого, крупноклеточный рак легкого и др.) и низким уровнем выявления на ранних стадиях. НМРЛ обладает высоким метастатическим потенциалом. Отмечено, что до 40% выявленных случаев НМРЛ определялись как метастатические опухоли. По этой причине в диагностике и прогнозе данного вида онкозаболеваний важен молекулярный подход [1].

На данный момент не существует единой системы молекулярной диагностики и прогноза, позволяющей определять развитие онкологического процесса на ранних стадиях и оценить его метастатический потенциал. Известно, что для каждого вида рака, как и любого многофакторного заболевания, существуют как генетические, так и эпигенетические триггеры развития [2]. К наиболее значимым эпигенетическим регуляторным механизмам, динамично и специфично влияющим на процессы в клетке, включая экспрессию генов, можно отнести механизм метилирования ДНК, который в aberrантном состоянии становится процессом, провоцирующим развитие опухоли. В основе aberrантного метилирования лежат два разнонаправленных события. С одной стороны, происходит гиперметилирование генов-супрессоров опухолевого роста, с другой — деметилирование онкогенов. Этот процесс связан с регуляцией множества генов, в том числе генов микроРНК, которые сами являются регуляторным элементом системы экспрессии генов [3].

МикроРНК относятся к группе коротких некодирующих РНК, выполняющих в организме регуляторную функцию на посттранскрипционном уровне. Они вовлечены во множество клеточных процессов, включая пролиферацию, дифференцировку и апоптоз, нарушение которых может привести к онкогенезу [4]. Показано, что метилирование/деметилирование играет значительно большую роль в регуляции генов микроРНК, чем белок-кодирующих генов. Гиперметилирование приводит к выключению гена микроРНК, а деметилирование, напротив, к его активизации. Профили метилирования, как

и профили экспрессии, генов микроРНК оказались высокоспецифичными для опухолей разной локализации и гистологического профиля [5]. Для НМРЛ характерен специфический уровень экспрессии генов микроРНК, ассоциированный с клиническими и патологическими свойствами опухоли, однако изучение статуса метилирования генов микроРНК, влияющего на экспрессию, проводится редко. Выявление гиперметилирования ряда генов микроРНК, проявляющих свойства супрессоров опухолевого роста при НМРЛ, является одной из приоритетных задач, поскольку на основе гиперметилированных генов микроРНК можно создать систему диагностических и прогностических маркеров [6].

Целью данной работы явилось создание потенциальной системы маркеров для диагностики и прогноза НМРЛ на основании изменения уровня метилирования ряда генов микроРНК в опухоли.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

*Сбор материала.* Для анализа уровня метилирования генов микроРНК использовали 70 парных образцов опухолевой и прилежащей нормальной ткани легкого от больных с НМРЛ, проходивших лечение в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина. Образцы были отобраны в ходе планового хирургического вмешательства. Все опухоли были классифицированы в соответствии с TNM-классификацией Международного противоракового союза и гистологически верифицированы на основании критериев классификации Всемирной организации здравоохранения [7]. Диагноз поставлен на основании гистологического заключения. Клинические данные больных приведены в таблице.

В исследование брали образцы тканей НМРЛ от больных, которые до операции не получали лучевую, химио- или гормонотерапию. Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации [8].

*Выделение ДНК.* Высокомолекулярную ДНК выделяли из ткани по стандартной методике с применением фенол-хлороформной экстракции [9]. Концентрацию ДНК определяли по оптической плотности на спектрофотометре NanoDrop ND-1000 (*Thermo Fisher Scientific*, США).

**Таблица.** Клинико-патологические характеристики исследованных образцов

**Table.** Clinicopathological characteristics of the studied samples

| Клинико-патологический параметр<br>Clinicopathological parameter |                                                          | Общее количество, N = 70<br>Total number, N = 70 | %    |
|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|------|
| Гистологический тип<br>Histologic type                           | Плоскоклеточный рак легкого<br>Squamous cell lung cancer | 39                                               | 55.7 |
|                                                                  | Аденокарцинома легкого<br>Lung adenocarcinoma            | 31                                               | 44.3 |
| Стадия опухоли<br>Tumor stage                                    | I                                                        | 14                                               | 20.0 |
|                                                                  | II                                                       | 28                                               | 40.0 |
|                                                                  | III                                                      | 20                                               | 28.6 |
|                                                                  | IV                                                       | 8                                                | 11.4 |
| Степень дифференцировки<br>Degree of differentiation             | G1                                                       | 6                                                | 8.6  |
|                                                                  | G2                                                       | 35                                               | 50.0 |
|                                                                  | G3                                                       | 29                                               | 41.4 |
| Размер опухоли<br>Tumor size                                     | T1                                                       | 11                                               | 15.7 |
|                                                                  | T2                                                       | 35                                               | 50.0 |
|                                                                  | T3                                                       | 13                                               | 18.6 |
|                                                                  | T4                                                       | 11                                               | 15.7 |
| Лимфогенное метастазирование<br>Lymphatic metastasis             | N0                                                       | 29                                               | 41.4 |
|                                                                  | N1                                                       | 41                                               | 58.6 |
| Отдаленное метастазирование<br>Distant metastasis                | M0                                                       | 62                                               | 88.6 |
|                                                                  | M1                                                       | 8                                                | 11.4 |

*Определение уровня метилирования.* Уровень метилирования генов микроРНК анализировали методом количественной метил-специфичной полимеразной цепной реакции с детекцией в реальном времени (кМС-ПЦР-РВ) после проведения бисульфитной конверсии ДНК по методу, опубликованному в работе [10]. Полноту конверсии ДНК определяли с помощью контрольного локуса АСТВ (ACTin Beta) с использованием олигонуклеотидов, специфичных к неконвертированной матрице. Амплификацию проводили с использованием набора реактивов «qPCRmix-HS SYBR» согласно протоколу фирмы *Евроген* (Россия) в системе Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR Detection System (*Bio-Rad*, США). Последовательности олигонуклеотидов и условия проведения ПЦР для генов микроРНК приведены ранее [11]. В качестве контролей для неметилированных аллелей использовали коммерческий препарат ДНК #G1471 (*Promega*, США). В качестве

контроля 100%-ого метилирования использовали коммерческий препарат ДНК #SD1131 (*Thermo Fisher Scientific*, США).

*Статистическая обработка результатов* осуществлялась с использованием пакета статистических программ<sup>1</sup> «IBM SPSS Statistics 22». Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический U тест Манна-Уитни для независимых выборок. Различия считали значимыми при  $p < 0.05$ . Данные выражали в виде медианы (Me), нижнего (Q1) и верхнего (Q3) квартилей. Корреляционный анализ выполняли с использованием метода ранговой корреляции Спирмена и рассчитывали уровень его значимости [12]. Для составления панели с определенными коэффициентами чувствительности и специфичности проводили ROC-анализ (receiver operating characteristic). Различия считали значимыми и достоверными при  $p \leq 0.05$ . Ожидаемая доля ложных отклонений (false discovery rate, FDR)  $\leq 0.25$ .

<sup>1</sup> <https://software.ru/products/ibm-spss-statistics>. Дата обращения 06.03.2024. / Accessed March 6, 2024.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

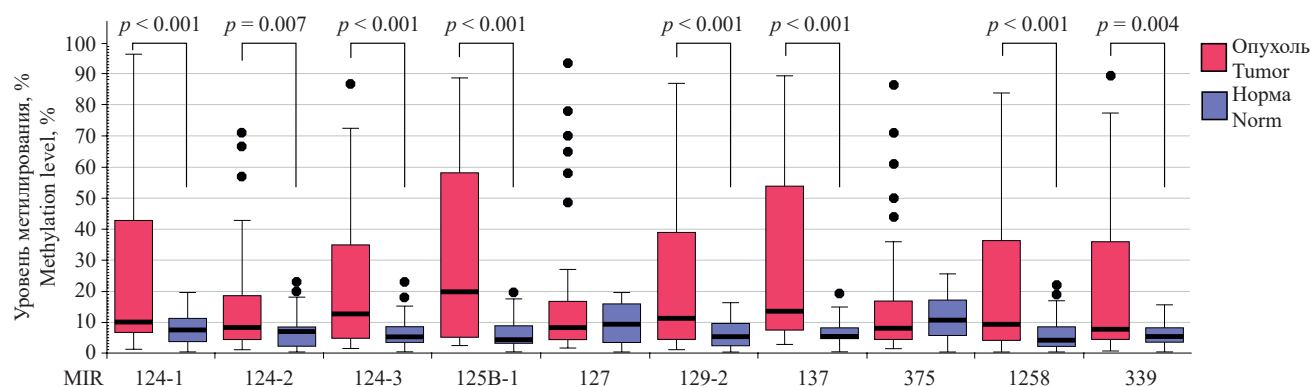
С использованием представительной выборки образцов НМРЛ (70 пар опухоль/норма) было изучено изменение уровня метилирования 10 генов микроРНК: MIR124-1, MIR124-2, MIR124-3, MIR125B-1, MIR127, MIR129-2, MIR137, MIR375, MIR1258, MIR339. Согласно результатам, статистически значимое ( $p < 0.01$ ) увеличение уровня их метилирования (рис. 1) в опухоли в сравнении с прилежащей гистологически неизменной нормой обнаружено для генов восьми из десяти микроРНК (MIR124-1/2/3, MIR127, MIR129-2, MIR137, MIR1258, MIR339). Ранее нами уже были показаны убедительные данные для других видов рака о роли гиперметилирования этих восьми микроРНК [11, 13]. Отметим, что для НМРЛ высокий уровень метилирования для гена микроРНК MIR339 выявлен впервые.

Нами отмечена корреляция уровней метилирования изученных генов микроРНК с клинико-патологическими характеристиками опухолей. Например, метилирование генов MIR125B-1, MIR1258 и MIR339 наблюдалось во всех образцах опухолей НМРЛ ( $p < 0.05$ ), независимо от гистологического типа, стадии и степени дифференцировки, наличия или отсутствия метастазов. Также нами отмечена связь гиперметилирования генов MIR124-3, MIR125B-1, MIR137 и MIR1258 с наличием метастазов в лимфатические узлы и отдаленных метастазов ( $p < 0.05$ ). С помощью проведенного ROC-анализа нами разработаны две потенциальные тест-системы для оценки развития и прогрессии НМРЛ, которые можно было бы использовать для диагностики и прогноза этого заболевания (рис. 2).

Потенциальная диагностическая панель состоит из трех маркеров: MIR125B-1, MIR1258 и MIR339 (чувствительность  $Se = 92.7$ ; специфичность  $Sp = 85.8$ ;

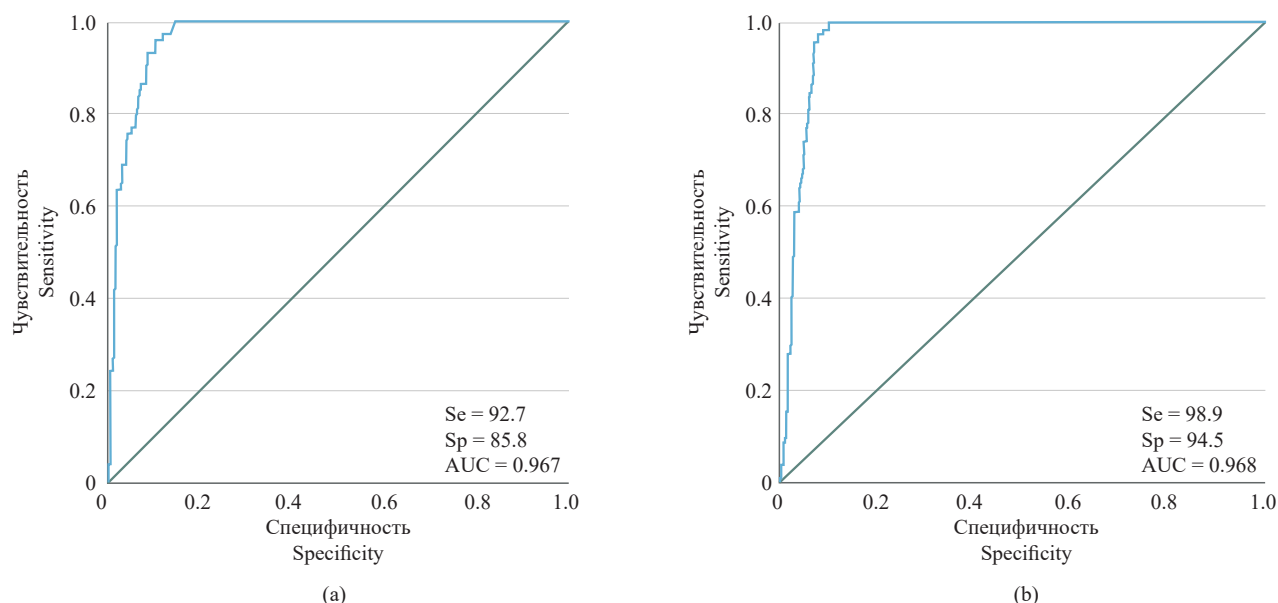
площадь под кривой (area under curve)  $AUC = 0.967$ ;  $p < 10^{-5}$ ) (рис. 2a). Потенциальная прогностическая панель состоит из четырех маркеров: MIR124-3, MIR125B-1, MIR137 и MIR1258 ( $Se = 98.9$ ;  $Sp = 94.5$ ;  $AUC = 0.968$ ;  $p = 1 \cdot 10^{-6}$ ) (рис. 2b). Обнаружение гиперметилирования всех генов микроРНК, входящих в диагностическую панель, позволяет предполагать наличие у пациента НМРЛ. В случае обнаружения метилирования всех генов, входящих в прогностическую панель, у пациента высока вероятность развития метастатического НМРЛ. Чувствительность предложенных панелей выше 90%, что делает возможным их использование в качестве скрининговых тест-систем с дальнейшим подтверждением валидированными методами. Особое внимание, с нашей точки зрения, следует обратить на прогностическую панель маркеров как обладающую высокой чувствительностью и специфичностью. Обнаружение четырех гиперметилированных генов микроРНК из этой панели может послужить сигналом необходимости дополнительного наблюдения за пациентом с целью раннего обнаружения и недопущения развития метастазов.

Надо отметить, что на данном этапе развития медицины основными диагностическими методами остаются инструментальные, биохимические и гистологические исследования биопсийного и/или резекционного материала. Этих методов очень часто не хватает для уверенной постановки диагноза. Вместе с тем, использование валидированных тест-систем, основанных на молекулярно-генетических исследованиях, могло бы существенно изменить подходы к диагностике с помощью раннего определения озлокачествления клетки и к прогнозу с помощью оценки тех или иных маркеров опухоли разных локализаций, в том числе и НМРЛ [14, 15].



**Рис. 1.** Изменение уровня метилирования десяти генов микроРНК в 70 парных образцах опухоли и гистологически неизменной ткани легкого при НМРЛ

**Fig. 1.** Changes in the methylation level of ten microRNA genes in 70 paired tumor samples and histologically unchanged lung tissue in non-small cell lung cancer (NSCLC)



**Рис. 2.** ROC-анализ потенциальных панелей маркеров на основе оценки уровня метилирования генов микроРНК для диагностики и прогноза НМРЛ: (а) панель № 1 (диагностическая): MIR125B-1, MIR1258, MIR339; (б) панель № 2 (прогностическая): MIR124-3, MIR125B-1, MIR1258, MIR137. Se — чувствительность, Sp — специфичность, AUC — площадь под кривой

**Fig. 2.** ROC analysis of potential panels of markers based on assessing the methylation level of microRNA genes for the diagnosis and prognosis of NSCLC: (a) panel 1 (diagnostic): MIR125B-1, MIR1258, MIR339; (b) panel 2 (prognostic): MIR124-3, MIR125B-1, MIR1258, MIR137. Se — sensitivity; Sp — specificity; AUC — area under the curve

Использование микроРНК в качестве тест-систем для диагностики и прогноза НМРЛ и других видов рака перспективно в связи с их тканеспецифичностью, что связывает их с конкретным течением онкологического заболевания [14].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты способствуют расширению представлений о важной роли метилирования генов микроРНК в регуляции возникновения и прогрессирования НМРЛ, а также предлагают новые потенциальные биомаркеры диагностики и прогноза и, возможно, новые терапевтические мишени для создания лекарственных средств.

## Благодарности

Работа выполнена при поддержке Программы научных исследований 2023–2025 № FGfU-2023-0001. Авторы благодарят сотрудников Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина за сбор и клинко-гистологическую характеристику образцов НМРЛ.

## Acknowledgments

The work was supported by the Scientific Research Program for 2023–2025 No. FGfU-2023-0001. The authors thank the staff of the N.N. Blokhin National Research Center

of Oncology for collecting and clinico-histological characterization of samples of non-small cell lung cancer.

## Вклад авторов

**М.С. Губенко, И.В. Пронина, П.В. Постников** — проведение эксперимента, получение экспериментальных данных.

**А.М. Бурденный** — утверждение концепции и структуры статьи.

**Ю.А. Ефимова, Ф.В. Радус, Е.С. Мочалова** — статистическая обработка полученных данных.

**В.И. Логинов** — биоинформатический анализ, подготовка иллюстративного материала.

**Т.П. Казубская** — сбор клинических образцов.

Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все соавторы.

## Authors' contributions

**M.S. Gubenko, I.V. Pronina, P.V. Postnikov** — responsible for experimental data.

**A.M. Burdenny** — concept and structure of the article.

**Yu.A. Efimova, F.V. Radus, E.S. Mochalova** — statistical data processing.

**V.I. Loginov** — bioinformatic analysis, preparation of illustrative material.

**T.P. Kazubskaya** — collection of clinical samples.

All co-authors have approved the final version of the article, checked the integrity of all sections of the article.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare no conflicts of interest.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Araghi M., Mannani R., Heidarnajad Maleki A., Hamidi A., Rostami S., Safa S.H., Faramarzi F., Khorasani S., Alimohammadi M., Tahmasebi S., Akhavan-Sigari R. Recent advances in non-small cell lung cancer targeted therapy; an update review. *Cancer Cell Int.* 2023;23(1):162. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-02990-y>
2. Sarhadi V.K., Armengol G. Molecular Biomarkers in Cancer. *Biomolecules.* 2022;12(8):1021. <https://doi.org/10.3390/biom12081021>
3. Li Y. Modern epigenetics methods in biological research. *Methods.* 2021;187:104–113. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.06.022>
4. Eshkoo S.A., Ghodsian N., Akhtari-Zavare M. MicroRNAs influence and longevity. *Egypt. J. Med. Hum. Genet.* 2022;23(1):105. <https://doi.org/10.1186/s43042-022-00316-7>
5. Логинов В.И., Рыков С.В., Фридман М.В., Брага Э.А. Метилирование генов микроРНК и онкогенез. *Биохимия.* 2015;80(2):184–203. [Loginov V.I., Rykov S.V., Fridman M.V., *et al.* Methylation of miRNA genes and oncogenesis. *Biochemistry (Moscow).* 2015;80(2):145–162. <https://doi.org/10.1134/S0006297915020029> ] [Original Russian Text: Loginov V.I., Rykov S.V., Fridman M.V., Braga E.A. Methylation of miRNA genes and oncogenesis. *Biokhimiya.* 2015;80(2):184–203 (in Russ.).]
6. Liao J., Shen J., Leng Q., Qin M., Zhan M., Jiang F. MicroRNA-based biomarkers for diagnosis of non-small cell lung cancer (NSCLC). *Thorac. Cancer.* 2020;11(3):762–768. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13337>
7. Brierley J.D., Gospodarowicz M.K., Wittekind C. (Eds.). *TNM Classification of Malignant Tumours.* 8th ed. John Wiley & Sons; 2017. 272 p.
8. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013;310(20):2191–2194. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>
9. Логинов В.И., Бурденный А.М., Филиппова Е.А., Пронина И.В., Лукина С.С., Казубская Т.П., Карпухин А.В., Ходырев Д.С., Брага Э.А. Аберрантное метилирование 21 гена микроРНК при раке молочной железы: наборы генов, связанных с показателями прогрессии, и система маркеров для прогноза лимфогенного метастазирования. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2021;172(7):81–86. <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2021-172-7-81-86>
- [Loginov V.I., Burdennyy A.M., Filippova E.A., *et al.* Aberrant Methylation of 21 MicroRNA Genes in Breast Cancer: Sets of Genes Associated with Progression and a System of Markers for Predicting Metastasis. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;172(1):67–71. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05333-x> ]
- [Original Russian Text: Loginov V.I., Burdennyy A.M., Filippova E.A., Pronina I.V., Lukina S.S., Kazubskaya T.P., Karpukhin A.V., Khodyrev D.S., Braga E.A. Aberrant Methylation of 21 MicroRNA Genes in Breast Cancer: Sets of Genes Associated with Progression and a System of Markers for Predicting Metastasis. *Byulleten' Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny.* 2021;172(7):81–86 (in Russ.). <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2021-172-7-81-86> ]
10. Loginov V.I., Pronina I.V., Burdennyy A.M., Filippova E.A., Kazubskaya T.P., Kushlinsky D.N., Utkin D.O., Khodyrev D.S., Kushlinskii N.E., Dmitriev A.A., Braga E.A. Novel miRNA genes deregulated by aberrant methylation in ovarian carcinoma are involved in metastasis. *Gene.* 2018;662:28–36. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.04.005>
11. Ключихина Е.С., Шершов В.Е., Кузнецова В.Е., Лапа С.А., Чудинов А.В. Особенности оптимизации мультипраймерной ПЦР для выявления возбудителей инфекционной пневмонии человека. *Тонкие химические технологии.* 2021;16(3):225–231. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2021-16-3-225-231> [Klochikhina E.S., Shershov V.E., Kuznetsova V.E., Lapa S.A., Chudinov A.V. Specificities of multiprimer polymerase chain reaction optimization for the detection of infectious pneumonia agents in human. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2021;16(3):225–231 (Russ., Eng.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2021-16-3-225-231> ]
12. Pronina I.V., Loginov V.I., Burdennyy A.M., Fridman M.V., Senchenko V.N., Kazubskaya T.P., Kushlinskii N.E., Dmitriev A.A., Braga E.A. DNA methylation contributes to deregulation of 12 cancer-associated microRNAs and breast cancer progression. *Gene.* 2017;604:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.12.018>
13. Shانهbandi D., Asadi M., Seyedrezazadeh E., Zafari V., Shekari N., Akbari M., Rahbarnia L., Zarredar H. MicroRNA-Based Biomarkers in Lung Cancer: Recent Advances and Potential Applications. *Curr. Mol. Med.* 2023;23(7):648–667. <https://doi.org/10.2174/2772432817666220520085719>
14. Xu L., Huang X., Lou Y., Xie W., Zhao H. Regulation of apoptosis, autophagy and ferroptosis by non-coding RNAs in metastatic non-small cell lung cancer (Review). *Exp. Ther. Med.* 2022;23(5):352. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11279>

### Об авторах

**Логинов Виталий Игоревич**, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики, ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (125315, Россия, Балтийская ул., д. 8); старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики сложно наследуемых заболеваний, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (115522, Россия, Москва, ул. Москворечье, д. 1). E-mail: loginov7w@gmail.com. Scopus Author ID 7102884943, SPIN-код РИНЦ 6249-5883, <https://orcid.org/0000-0003-2668-8096>

**Губенко Марина Сергеевна**, младший научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики, ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (125315, Россия, Балтийская ул., д. 8). E-mail: artz\_marina@mail.ru. SPIN-код РИНЦ 4992-7397

**Бурдённий Алексей Михайлович**, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики, ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (125315, Россия, Балтийская ул., д. 8); младший научный сотрудник лаборатории химической физики биоаналитических процессов, ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук» (ИБФХ РАН) (119334, Россия, Москва, ул. Косыгина, д. 4). E-mail: burdennyu@gmail.com. Scopus Author ID 56049452900, SPIN-код РИНЦ 4429-4288, <https://orcid.org/0000-0002-9398-8075>

**Пронина Ирина Валерьевна**, к.б.н., главный специалист отдела допингового контроля, Национальная антидопинговая лаборатория (Институт), Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (105005, Россия, Москва, Елизаветинский переулок, д. 10, стр. 1); старший научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики, ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (125315, Россия, Балтийская ул., д. 8). E-mail: zolly\_sten@mail.ru. Scopus Author ID 8161867200, ResearcherID G-3951-2014, ResearcherID ABD-8018-2021, SPIN-код РИНЦ 5706-2369, <https://orcid.org/0000-0002-0423-7801>

**Постников Павел Викторович**, к.х.н., начальник отдела допингового контроля, Национальная антидопинговая лаборатория (Институт), Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (105005, Россия, Москва, Елизаветинский переулок, д. 10, стр. 1). E-mail: postnikov@dopingtest.ru. Scopus Author ID 57021610900, SPIN-код РИНЦ 7251-9937, <https://orcid.org/0000-0003-3424-0582>

**Ефимова Юлия Александровна**, к.х.н., доцент кафедры аналитической химии им. И.П. Алимарина, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: efimova\_yulia@bk.ru. Scopus Author ID 25228417800, <https://orcid.org/0000-0002-3582-0012>

**Радус Федор Валерьевич**, ассистент кафедры аналитической химии им. И.П. Алимарина, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: radus20@mail.ru. Scopus Author ID 57890564100, <https://orcid.org/0000-0003-0938-9609>

**Мочалова Елена Сергеевна**, исполняющий обязанности директора Национальной антидопинговой лаборатории (Института), Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (105005, Россия, Москва, Елизаветинский переулок, д. 10, стр. 1). E-mail: mochalova@dopingtest.ru.

**Казубская Татьяна Павловна**, д.м.н., врач-онкогенетик, старший научный сотрудник лаборатории клинической онкогенетики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (115478, Россия, Москва, Каширское шоссе, д. 23). E-mail: oncogen5@ronc.ru. Scopus Author ID 6602563950, ResearcherID F-9084-2019, SPIN-код РИНЦ 5224-5820, <https://orcid.org/0000-0001-5856-0017>

## About the authors

**Vitaly I. Loginov**, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Pathogenomics and Transcriptomics Laboratory, Institute of General Pathology and Pathophysiology (8, ul. Baltiiskaya, Moscow, 125315, Russia); Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics of Complex Inherited Diseases, Research Center for Medical Genetics (1, Moskvorechye ul., Moscow, 115552, Russia). E-mail: loginov7w@gmail.com. Scopus Author ID 7102884943, RSCI SPIN-code 6249-5883, <https://orcid.org/0000-0003-2668-8096>

**Marina S. Gubenko**, Junior Researcher, Pathogenomics and Transcriptomics Laboratory, Institute of General Pathology and Pathophysiology (8, ul. Baltiiskaya, Moscow, 125315, Russia). E-mail: artz\_marina@mail.ru. RSCI SPIN-code 4992-7397

**Alexey M. Burdennyi**, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Pathogenomics and Transcriptomics Laboratory, Institute of General Pathology and Pathophysiology (8, ul. Baltiiskaya, Moscow, 125315, Russia); Junior Researcher, Laboratory of Chemical Physics of Bioanalytical Processes, Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences (4, Kosygina ul., Moscow, 119334, Russia). E-mail: burdennyu@gmail.com. Scopus Author ID 56049452900, RSCI SPIN-code 4429-4288, <https://orcid.org/0000-0002-9398-8075>

**Irina V. Pronina**, Cand. Sci. (Biol.), Main Specialist, Doping Control Department, National Anti-Doping Laboratory (Institute), Lomonosov Moscow State University (10-1, Elizavetinskii per., Moscow, 105005, Russia); Senior Researcher, Pathogenomics and Transcriptomics Laboratory, Institute of General Pathology and Pathophysiology (8, ul. Baltiiskaya, Moscow, 125315, Russia). E-mail: zolly\_sten@mail.ru. Scopus Author ID 8161867200, ResearcherID G-3951-2014, ResearcherID ABD-8018-2021, RSCI SPIN-code 5706-2369, <https://orcid.org/0000-0002-0423-7801>

**Pavel V. Postnikov**, Cand. Sci. (Chem.), Head of the Doping Control Department, National Anti-Doping Laboratory (Institute), Lomonosov Moscow State University (10-1, Elizavetinskii per., Moscow, 105005, Russia). E-mail: postnikov@dopingtest.ru. Scopus Author ID 57021610900, RSCI SPIN-code 7251-9937, <https://orcid.org/0000-0003-3424-0582>

**Yuliya A. Efimova**, Cand. Sci. (Chem.), Assistant Professor, I.P. Alimarin Department of Analytical Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: efimova\_yulia@bk.ru. Scopus Author ID 25228417800, <https://orcid.org/0000-0002-3582-0012>

**Fedor V. Radus**, Assistant, I.P. Alimarin Department of Analytical Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: radus20@mail.ru. Scopus Author ID 57890564100, <https://orcid.org/0000-0003-0938-9609>

**Elena S. Mochalova**, Acting Director, National Anti-Doping Laboratory (Institute), Lomonosov Moscow State University (10-1, Elizavetinskii per., Moscow, 105005, Russia). E-mail: mochalova@dopingtest.ru

**Tatiana P. Kazubskaya**, Dr. Sci. (Med.), Senior Scientist of Laboratory of Clinical Oncogenetics, Blokhin National Medical Research Center of Oncology (23, Kashirskoe sh., Moscow, 115478, Russia). E-mail: oncogen5@ronc.ru. Scopus Author ID 6602563950, ResearcherID F-9084-2019, RSCI SPIN-code 5224-5820, <https://orcid.org/0000-0001-5856-0017>

УДК 60

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-240-257>

EDN JHCZWL



## НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

# Разработка технологии культивирования клеточной линии, продуцирующей однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом IgG1 человека

Д.М. Полянский<sup>1,2,\*</sup>, Е.И. Рябова<sup>1,3</sup>, А.А. Деркаев<sup>1</sup>, Н.С. Старков<sup>1</sup>, И.С. Кашапова<sup>1</sup>,  
Д.В. Щебляков<sup>1</sup>, А.П. Карпов<sup>1</sup>, И.Б. Есмагамбетов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи,  
Министерство Здравоохранения Российской Федерации, Москва, 123098 Россия

<sup>2</sup> МИПЭА — Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий  
им. М.В. Ломоносова), Москва, 119571 Россия

<sup>3</sup> Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА им. К.И. Скрябина,  
Москва, 109472 Россия

\* Автор для переписки, e-mail: [polanskiydmity15@gmail.com](mailto:polanskiydmity15@gmail.com)

## Аннотация

**Цели.** Разработать эффективную технологию культивирования клеток яичников китайского хомячка (CHO), стабильно продуцирующих антитело GamP2C5, которое является компонентом I кандидатного препарата ГамКовиМаб для экстренной профилактики и терапии инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2; подобрать оптимальные параметры культивирования и масштабировать данную технологию на производстве.

**Методы.** Исследование проводилось на культуре клеток CHO GamP2C5 (клон 78), продуцирующей однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом IgG1 человека GamP2C5; были использованы различные среды для культивирования и питательные добавки. Культивирование клеток проходило в колбах Эрленмейера, биореакторе с волновым типом перемешивания Biostat® RM 20 basic, минибиореакторах Ambr® 250, биореакторе с осевым типом перемешивания STR 200.

**Результаты.** При помощи молекулярно-генетических и биотехнологических методов был получен стабильный клон-продуцент антитела CHO GamP2C5 (клон 78), и отработана методика культивирования полученного клона-продуцента на различных питательных средах. Были выбраны наиболее подходящие режимы культивирования, питательная среда и оптимальные подпитки. Данная технология была отработана в лабораторных условиях в 10-литровом реакторе и успешно масштабирована на производстве в филиале «Медгамал» Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи.

**Выводы.** В данном исследовании показана принципиальная возможность разработки и масштабирования технологии культивирования для получения препарата на основе модифицированного однодоменного антитела с вируснейтрализующей активностью против различных штаммов вируса SARS-CoV-2.

## Ключевые слова

моноклональные антитела, однодоменные антитела, тяжелоцепочечные антитела, культивирование, клетки CHO, масштабирование биопроцесса

**Поступила:** 12.12.2023  
**Доработана:** 08.02.2024  
**Принята в печать:** 17.04.2024

## Для цитирования

Полянский Д.М., Рябова Е.И., Деркаев А.А., Старков Н.С., Кашапова И.С., Щебляков Д.В., Карпов А.П., Есмагамбетов И.Б. Разработка технологии культивирования клеточной линии, продуцирующей однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом IgG1 человека. *Тонкие химические технологии*. 2024;19(3):240–257. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-240-257>

## RESEARCH ARTICLE

# Development of technology for culturing a cell line producing a single-domain antibody fused with the Fc fragment of human IgG1

Dmitry S. Polyansky<sup>1,2,✉</sup>, Ekaterina I. Ryabova<sup>1,3</sup>, Artem A. Derkaev<sup>1</sup>, Nikita S. Starkov<sup>1</sup>, Irina S. Kashapova<sup>1</sup>, Dmitry V. Shcheblyakov<sup>1</sup>, Andrey P. Karpov<sup>1</sup>, Ilias B. Esmagambetov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 123098 Russia

<sup>2</sup> MIREA — Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, 119571 Russia

<sup>3</sup> Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — K.I. Skryabin MVA, Moscow, 109472 Russia

✉ Corresponding author; e-mail: [polanskiydm15@gmail.com](mailto:polanskiydm15@gmail.com)

## Abstract

**Objectives.** To develop an effective technology for the cultivation of Chinese hamster ovary (CHO) cells stably producing GamP2C5 antibody which is a component I of the GamCoviMab candidate drug for emergency prevention and therapy of infection caused by SARS-CoV-2 virus; to select optimal cultivation parameters and to scale this technology in production.

**Methods.** The study was performed on CHO GamP2C5 (clone 78) cell culture, producing a single-domain antibody fused to the Fc fragment of human IgG1 GamP2C5. Different culture media and supplements were used. Cells were cultured in Erlenmeyer flasks, Biostat<sup>®</sup> RM 20 wave-mixed bioreactor, Ambr<sup>®</sup> 250 mini bioreactors, STR 200 stirred-tank bioreactor.

**Results.** Using molecular-genetic and biotechnological methods, a stable clone producer of CHO GamP2C5 antibody, clone 78, was obtained. Then a technique was worked out for the cultivation of the obtained clone producer on different culture media. The most suitable cultivation regimes, culture media, and optimal supplements were selected. This technology was tested in laboratory conditions in a 10-L reactor, and then successfully scaled up for production at the *MedGamal* Branch of the Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology.

**Conclusions.** This study demonstrates the fundamental feasibility of developing and scaling up a culture technology, in order to produce a drug based on a modified single-domain antibody with virus neutralizing activity against different strains of SARS-CoV-2 virus.

## Keywords

monoclonal antibodies, single-domain antibodies, heavy chain antibodies, cultivation, CHO cells, bioprocess scaling

**Submitted:** 12.12.2023

**Revised:** 08.02.2024

**Accepted:** 17.04.2024

## For citation

Polyansky D.S., Ryabova E.I., Derkaev A.A., Starkov N.S., Kashapova I.S., Shcheblyakov D.V., Karpov A.P., Esmagambetov I.B. Development of technology for culturing a cell line producing a single-domain antibody fused with the Fc fragment of human IgG1. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2024;19(3):240–257. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-240-257>

## ВВЕДЕНИЕ

В середине 1970-х гг. после разработки гибридной технологии моноклональные антитела [1] стали исследоваться в качестве потенциальных средств терапии различных заболеваний [2]. За последнее десятилетие было разработано несколько десятков препаратов на основе антител (Адалимуаб, Пембролизумаб, Ниволумаб), некоторые из которых находятся на вершине рейтинга самых продаваемых лекарственных средств по всему миру [3]. Моноклональные антитела применяются для лечения широкого спектра человеческих заболеваний, в том числе различных видов онкозаболеваний [4]. Кроме того, терапевтические антитела эффективны для терапии рассеянного склероза [5], болезни Крона [6], ревматоидного артрита [7], а также бактериальных и вирусных инфекций [8].

Пандемия COVID-19 оказала огромное влияние на мобилизацию усилий вокруг получения лекарственных препаратов и вакцин и развитие стратегий по борьбе с инфекционными заболеваниями. Моноклональные антитела представляют собой самый большой и быстрорастущий класс фармацевтических соединений, которые показали терапевтический потенциал в лечении вирусных инфекций, в том числе против вируса SARS-CoV-2.

За последние годы количество препаратов на основе моноклональных антител против вирусных инфекций, особенно против хронических [9], заметно возросло. Моноклональные антитела могут быть использованы для подавления распространения инфекции посредством прямой вируснейтрализующей активности [10]. На сегодняшний день одобрено несколько противовирусных препаратов, имеющих высокую эффективность. Среди них препарат Касиривимаб/имдевимаб (REGEN-COV) — первый лекарственный препарат на основе моноклональных антител, который может применяться как для лечения, так и для экстренной профилактики COVID-19 [11].

Одним из частных случаев моноклональных антител являются тяжелоцепочечные антитела семейства верблюдовых, которые лишены легких цепей, а вариабельные фрагменты представлены одним доменом тяжелой цепи. Кроме того, вариабельные фрагменты тяжелой цепи могут применяться самостоятельно. Такие модификации носят название «nanobodies», или однодоменные антитела, или VHH [12].

Однодоменные антитела представляют собой относительно новый класс препаратов, которые обнаружили случайно во время анализа верблюжьей сыворотки. Благодаря своей структуре и свойствам

наноантитела способны эффективно связываться с труднодоступными для классических антител эпитопами антигенов, предотвращать взаимодействие рецепторов с лигандами или же доставлять к целевым клеткам вещества, выполняющие различные функции. В то же время, недостатки наноантител связаны с их быстрым выведением почками и отсутствием самостоятельной эффекторной функции вследствие отсутствия Fc-фрагмента. Существует множество работ, демонстрирующих успешное применение однодоменных антител и их модификаций для терапии и профилактики различных инфекционных заболеваний вирусной и невирусной этиологии [13–18]. Для улучшения фармакокинетических и эффекторных свойств наноантител, а также для увеличения их авидности за счет димеризации молекулы, применяется модификация Fc-фрагментом IgG человека [13, 15, 17].

В Национальном исследовательском центре эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Министерства Здравоохранения Российской Федерации (НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России) получено однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом человеческого иммуноглобулина класса G1, обладающее широким спектром вируснейтрализующей активности в отношении вируса SARS-CoV-2 и являющееся компонентом I кандидатного препарата ГамКовиМаб для терапии инфекции COVID-19. Для производства данного препарата предстояла разработка масштабируемой технологии культивирования клеток и хроматографической очистки целевого антитела. В данной статье описаны полученные нами результаты по разработке стратегии подбора оптимальных параметров для процессов культивирования для производства однодоменного антитела, слитого с Fc-фрагментом человеческого иммуноглобулина класса G. Также представлены данные по масштабированию в лабораторных условиях в 10 л реакторе и масштабированию на GMP производстве в биореакторе с осевым типом перемешивания с рабочим объемом 200 л.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Материалы

Культура клеток яичников китайского хомячка (Chinese hamster ovary (CHO) cells) GamP2C5 (клон 78), продуцирующая однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом IgG1 человека GamP2C5 получена в лаборатории иммунобиотехнологии НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России на основе клеток CHO-K1 (Коллекция культур и тканей НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России).

**Среды для культивирования:** ActiPro™ (Cytiva, США), Fujifilm BalanCD® CHO Growth A (Irvine Scientific, США), Cosmos (Flora Bio, Турция), SFM4CHO (Cytiva, США), Dynamis™ AGT™ (Thermo Fisher Scientific, США), Capricorn (Capricorn Scientific, Германия).

**Питательные добавки:** Cell Boost 6 Supplement (Cytiva, США), Cell Boost 5 Supplement (Cytiva, США), Cell Boost 7 A (Cytiva, США), Cell Boost 7 B (Cytiva, США), Cosmos Flora Bio Feed A (Flora Bio, Турция), Cosmos Flora Bio Feed B (Flora Bio, Турция), Capricorn's CHO Feed 1 (Capricorn Scientific, Германия), Capricorn's CHO Feed 2 (Capricorn Scientific, Германия). Биосенсоры «Protein A (ProA) Biosensors» (Forte Biosciences, США).

**Емкости для культивирования:** колбы Эрленмейера объемом 250 мл (Corning, США), одноразовые минибиореакторы для системы Ambr® 250 Disposable bioreactors (Sartorius, Германия), одноразовые культуральные мешки: Flexsafe® RM 20 opt (Sartorius, Германия), Flexsafe® STR 200 (Sartorius, Германия).

## Оборудование

Автоматический счетчик клеток TC20 Cell Counter (Bio-Rad, США), шейкер-инкубатор Celltron (Infors HT, Швейцария), биореактор с волновым типом перемешивания Biostat® RM 20 basic (Sartorius, Германия), минибиореактор Ambr® 250 (Sartorius, Германия), биореактор с осевым типом перемешивания STR 200 (Sartorius, Германия), биоанализатор Cedex® Bio Analyzer (Roche, Швейцария), pH-метр Seven Compact S210 (METTLER TOLEDO, США), анализатор молекулярных взаимодействий Octet® RED 96 (Forte Biosciences, США).

## Методы

### Измерение клеточной плотности

Производили отбор 20 мкл суспензионной культуры клеток CHO. Смешивали полученную клеточную суспензию с раствором трипанового синего (кислый анилиновый краситель, применяемый при подсчете числа погибших клеток в суспензии, которые, в отличие от живых, окрашиваются в синий цвет) в соотношении 1 : 1. Общий объем окрашенной суспензии должен быть не менее 30 мкл для наполнения двух камер слайда. Перемещали окрашенную суспензию пипетированием. Набирали автоматической пипеткой 10 мкл окрашенной суспензии и, держа пипетку под углом 45°, плавно вносили суспензию в каждую из камер слайда. Слайды, полностью заполненные окрашенными клетками,

перемещались в автоматический счетчик клеток TC20 Cell Counter для измерения клеточной плотности.

### Измерение концентрации антител

Количество антител в образцах определяли методом биослойной интерферометрии (BLI) с использованием системы Octet® RED96e (Forte Biosciences, США) и биосенсоров с иммобилизованным белком А (Forte Biosciences, США), согласно протоколу фирмы производителя. В качестве стандартных образцов с известными концентрациями использовали растворы антител GamP2C5, полученные ранее при помощи стабильной трансфекции и очищенные методом аффинной хроматографии на сорбенте Mabselect SuRe™ (Cytiva, США), как ранее описано [13, 15, 17].

### Измерение остаточных метаболитов

Концентрацию основных нутриентов (глюкозы, глутамина и глутамата) и метаболитов (лактата и аммония) в образцах определяли при помощи биоанализатора Cedex® Bio Analyzer (Roche, Швейцария) согласно протоколу фирмы производителя.

### Культивирование клеток

Клетки культивировали в колбах Эрленмейера, а также в биореакторах с волновым и осевым типом перемешивания. Для подбора оптимальных условий использовались питательные среды в комбинации с питательными добавками (табл. 1).

### Культивирование клеток в колбах Эрленмейера

Суспензионную культуру клеток CHO GamP2C5 (клон 78) вели в колбах Эрленмейера с вентилируемой крышкой объемами 250 мл; начальный объем клеточной суспензии 30 мл; исходная концентрация 0.3 млн/мл. Начиная с третьего дня культивирования вносили питательные добавки в объеме, рекомендованном производителем. Культивирование проводили при 37°C, 80% влажности и 5% CO<sub>2</sub>, со скоростью перемешивания платформы 110–130 об/мин при амплитуде 25 мм, глюкозу поддерживали на уровне 4.5–5.0 г/л. При необходимости поддерживали pH на уровне 6.9–7.4 с помощью 7.5% раствора бикарбоната натрия (Labochem International, Германия).

### Культивирование клеток в волновом биореакторе Biostat® RM 20

Культивирование суспензии вели на биореакторе с волновым типом перемешивания с рабочим объемом до 10 л (табл. 2).

**Таблица 1.** План эксперимента

**Table 1.** Plan of experiment

| Номер эксперимента<br>Experiment number | Питательная среда<br>Media | Питательная добавка<br>Supplement | Емкости и оборудование<br>Containers and equipment     | Объем, л<br>Volume, L |
|-----------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------|
| 1                                       | SFM4CHO                    | Cell Boost 6                      | Колбы Эрленмейера<br>Erlenmeyer flasks                 | 0.25                  |
| 2                                       | ActiPro™                   | Cell Boost 7A                     | Колбы Эрленмейера<br>Erlenmeyer flasks                 | 0.25                  |
|                                         |                            |                                   | Биореактор Biostat® RM 20<br>Biostat® RM 20 bioreactor | 10                    |
|                                         |                            |                                   | Минибиореактор Ambr® 250<br>Ambr® 250 mini bioreactor  | 0.20                  |
|                                         |                            |                                   | Биореактор STR 200<br>Bioreactor STR 200               | 200                   |
| 3                                       | BalanCD®                   | Cell Boost 7A                     | Колбы Эрленмейера<br>Erlenmeyer flasks                 | 0.25                  |
|                                         |                            | Cell Boost 7B                     | Биореактор Biostat® RM 20<br>Biostat® RM 20 bioreactor | 10                    |
| 4                                       | Cosmos                     | Feed A                            | Биореактор Biostat® RM 20<br>Biostat® RM 20 bioreactor | 0.25                  |
|                                         |                            | Feed B                            | Колбы Эрленмейера<br>Erlenmeyer flasks                 | 10                    |
| 5                                       | Capricorn                  | Feed 1                            | Колбы Эрленмейера<br>Erlenmeyer flasks                 | 0.25                  |
|                                         |                            | Feed 2                            | Биореактор Biostat® M 20<br>Biostat® RM 20 bioreactor  |                       |
| 6                                       | Dynamis™ AGT™              | Cell Boost 7A                     | Колбы Эрленмейера<br>Erlenmeyer flasks                 | 0.25                  |
|                                         |                            | Cell Boost 7B                     |                                                        |                       |

**Таблица 2.** Параметры процесса культивирования в волновом биореакторе RM 20

**Table 2.** Parameters of the cultivation process in the Biostat® RM 20 wave-mixed bioreactor

| Параметр<br>Parameter                                                                               | Значение<br>Value              |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| Температура<br>Temperature                                                                          | 37.0 ± 1.0°C                   |
| Растворенный кислород, %<br>Dissolved oxygen, %                                                     | Не ниже 40<br>No lower than 40 |
| pH                                                                                                  | 6.8–7.5                        |
| Концентрация CO <sub>2</sub> в газовой фазе, %<br>CO <sub>2</sub> concentration in the gas phase, % | 5.0 ± 2.0                      |
| Угол наклона платформы, °<br>Platform tilt angle, °                                                 | 6–10                           |
| Частота качания платформы, кач/мин<br>Platform swing frequency, swing/min                           | 14–30                          |
| Объемный расход газовой смеси, л/мин<br>Volumetric flow rate of gas mixture, L/min                  | 0.2–0.8                        |

Начальные рабочие объемы составляли 25–30% от конечного объема, минимальная концентрация 0.3 млн/мл. На третий день культивирования разбавляли инокулят свежей питательной средой до 65–70% от конечного объема. Начиная с пятого дня культивирования вносилась питательная добавка в концентрации согласно инструкции производителя. Кроме того, регулировали pH (6.8–7.5), добавляя при необходимости бикарбонат натрия (*Labochem International*, Германия). Концентрация глюкозы поддерживалась на уровне 4.5–5.0 г/л, поэтому при необходимости использовали раствор глюкозы (*Merck*, США). Для получения максимального содержания целевого продукта применяли изменение температурного параметра и pH в момент стационарной фазы культивирования клеток (табл. 3).

**Таблица 3.** Параметры процесса культивирования в зависимости от эксперимента в волновом биореакторе RM 20

**Table 3.** Parameters of the cultivation process depending on the experiment in the Biostat® RM 20 wave-mixed bioreactor

| Параметр<br>Parameter                                                                               | Эксперимент<br>Experiment |      |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|------|------|
|                                                                                                     | 1                         | 2    | 3    |
| Температура, °C<br>Temperature, °C                                                                  | 37.0                      | 33.0 | 37.0 |
| Растворенный кислород, %<br>Dissolved oxygen, %                                                     | 40                        | 40   | 40   |
| pH                                                                                                  | 7.2                       | 7.2  | 6.8  |
| Концентрация CO <sub>2</sub> в газовой фазе, %<br>CO <sub>2</sub> concentration in the gas phase, % | 5.0                       | 5.0  | 5.0  |
| Угол наклона платформы, °<br>Platform tilt angle, °                                                 | 7                         | 7    | 7    |
| Частота качания платформы, кач/мин<br>Platform swing frequency, swing/min                           | 15                        | 15   | 15   |
| Объемный расход газовой смеси, л/мин<br>Volumetric flow rate of gas mixture, L/min                  | 0.5                       | 0.5  | 0.5  |

Культивирование клеток  
в минибиореакторах Ambr® 250

Культивирование суспензии вели в минибиореакторах с осевым типом перемешивания с рабочим объемом до 250 мл. Начальные рабочие объемы составляли 25–30% от конечного объема, минимальная концентрация 0.6 млн/мл. На третий день культивирования разбавляли инокулят свежей питательной

средой до 65–70% от конечного объема. Начиная с пятого дня культивирования вносилась питательная добавка в концентрации согласно инструкции производителя. Поддерживали pH (6.8–7.5), добавляя при необходимости бикарбонат натрия (*Labochem International*, Германия). Концентрация глюкозы поддерживалась на уровне 4.5–5.0 г/л, поэтому при необходимости использовали раствор глюкозы (*Merck*, США). Для получения максимального содержания целевого белка применяли изменение температурного параметра и pH в ходе культивирования (табл. 4).

**Таблица 4.** Параметры процесса культивирования в зависимости от эксперимента в минибиореакторе Ambr® 250

**Table 4.** Parameters of the cultivation process depending on the experiment in the Ambr® 250 mini bioreactor

| Параметр<br>Parameter                                                                               | Эксперимент<br>Experiment |         |         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------|---------|
|                                                                                                     | 1                         | 2       | 3       |
| Температура, °C<br>Temperature, °C                                                                  | 37.0                      | 33.0    | 37.0    |
| Растворенный кислород, %<br>Dissolved oxygen, %                                                     | 40                        | 40      | 40      |
| pH                                                                                                  | 7.2                       | 7.2     | 6.8     |
| Концентрация CO <sub>2</sub> в газовой фазе, %<br>CO <sub>2</sub> concentration in the gas phase, % | 7.0                       | 7.0     | 7.0     |
| Обороты, об/мин<br>Stirrer, rpm                                                                     | 300–500                   | 300–500 | 300–500 |
| Верхняя подача воздуха, мл/мин<br>Air overlay, mLpm                                                 | 4                         | 4       | 4       |
| Барботаж, мл/мин<br>Air sparger, mL/min                                                             | 4                         | 4       | 4       |
| Подача кислорода, мл/мин<br>O <sub>2</sub> sparger, mLpm                                            | 0–2                       | 0–2     | 0–2     |

Культивирование клеток в биореакторе  
с осевым типом перемешивания STR 200

Культивирование суспензии вели на биореакторе с осевым типом перемешивания с рабочим объемом 200 л. Начальные рабочие объемы составляли 25–30% от конечного объема, минимальная концентрация 0.5 млн/мл. На третий день культивирования разбавляли инокулят свежей питательной средой

до 65–70% от конечного объема. Начиная с пятого дня культивирования вносилась питательная добавка в концентрации согласно инструкции производителя. Поддерживали pH (6.8–7.5), добавляя при необходимости бикарбонат натрия (*Labochem International*, Германия). Концентрация глюкозы поддерживалась на уровне 4.5–5.0 г/л, поэтому при необходимости использовали раствор глюкозы (*Merck*, США). Для получения максимального содержания целевого антитела применяли изменение температурного параметра в ходе культивирования (табл. 5).

**Таблица 5.** Параметры процесса культивирования в биореакторе с осевым типом перемешивания STR 200

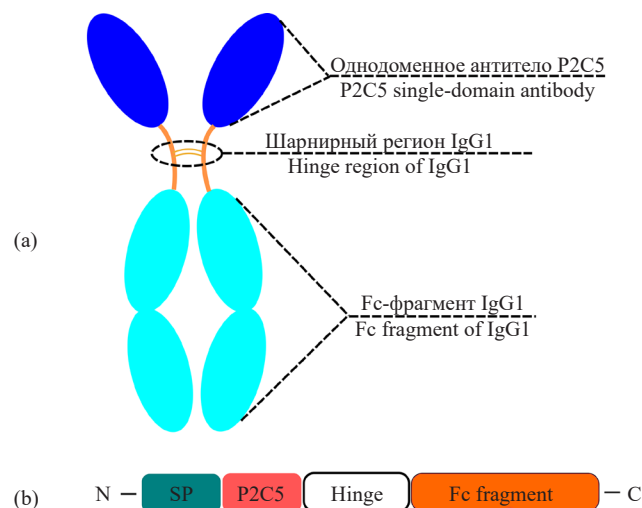
**Table 5.** Parameters of the cultivation process in an STR 200 stirred-tank bioreactor

| Параметр<br>Parameter                                                                               | Эксперимент 1<br>Experiment 1 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Температура, °C<br>Temperature, °C                                                                  | 37.0–33.0                     |
| Растворенный кислород, %<br>Dissolved oxygen, %                                                     | 40                            |
| pH                                                                                                  | 7.2                           |
| Концентрация CO <sub>2</sub> в газовой фазе, %<br>CO <sub>2</sub> concentration in the gas phase, % | 5.0                           |
| Обороты, об/мин<br>Stirrer, rpm                                                                     | 60–110                        |
| Верхняя подача воздуха, л/мин<br>Air overlay, Lpm                                                   | 10                            |
| Барботаж, л/мин<br>Air sparger, L/min                                                               | 10                            |
| Подача кислорода, л/мин<br>O <sub>2</sub> sparger, Lpm                                              | 0–10                          |

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В лаборатории иммунобиотехнологии НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России при помощи иммунизации двугорбого верблюда рекомбинантным рецептор-связывающим доменом (receptor-binding domain, RBD) S-белка вируса SARS-CoV-2 и технологии фагового дисплея была получена панель однодоменных антител, специфичных к RBD S-белка вируса SARS-CoV-2 [19]. Из полученной панели были отобраны несколько наиболее перспективных клонов, которые впоследствии были модифицированы путем слияния с Fc-фрагментом IgG1 человека. Далее эти формы были детально исследованы

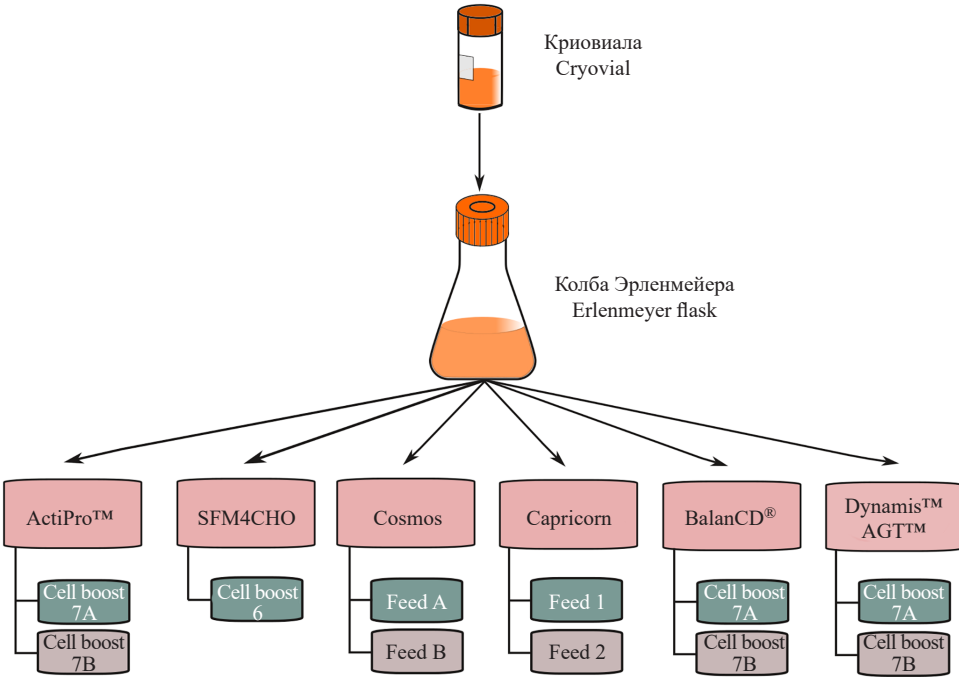
различными методами *in vitro*, в том числе прямой вируснейтрализацией на живом вирусе SARS-CoV-2. В итоге получено однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом IgG1 человека GamP2C5 (рис. 1).



**Рис. 1.** (а) Схематичное изображение однодоменного антитела, слитого с Fc-фрагментом IgG1 человека GamP2C5; (б) структура однодоменного антитела, слитого с Fc-фрагментом IgG1 человека (SP — аминокислотная последовательность сигнального пептида тяжелой цепи IgG1; P2C5 — аминокислотная последовательность однодоменного антитела P2C5; Hinge — аминокислотная последовательность шарнирной области IgG1; Fc fragment — аминокислотная последовательность Fc-фрагмента IgG1)

**Fig. 1.** (a) Schematic representation of a single-domain antibody fused with the Fc fragment of human IgG1 GamP2C5; (b) structure of a single-domain antibody fused with the Fc fragment of human IgG1 (SP — amino acid sequence of the signal peptide of the heavy chain of IgG1; P2C5 — amino acid sequence of the P2C5 single-domain antibody; Hinge — amino acid sequence of the hinge region of IgG1; Fc fragment — amino acid sequence of the Fc fragment of IgG1)

Затем была разработана генетическая конструкция, позволяющая экспрессировать данное однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом IgG1 человека. Сегодня большинство терапевтических антител производят в клетках млекопитающих, которые лучше всего подходят для продукции рекомбинантных антител, обладающих наибольшей степенью биологического сходства с антителами, вырабатываемыми в организме человека [20]. В данном исследовании были использованы клетки CHO. Далее с помощью методов трансфекции в клетки и нескольких раундов селекции был отобран клон, стабильно продуцирующий данное антитело. В итоге получена клеточная линия CHO GamP2C5 (клон 78), которая экспрессирует однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом IgG1 человека GamP2C5.



**Рис. 2.** Комбинация культуральных сред и подпиток при проведении разработки процесса культивирования  
**Fig. 2.** Combination of culture media and supplement during the development of the cultivation process

Наиболее важным компонентом для разработки технологии культивирования является питательная среда, которая обеспечивает жизнеспособность и пролиферацию клеток. Состав питательной среды напрямую влияет на скорость производства и качество биофармацевтических препаратов. Поэтому исследователям, работающим с клеточными культурами, важно выбрать необходимую среду, которая подойдет для их целей [21]. Для подбора оптимальных условий культивирования, исходя из доступности и наличия, были проанализированы 6 базовых питательных сред и 7 питательных добавок (рис. 2).

Используя данные питательные среды и добавки, был проведен эксперимент в трех повторах по разработке процесса культивирования полученного клона в колбах с целью получения наибольшего содержания целевого продукта. Клетки культивировали с едиными исходными параметрами. Эксперимент

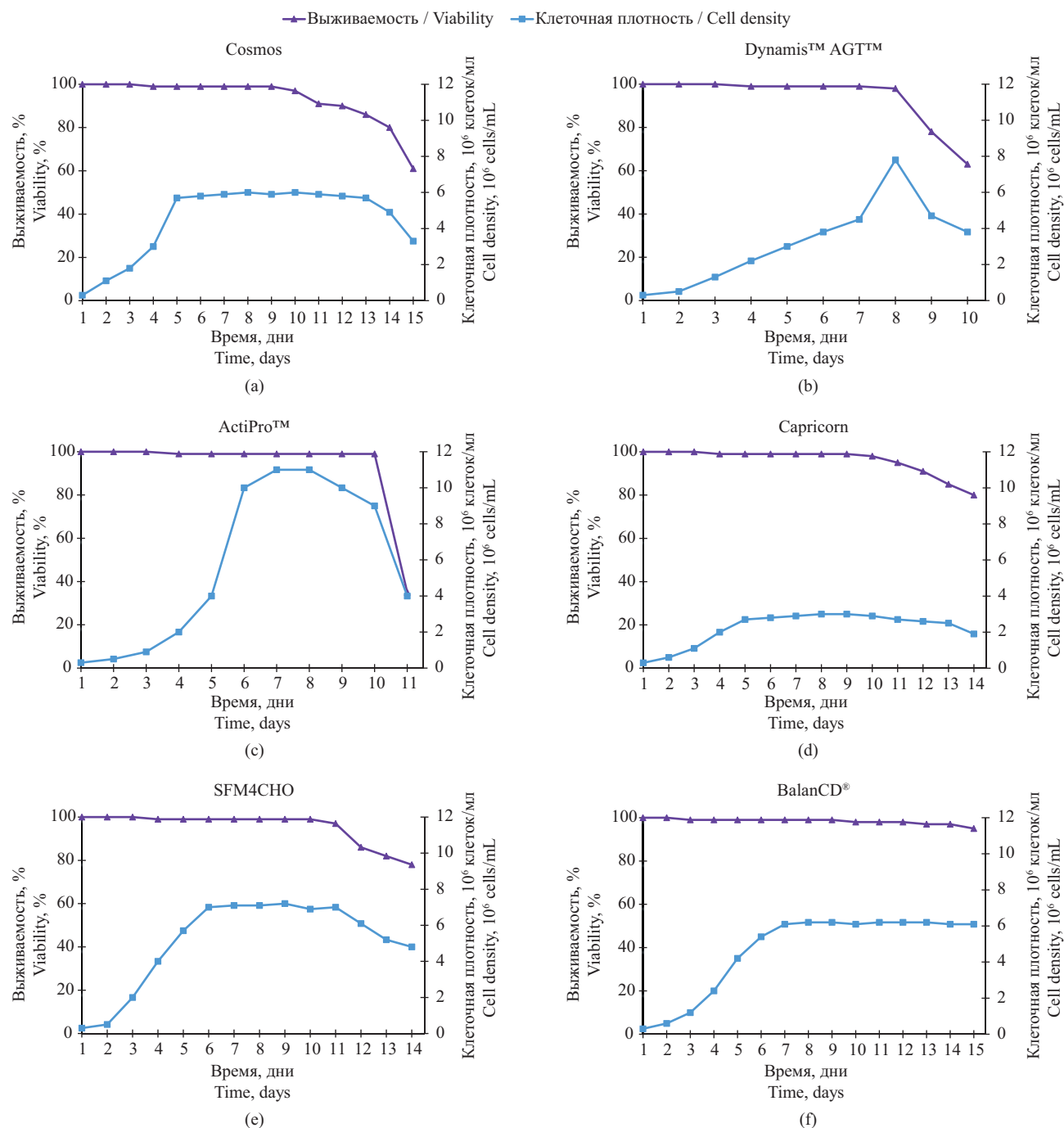
начинали с плотности клеток 0.3 млн/мл. Клетки культивировали в режиме fed-batch (способ периодического культивирования с подпиткой), с контролем уровня глюкозы и глутамина. Соотношения выживаемости и плотности культуры клеток на определенный день культивирования представлены на рис. 3.

Лидером по клеточной плотности оказалась питательная среда ActiPro™. Клетки на данной питательной среде достигли плотности 10 млн/мл. По наибольшей продолжительности культивирования наилучший результат показали питательные среды Cosmos и BalanCD®. На обеих средах культура клеток продемонстрировала высокую жизнеспособность на протяжении 15 дней. Самое большое содержание целевого антитела было зафиксировано на питательной среде ActiPro™. Содержание составило 671 мкг/мл (табл. 6).

**Таблица 6.** Содержание целевого антитела GamP2C5, определенное с помощью прибора Octet® RED 96

**Table 6.** Yield of the target antibody GamP2C5 determined using an Octet® RED 96 system

| Питательная среда<br>Culture media             | SFM4CHO | ActiPro™ | Cosmos | BalanCD® | Dynamis™ AGT™ | Capricorn |
|------------------------------------------------|---------|----------|--------|----------|---------------|-----------|
| Продуктивность, мкг/мл<br>Product yield, µg/mL | 364.8   | 671.0    | 478.0  | 580.0    | 284.0         | 220.0     |

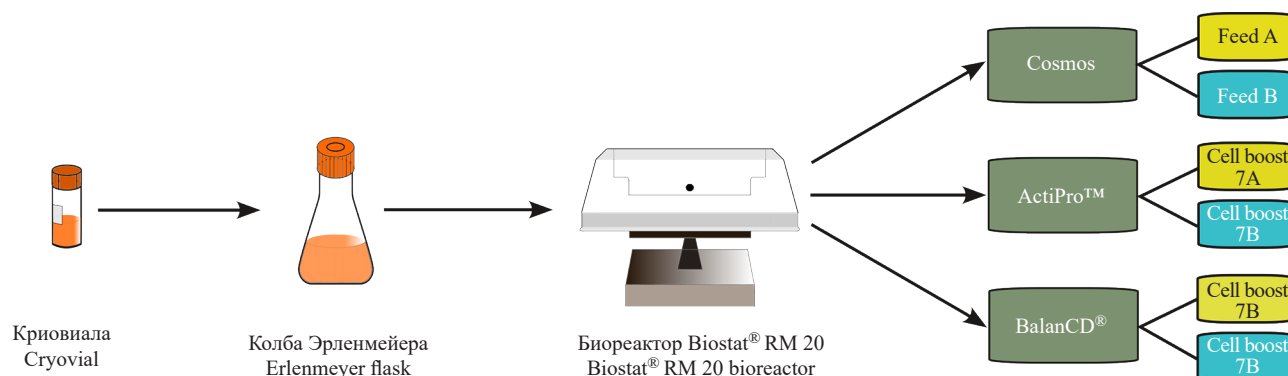


**Рис. 3.** Соотношение выживаемости и плотности культуры клеток CHO GamP2C5 (клон 78) в колбе Эрленмейера при культивировании на различных питательных средах: (a) Cosmos; (b) Dynamis™ AGT™; (c) ActiPro™; (d) Capricorn; (e) SFM4CHO; (f) BalanCD®

**Fig. 3.** The ratio of survival rate and cell culture density of CHO GamP2C5 (clone 78) in an Erlenmeyer flask when cultivated on various culture media: (a) Cosmos; (b) Dynamis™ AGT™; (c) ActiPro™; (d) Capricorn; (e) SFM4CHO; (f) BalanCD®

Исходя из графика роста клеточной суспензии на различных питательных средах и опираясь на полученные значения конечного содержания целевого белка, были выбраны три лучшие питательные среды — ActiPro™, BalanCD®, Cosmos — для разработки дальнейшего процесса культивирования в волновых биореакторах.

Для того чтобы изучить процесс культивирования полученного клона, необходимо было разработать процесс культивирования в волновых биореакторах с подбором различных условий. В данной работе были проведены эксперименты с тремя лучшими питательными средами. Эксперименты проводились в одинаковых условиях в биореакторе



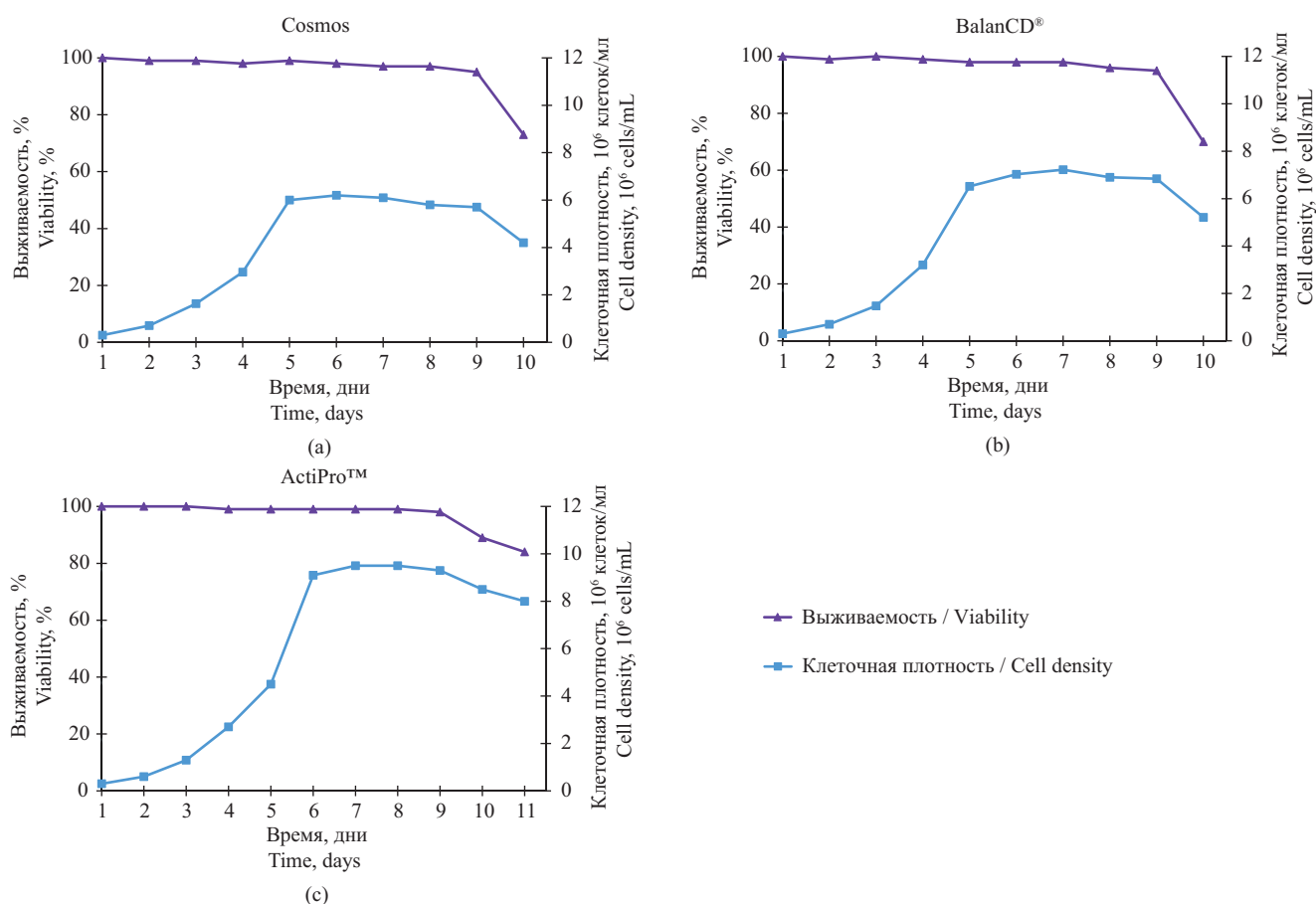
**Рис. 4.** Комбинации питательной среды и добавок для процесса культивирования в волновых биореакторах RM 20

**Fig. 4.** Combinations of culture medium and supplement for the cultivation process in Biostat® RM 20 wave bioreactors

с волновым типом перемешивания с рабочим объемом 10 л (рис. 4).

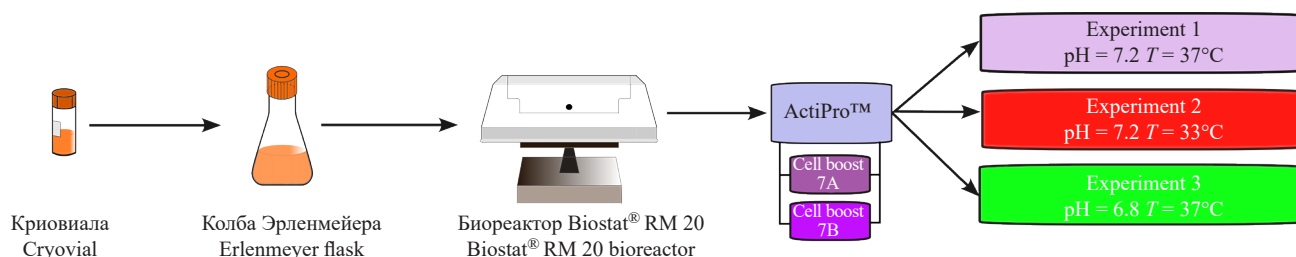
Начальная плотность клеток составляла 0.3 млн/мл. Соотношение выживаемости и плотности клеточной культуры на определенный день культивирования представлено на рис. 5.

В данном эксперименте лидером по основным показателям, таким как клеточная плотность, продолжительность культивирования, содержание целевого белка, была питательная среда ActiPro™. Клетки на данной питательной среде достигли плотности 10 млн/мл, культивировались в течение 10 дней,



**Рис. 5.** Соотношение выживаемости и плотности культуры клеток CHO GamP2C5 (клон 78) в волновом биореакторе RM 20 при культивировании на различных питательных средах: (a) Cosmos; (b) BalanCD®; (c) ActiPro™

**Fig. 5.** The ratio of survival rate and cell culture density of CHO GamP2C5 (clone 78) in the Biostat® RM 20 wave bioreactor when cultivated on various culture media: (a) Cosmos; (b) BalanCD®; (c) ActiPro™



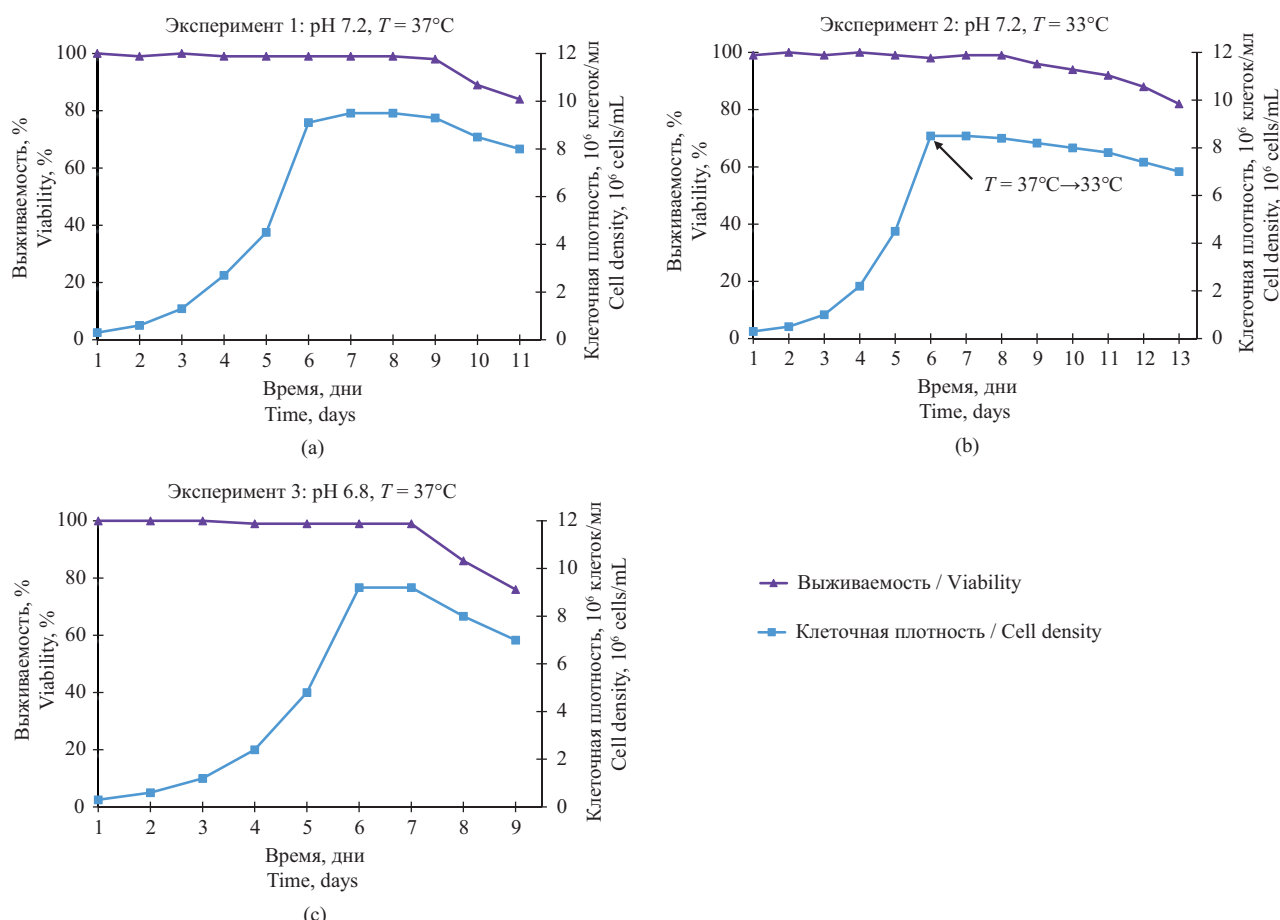
**Рис. 6.** Подбор оптимальных параметров для процесса культивирования в волновых биореакторах Biostat® RM 20

**Fig. 6.** Selection of optimal parameters for the cultivation process in Biostat® RM 20 bioreactors

содержание целевого белка составило 440 мкг/мл. Сравнение содержания целевого антитела GamP2C5 в зависимости от питательной среды описано в табл. 7.

После проведения анализа трех базовых питательных сред была выбрана среда ActiPro™, которая показала максимальный результат по продуктивности целевого продукта. Далее необходимо было подобрать оптимальные условия культивирования для дальнейшего масштабирования процесса (рис. 6).

В данном эксперименте были отработаны различные параметры культивирования в волновом биореакторе с рабочим объемом 10 л. В этой части работы сравнивали показатели продуктивности целевого белка после изменения температурного параметра и pH в ходе культивирования. Соотношение выживаемости и плотности клеточной культуры на определенный день культивирования представлены на рис. 7.



**Рис. 7.** Культивирование клеток CHO GamP2C5 (клон 78) при различных условиях культивирования в волновых биореакторах Biostat® RM 20: (а) эксперимент 1: pH 7.2, T = 37°C; (б) эксперимент 2: pH 7.2, T = 33°C; (с) эксперимент 3: pH 6.8, T = 37°C

**Fig. 7.** Cultivation of CHO GamP2C5 (clone 78) cells under various cultivation conditions in Biostat® RM 20 wave bioreactor: (a) experiment 1: pH 7.2, T = 37°C; (b) experiment 2: pH 7.2, T = 33°C; (c) experiment 3: pH 6.8, T = 37°C

**Таблица 7.** Содержание антитела GamP2C5, определенное с помощью прибора Octet® RED 96

**Table 7.** Yield of the target antibody GamP2C5 determined using an Octet® RED 96 system

| Питательная среда<br>Culture media             | ActiPro™ | Cosmos | BalanCD® |
|------------------------------------------------|----------|--------|----------|
| Продуктивность, мкг/мл<br>Product yield, µg/mL | 440      | 250    | 325      |

При понижении температуры до 33°C время культивирования увеличилось, но содержание целевого белка оказалось меньше, чем при температуре 37°C. Культивирование клеток при pH 6.8 показало меньший результат по содержанию целевого белка по сравнению с культивированием при pH 7.2. Температурный и pH «сифты» не продемонстрировали ожидаемый результат при использовании на биореакторах с волновым типом перемешивания RM 20. Наилучший результат по продуктивности был получен после культивирования при температуре 37°C и pH 7.2. Количество целевого антитела GamP2C5 приведено в табл. 8.

**Таблица 8.** Содержание целевого антитела GamP2C5, определенное с помощью прибора Octet® RED 96

**Table 8.** Yield of the target antibody GamP2C5 determined using an Octet® RED 96 system

| Номер эксперимента<br>Number of experiment     | 1   | 2   | 3   |
|------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| Продуктивность, мкг/мл<br>Product yield, µg/mL | 440 | 374 | 223 |

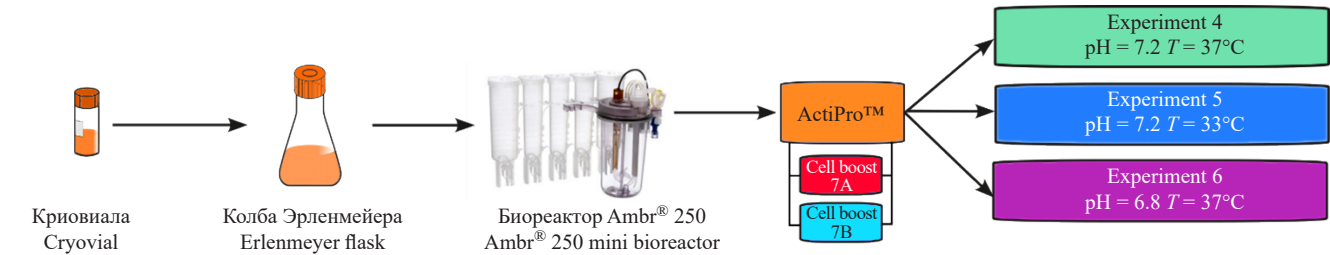
Таким образом, в результате проделанной работы на данном этапе нами был разработан процесс культивирования данного клона в волновом биореакторе в лабораторном масштабе (рабочий объем 10 л) со режимом культивирования, указанном в табл. 9.

**Таблица 9.** Параметры культивирования для клеток CHO на среде ActiPro™ в волновом биореакторе RM 20

**Table 9.** Cultivation parameters for CHO cells on ActiPro™ medium in the Biostat® RM 20 wave bioreactor

| Параметр<br>Parameter                                                                               | Значение<br>Value |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Температура, °C<br>Temperature, °C                                                                  | 37.0              |
| Растворенный кислород, %<br>Dissolved oxygen, %                                                     | 40                |
| pH                                                                                                  | 7.2               |
| Концентрация CO <sub>2</sub> в газовой фазе, %<br>CO <sub>2</sub> concentration in the gas phase, % | 5.0               |
| Угол наклона платформы, °<br>Platform tilt angle, °                                                 | 7                 |
| Частота качания платформы, кач/мин<br>Platform swing frequency, swing/min                           | 15                |
| Объемный расход газовой смеси, л/мин<br>Volumetric flow rate of gas mixture, L/min                  | 0.5               |
| Начало добавления подпитки, день<br>Start adding supplement, day                                    | 5                 |

После проведения анализа процесса на среде ActiPro™ с тремя различными условиями культивирования были подобраны параметры, которые показали максимальный результат по продуктивности целевого антитела. Затем перед нами стояла задача провести масштабирование в биореактор с осевым типом перемешивания STR 200. Для данного процесса было необходимо подобрать оптимальные условия культивирования клеток с учетом изменения типа перемешивания. Для проведения экспериментов была использована система минибиореакторов Ambr® 250 (рис. 8).



**Рис. 8.** Подбор оптимальных параметров для процесса культивирования в минибиореакторах Ambr® 250

**Fig. 8.** Selection of optimal parameters for the cultivation process in Ambr® 250 mini bioreactors

Для процессов в минибиореакторах нами была использована питательная среда ActiPro™ в комбинации с питательными добавками 7А и 7В, которая после эксперимента в колбах показала наилучший результат по выходу целевого антитела (671 мкг/мл), а также на данной среде была зафиксирована самая большая клеточная плотность (10 млн/мл). Кроме того, после отработки условий на биореакторах с волновым типом перемешивания RM 20, питательная среда ActiPro™ также показала лучший результат по содержанию целевого антитела, который составил 440 мкг/мл.

В экспериментах в минибиореакторах Ambr® 250 сравнивались показатели продуктивности целевого белка после изменения температурного параметра и pH в ходе культивирования. Соотношение выживаемости и плотности клеточной культуры на определенный день культивирования представлены на рис. 9.

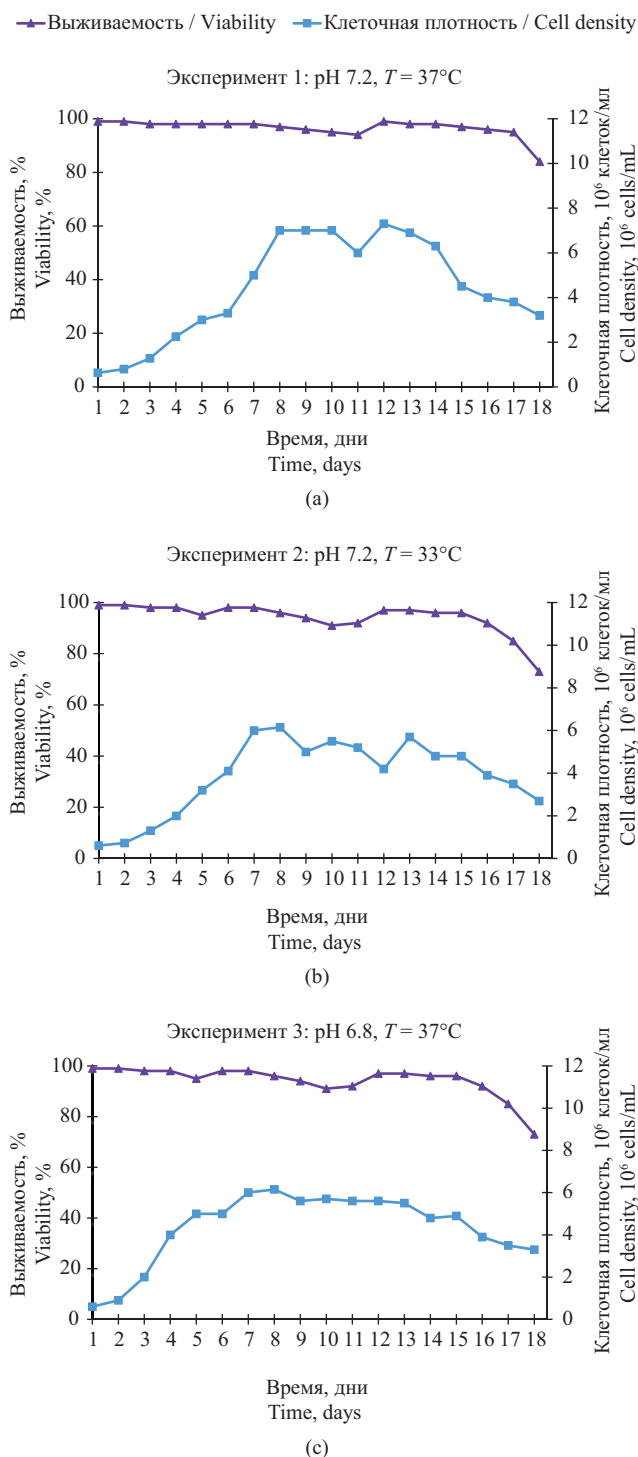
В данных экспериментах было установлено, что при понижении температуры до 33°C время культивирования и содержание целевого белка оказалось больше, чем при температуре 37°C. Культивирование клеток при pH 6.8 показало меньший выход целевого белка по сравнению с культивированием при pH 7.2. Эксперимент с изменением pH не продемонстрировал ожидаемых результатов, как и при проведении эксперимента в биореакторе с волновым типом перемешивания RM 20, хотя изменение температуры в данном эксперименте показало наилучший результат по содержанию целевого белка. Количество целевого антитела GamP2C5 представлено в табл. 10.

**Таблица 10.** Содержание антитела GamP2C5, определенное с помощью прибора Octet® RED 96

**Table 10.** Yield of the target antibody GamP2C5 determined using an Octet® RED 96 system

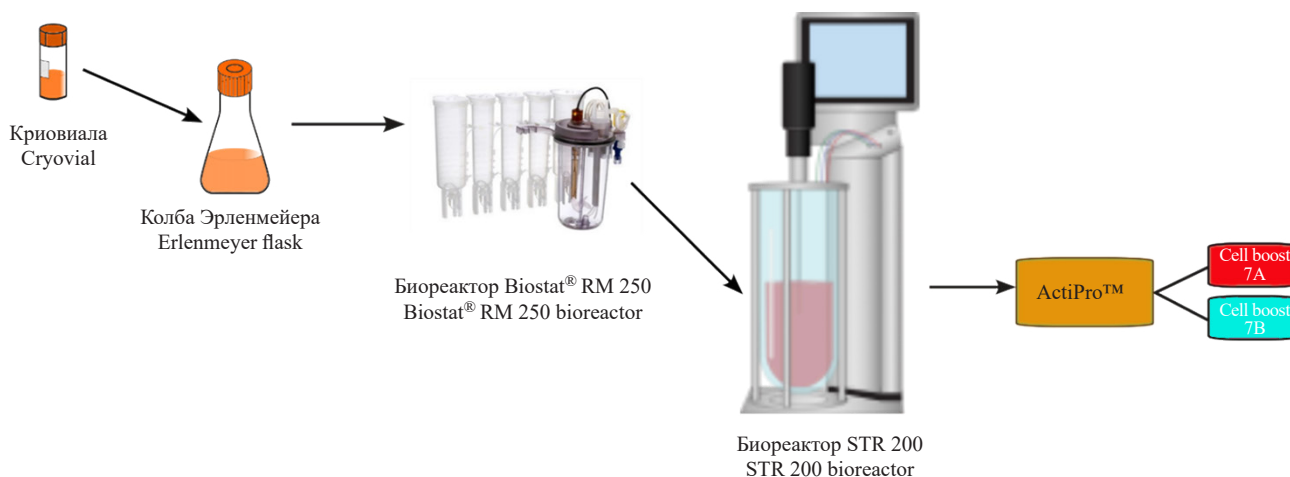
|                                                |     |     |     |
|------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| Номер эксперимента<br>Number of experiment     | 4   | 5   | 6   |
| Продуктивность, мкг/мл<br>Product yield, µg/mL | 382 | 456 | 240 |

С учетом полученных результатов по экспериментам на минибиореакторах Ambr® 250 были подобраны параметры процесса для биореактора с осевым типом перемешивания STR 200 (рис. 10).



**Рис. 9.** Культивирование клеток CHO GamP2C5 (клон 78) при различных условиях культивирования в минибиореакторах Ambr® 250:  
(a) эксперимент 1: pH 7.2, T = 37°C;  
(b) эксперимент 2: pH 7.2, T = 33°C;  
(c) эксперимент 3: pH 6.8, T = 37°C

**Fig. 9.** Cultivation of CHO GamP2C5 (clone 78) cells under various cultivation conditions in Ambr® 250 mini bioreactors:  
(a) experiment 1: pH 7.2, T = 37°C;  
(b) experiment 2: pH 7.2, T = 33°C;  
(c) experiment 3: pH 6.8, T = 37°C

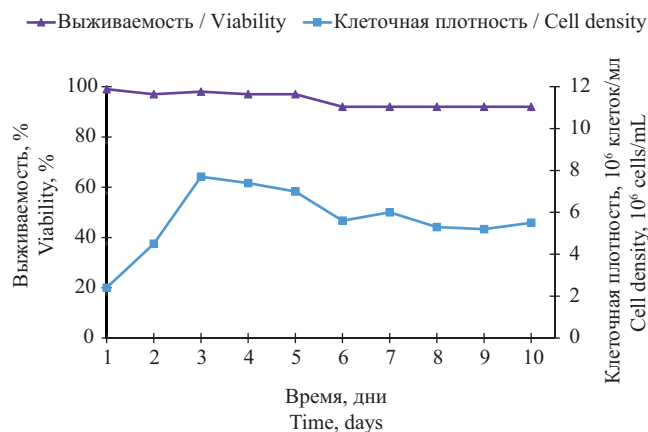


**Рис. 10.** Схема масштабирования для процесса культивирования до биореактора с осевым типом перемешивания STR 200 с рабочим объемом 200 л

**Fig. 10.** Scaling diagram for the cultivation process to an STR 200 stirred-tank bioreactor with a working volume of 200 L

После проведения ряда экспериментов с использованием минибиореакторов Ambr® 250 на питательной среде ActiPro™ в комбинации с питательными добавками 7A и 7B были подобраны условия по оптимальному pH и температуре, которые показали максимальный результат по продуктивности целевого антитела. Для работы в биореакторе с осевым типом перемешивания STR 200 с рабочим объемом 200 л использовались параметры, полученные в результате процессов в минибиореакторе Ambr® 250. Для масштабирования параметров процесса с минибиореакторов Ambr® 250 в биореактор STR 200 было проведено моделирование с помощью программного обеспечения Sartorius<sup>1</sup>, которое производит перенос параметров процессов культивирования с биореактора малого объема в больший с сохранением масс-обменных характеристик. Обычно одним из используемых безразмерных коэффициентов масштабирования для увеличения/уменьшения масштаба биореакторных процессов является объемный расход ( $vvm$ , где  $v$  — объем воздуха в литрах,  $v$  — объем среды в литрах,  $m$  — время в минутах, в течение которого происходит обменный процесс (аэрация)) [22]. С учетом этого параметра было проведено масштабирование (данные не представлены). Кроме того, для обеспечения продолжительной пролиферации и блокировки апоптоза клеток при внесении питательных добавок с пятого дня культивирования проводились измерения по остаточным метаболитам (глюкоза, глутамин, глутамат, лактат, аммоний) (табл. 11).

Соотношение выживаемости и плотности клеточной культуры на определенный день культивирования представлены на рис. 11.



**Рис. 11.** Культивирование клеток CHO GamP2C5 (клон 78) на среде ActiPro™ в биореакторе с осевым типом перемешивания STR 200

**Fig. 11.** Cultivation of CHO GamP2C5 (clone 78) cells in ActiPro™ medium in an STR 200 stirred-tank bioreactor

После проведения процесса в биореакторе с осевым типом перемешивания STR 200 с режимами культивирования, подобранными с помощью минибиореактора Ambr® 250, количество целевого продукта антитела GamP2C5 составило 564.4 мкг/мл. Данное значение превышает исходное (456 мкг/мл), полученное в результате культивирования в минибиореакторе Ambr® 250.

<sup>1</sup> <https://www.sartogsm.ru/>. Дата обращения: 01.06.2022. / Accessed June 01, 2022.

**Таблица 11.** Данные остаточных метаболитов по прибору Cedex® Bio Analyzer**Table 11.** Data of residual metabolites according to the Cedex® Bio Analyzer device

| День<br>Days | Глюкоза, мг/л<br>Glucose, mg/L | Глютамин, мМ/л<br>Glutamine, mM/L | Глютамат, мг/л<br>Glutamate, mg/L | Лактат, мг/л<br>Lactate, mg/L | Аммоний, мМ/л<br>Ammonium, mM/L | Добавление<br>Addition                                                                                                 |
|--------------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5            | 2000.74                        | 0.32                              | 381.32                            | 2345.45                       | 7.920                           | 1.0% 7A, 0.1% 7B,<br>1 г/л глюкозы<br>1.0% 7A, 0.1% 7B,<br>1 g/L glucose                                               |
| 6            | 3343.45                        | 0.15                              | 598.39                            | 1806.77                       | 10.148                          | 1.50% 7A, 0.15% 7B,<br>200 мМ глютамина,<br>2 г/л глюкозы<br>1.50% 7A, 0.15% 7B,<br>200 mM glutamine,<br>2 g/L glucose |
| 7            | 1721.22                        | 0.48                              | 972.53                            | 2065.86                       | 11.544                          | 2.0% 7A, 0.2% 7B,<br>200 мМ глютамина,<br>3 г/л глюкозы<br>2.0% 7A, 0.2% 7B,<br>200 mM glutamine,<br>3 g/L glucose     |
| 8            | 6158.21                        | 1.23                              | 1320.79                           | 300.88                        | 8.311                           | 2.50% 7A, 0.25% 7B                                                                                                     |
| 9            | 3891.29                        | 0.59                              | 1402.18                           | 650.86                        | 10.032                          | 3.0% 7A, 0.3% 7B                                                                                                       |
| 10           | 2191.10                        | 0.52                              | 1410.47                           | 873.21                        | 9.716                           | 1.50% 7A, 0.15% 7B                                                                                                     |
| 11           | 2272.02                        | 0.11                              | 584.63                            | 727.05                        | 3.759                           | 2.0% 7A, 0.2% 7B                                                                                                       |
| 12           | 323.82                         | 0.21                              | 609.07                            | 257.12                        | 3.258                           | 2.50% 7A, 0.25% 7B,<br>4 г/л глюкозы<br>2.50% 7A, 0.25% 7B,<br>4 g/L glucose                                           |
| 13           | 3783.16                        | 0.21                              | 1021.88                           | 242.33                        | 3.358                           | 2 г/л глюкозы<br>2 g/L glucose                                                                                         |
| 14           | 4548.37                        | 0.89                              | 1101.30                           | 323.79                        | 8.285                           | —                                                                                                                      |

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Произведена работа по подбору оптимальных параметров процесса культивирования для наработки компонента I кандидатного препарата ГамКовиМаб. Компонент I кандидатного препарата ГамКовиМаб представляет собой антитело GamP2C5 (культура клеток СНО, клон 78). Для данного клона оптимальные параметры процесса культивирования были достигнуты в биореакторе с осевым типом перемешивания при pH 7.2 с использованием понижения температуры с 37 до 33°C, питательной среды ActiPro™ в комбинации с питательными добавками 7A и 7B, в которой культура клеток СНО экспрессирует наибольшее количество целевого антитела. Данный вывод был сделан на основе изучения условий культивирования клеток СНО, стабильно продуцирующих антитело GamP2C5 (клон 78). Описан

процесс культивирования данного клона в волновом биореакторе с рабочим объемом 10 л. Подобрана оптимальная питательная среда, позволяющая давать максимальное содержание целевого белка. Проведена работа по оценке влияния изменения температуры во время культивирования на продуктивность целевого антитела. Кроме того, подобран pH питательной среды, который также влияет на культивирование данного клона. Затем для перехода в биореактор производственного масштаба (биореактор с осевым типом перемешивания) проведена работа по подбору оптимальных параметров с учетом изменения типа перемешивания. Для данной работы была использована система минибиореакторов Ambr® 250, с помощью которой подобраны оптимальные параметры по температуре и pH. Кроме того, в исследовании было выяснено, что показатели продуктивности для клеточной линии СНО, стабильно продуцирующей

антитело GamP2C5 (клон 78), в биореакторе с волновым и осевым типом перемешивания имеют разные значения. Для данного клона в биореакторе с волновым типом перемешивания (рабочий объем 10 л) наилучший результат по выходу целевого антитела был продемонстрирован при  $T = 37^{\circ}\text{C}$ , а при культивировании в биореакторе с осевым типом перемешивания (минибиореактор Ambr<sup>®</sup> 250) наибольшая продуктивность была продемонстрирована при  $T = 33^{\circ}\text{C}$ . При этом содержание целевого антитела в минибиореакторе Ambr<sup>®</sup> 250 при  $T = 33^{\circ}\text{C}$  превосходит данный показатель по сравнению с биореактором с волновым типом перемешивания (рабочий объем 10 л) при  $T = 37^{\circ}\text{C}$ . После подбора оптимальных параметров культивирования для клеточной линии CHO, стабильно продуцирующей антитело GamP2C5 (клон 78), было проведено культивирование в биореакторе с осевым типом перемешивания с рабочим объемом 200 л. Параметры для этого процесса были подобраны с использованием данных, полученных в результате экспериментов в минибиореакторе Ambr<sup>®</sup> 250. Кроме того, для обеспечения оптимальными условиями культуры клеток CHO, стабильно продуцирующей антитело GamP2C5, питательные добавки вносились с учетом анализа/контроля метаболитов. Таким образом, в нашей работе была разработана эффективная технология культивирования клеток CHO, стабильно продуцирующих антитело GamP2C5, которое является компонентом I кандидатного препарата ГамКовиМаб для экстренной профилактики и терапии инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2.

#### Вклад авторов

**Д.С. Полянский** — проведение экспериментов по культивированию клеток CHO в мини биореакторах Ambr<sup>®</sup> 250; проведение экспериментов по масштабированию процесса культивирования; сбор и анализ данных; написание текста рукописи;

**Е.И. Рябова** — получение клеточной линии CHO, стабильно продуцирующей модифицированное однодоменное антитело GamP2C5; проведение экспериментов по подбору питательных сред в колбах Эрленмейера; сбор и анализ данных.

**А.А. Деркаев** — проведение экспериментов по подбору питательных сред в колбах Эрленмейера; измерение концентрации продукта в культуральной жидкости; сбор и анализ данных.

**Н.С. Старков** — масштабирование процесса культивирования в биореакторе с осевым типом перемешивания STR 200; подготовка материалов рукописи.

**И.С. Кашапова** — проведение экспериментов по культивированию в волновых биореакторах RM 20.

**Д.В. Шебляков** — дизайн генетической конструкции, экспрессирующей модифицированное однодоменное антитело.

**А.П. Карпов** — руководство экспериментами по масштабированию процесса культивирования; корректировка текста рукописи; утверждение окончательной версии рукописи для публикации.

**И.Б. Есмагамбетов** — общее руководство; корректировка текста рукописи; утверждение окончательной версии рукописи для публикации.

#### Authors' contributions

**D.S. Polyansky** — conducting the experiments of cultivating CHO cells in an Ambr<sup>®</sup> 250 mini bioreactor, conducting the experiments of scaling the cultivation process, data collection and analysis, and writing the text of the manuscript.

**E.I. Ryabova** — development of CHO cell line, stably producing GamP2C5 modified single-domain antibody, conducting the experiments of the selection of culture media in Erlenmeyer's flasks, and data collection and analysis.

**A.A. Derkaev** — conducting the experiments of the selection of cultural media in Erlenmeyer's flasks, measuring the concentration of the product in the culture media, and data collection and analysis.

**N.S. Starkov** — scaling the cultivation process in an STR 200 stirred-tank bioreactor and preparation of materials for the manuscript.

**I.S. Kashapova** — conducting the experiments on cultivation in Biostat<sup>®</sup> RM 20 wave bioreactors.

**D.V. Shcheblyakov** — design of a genetic construct expressing a modified single-domain antibody.

**A.P. Karpov** — managing the experiments on scaling the cultivation process; correcting the manuscript text, and approval of the final version of the manuscript for publication.

**I.B. Esmagambetov** — general management, correcting the manuscript text, and approval of the final version of the manuscript for publication.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

*The authors declare no conflicts of interest.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sun J., Yang .D., Xie X., Li L., Zeng H.Z., Gong B., Xu J.Q., Wu J.H., Qu B.B., Song G.W. Clinical application of SARS-CoV-2 antibody detection and monoclonal antibody therapies against COVID-19. *World J. Clin. Cases.* 2023;11(10):2168–2180. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v11.i10.2168>
2. Mitra S., Tomar P.S. Hybridoma technology; advancements, clinical significance, and future aspects. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 2021;19(1):159. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00264-6>
3. Lu R.M., Hwang Y.C., Liu I.J., Lee C.C., Tsai H.Z., Li H.J., Wu H.C. Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. *J. Biomed. Sci.* 2020;27(1):1. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0592-z>
4. Quinteros D.A., Bermúdez J.M., Ravetti S., Cid A., Allemandi D.A., Palma S.D. Therapeutic use of monoclonal antibodies: general aspects and challenges for drug delivery. Chapter 25. In: *Nanostructures for Drug Delivery. Micro and Nano Technologies.* 2017:807–833. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46143-6.00025-7>

5. Garcia J., Hurwitz H.I., Sandler A.B., Miles D., Coleman R.L., Deurloo R., Chinot O.L. Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: a review of 15 years of clinical experience and future outlook. *Cancer Treat. Rev.* 2020;86:102017. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2020.102017>
6. Chisari C.G., Sgarlata E., Arena S., Toscan S., Luca M., Patti F. Rituximab for the treatment of multiple sclerosis: a review. *J. Neurol.* 2022;269(1):159–183. <https://doi.org/10.1007/s00415-020-10362-z>
7. Hemperly A., Vande Castele N. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Infliximab in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Clin. Pharmacokinet.* 2018;57(8):929–942. <https://doi.org/10.1007/s40262-017-0627-0>
8. Weinblatt M.E., Keystone E.C., Furst D.E., Kavanaugh A.F., Chartash E.K., Segurado O.G. Long term efficacy and safety of adalimumab plus methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: ARMADA 4-year extended study. *Ann. Rheum. Dis.* 2006;65(6):753–759. <https://doi.org/10.1136/ard.2005.044404>
9. Salazar G., Zhang N., Fu T.M., An Z. Antibody therapies for the prevention and treatment of viral infections. *NPJ Vaccines.* 2017;2:19. <https://doi.org/10.1038/s41541-017-0019-3>
10. Pelegrin M., Naranjo-Gomez M., Piechaczyk M. Antiviral Monoclonal Antibodies: Can They Be More Than Simple Neutralizing Agents? *Trends Microbiol.* 2015;23(10): 653–665. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.07.005>
11. Pantaleo G., Correia B., Fenwick C., Joo V.S., Perez L. Antibodies to combat viral infections: development strategies and progress. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2022;21(9):676–696. <https://doi.org/10.1038/s41573-022-00495-3>
12. Miyazato Y., Yamamoto K., Nakaya Y., Morioka S., Takeuchi J.S., Takamatsu Y., Maeda K., Kimura M., Sugiura W., Mitsuya H., Yano M., Ohmagaria N. Successful use of casirivimab/imdevimab anti-spike monoclonal antibodies to enhance neutralizing antibodies in a woman on anti-CD20 treatment with refractory COVID-19. *J. Infect. Chemother.* 2022;28(7):991–994. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2022.03.002>
13. Jovčevska I., Muyldermans S. The Therapeutic Potential of Nanobodies. *BioDrugs.* 2019;34(1):11–26. <https://doi.org/10.1007/s40259-019-00392-z>
14. Есмагамбетов И.Б., Щебляков Д.В., Егорова Д.А., Воронина О.Л., Деркаев А.А., Воронина Д.В., Попова О., Рябова Е.И., Щербинин Д.Н., Аксенова Е.И., Семенов А.Н., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Зубкова О.В., Тухватулин А.И., Логунов Д.Ю., Народицкий Б.С., Борисевич С.В., Гинцбург А.Л. Наноантитела – потенциальный терапевтический препарат против лихорадки Эбола. *Acta Naturae.* 2021;13(4):53–63. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11487> [Esmagambetov I.B., Shcheblyakov D.V., Egorova D.A., Voronina O.L., Derkaev A.A., Voronina D.V., Popova O., Ryabova E.I., Shcherbinin D.N., Aksenova E.I., Semenov A.N., Kunda M.S., Ryzhova N.N., Zubkova O.V., Tikhvatulin A.I., Logunov D.Y., Naroditsky B.S., Borisevich S.V., Gintsburg A.L. Nanobodies Are Potential Therapeutic Agents for the Ebola Virus Infection. *Acta Naturae.* 2021;13(4): 53–63. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11487> ]
15. Derkaev A.A., Ryabova E.I., Esmagambetov I.B., Shcheblyakov D.V., Godakova S.A., Vinogradova I.D., Noskov A.N., Logunov D.Y., Naroditsky B.S., Gintsburg A.L. rAAV expressing recombinant neutralizing antibody for the botulinum neurotoxin type A prophylaxis. *Front. Microbiol.* 2022;13:960937. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.960937>
16. Voronina D.V., Shcheblyakov D.V., Favorskaya I.A., Esmagambetov I.B., Dzharrullaeva A.S., Tikhvatulin A.I., Zubkova O.V., Popova O., Kan V.Y., Bandelyuk A.S., Shmarov M.M., Logunov D.Y., Naroditskiy B.S., Gintsburg A.L. Cross-Reactive Fc-Fused Single-Domain Antibodies to Hemagglutinin Stem Region Protect Mice from Group 1 Influenza A Virus Infection. *Viruses.* 2022;14(11):2485. <https://doi.org/10.3390/v14112485>
17. Panova E.A., Kleymenov D.A., Shcheblyakov D.V., Bykonina E.N., Mazunina E.P., Dzharrullaeva A.S., Zolotar A.N., Derkaev A.A., Esmagambetov I.B., Sorokin I.I., Usachev E.V., Noskov A.N., Ivanov I.A., Zatsepin T.S., Dmitriev S.E., Gushchin V.A., Naroditsky B.S., Logunov D.Y., Gintsburg A.L. Single-domain antibody delivery using an mRNA platform protects against lethal doses of botulinum neurotoxin A. *Front. Immunol.* 2023;14:1098302. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1098302>
18. Godakova S.A., Noskov A.N., Vinogradova I.D., Ugriumova G.A., Solovyev A.I., Esmagambetov I.B., Tikhvatulin A.I., Logunov D.Y., Naroditsky B.S., Shcheblyakov D.V., Gintsburg A.L. Camelid VHHs Fused to Human Fc Fragments Provide Long Term Protection Against Botulinum Neurotoxin A in Mice. *Toxins (Basel).* 2019;11(8):464. <https://doi.org/10.3390/toxins11080464>
19. Esmagambetov I.B., Ryabova E.I., Derkaev A.A., Shcheblyakov D.V., Dolzhikova I.V., Favorskaya I.A., Grousova D.M., Dovgiy M.A., Prokofiev V.V., Gosudarev A.I., Byrikhina D.V., Zorkov I.D., Iliukhina A.A., Kovyrshina A.V., Shelkov A.Y., Naroditsky B.S., Logunov D.Y., Gintsburg A.L. rAAV expressing recombinant antibody for emergency prevention and long-term prophylaxis of COVID-19. *Front. Immunol.* 2023;14:1129245. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1129245>
20. Favorskaya I.A., Shcheblyakov D.V., Esmagambetov I.B., Dolzhikova I.V., Alekseeva I.A., Korobkova A.I., Voronina D.V., Ryabova E.I., Derkaev A.A., Kovyrshina A.V., *et al.* Single-Domain Antibodies Efficiently Neutralize SARS-CoV-2 Variants of Concern. *Front. Immunol.* 2022;13:822159. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.822159>
21. Седова Е.С., Щербинин Д.Н., Банделюк А.С., Верховская Л.В., Вискова Н.Ю., Авдонина Е.Д., Прокофьев В.В., Рябова Е.И., Есмагамбетов И.Б., Первойкина К.А., Богачева Е.А., Лысенко А.А., Шмаров М.М. Способ получения рекомбинантных антител, продуцируемых клеточной линией, трансдуцированной рекомбинантными аденовирусами. *Тонкие химические технологии.* 2023;18(1):48–64. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2023-18-1-48-64> [Sedova E.S., Shcherbinin D.N., Bandelyuk A.S., Verkhovskaya L.V., Viskova N.Yu., Avdonina E.D., Prokofiev V.V., Ryabova E.I., Esmagambetov I.B., Pervoykina K.A., Bogacheva E.A., Lysenko A.A., Shmarov M.M. Method for obtaining recombinant antibodies produced by a cell line transduced with recombinant adenoviruses. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2023;18(1):48–64 (Russ., Eng.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2023-18-1-48-64> ]
22. Yao T., Asayama Y. Animal-cell culture media: History, characteristics, and current issues. *Reprod. Med. Biol.* 2017;16(2):99–117. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12024>
23. Xu P., Clark C., Ryder T., Sparks C., Zhou J., Wang M., Russell R., Scott C. Characterization of TAP Ambr 250 disposable bioreactors, as a reliable scale-down model for biologics process development. *Biotechnol. Prog.* 2017;33(2):478–489. <https://doi.org/10.1002/btpr.2417>

## Об авторах

**Полянский Дмитрий Сергеевич**, технолог, филиал «Медгамал», ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, д. 18); ассистент кафедры аналитической химии им. И.П. Алимарина, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: polanskiydmityriy15@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-0792-7063>

**Рябова Екатерина Игоревна**, младший научный сотрудник, лаборатория иммунобиотехнологии, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, д. 18); аспирант, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» (109472, Россия, Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23). E-mail: ryabovaei96@gmail.com. Scopus Author ID 57301278100, ResearcherID AAE-7335-2022, SPIN-код РИНЦ 6963-1376, <https://orcid.org/0000-0002-2687-5185>

**Деркаев Артем Алексеевич**, младший научный сотрудник, лаборатория иммунобиотехнологии, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, д. 18). E-mail: derkaev.a@yandex.ru. Scopus Author ID 57381507000, ResearcherID AFU-7075-2022, SPIN-код РИНЦ 9339-9440, <https://orcid.org/0000-0003-3776-3856>

**Старков Никита Сергеевич**, технолог, филиал «Медгамал», ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, д. 18). E-mail: starkovns@medgamal.ru. <https://orcid.org/0009-0000-6493-5903>

**Кашапова Ирина Сергеевна**, научный сотрудник, лаборатория клеточной микробиологии, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, д. 18). E-mail: kashapova@medgamal.com. SPIN-код РИНЦ 4860-3713, <https://orcid.org/0000-0002-5108-3841>

**Щебляков Дмитрий Викторович**, к.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией иммунобиотехнологии, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, д. 18). E-mail: sdmitryv@yahoo.com. Scopus Author ID 35073056900, ResearcherID E-5899-2014, SPIN-код РИНЦ 6357-2725, <https://orcid.org/0000-0002-1289-3411>

**Карпов Андрей Павлович**, к.б.н., главный технолог, филиал «Медгамал», ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, д. 18). E-mail: ap.karpov@medgamal.ru. Scopus Author ID 22834845200

**Есмагамбетов Ильяс Булатович**, к.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией стромальной регуляции иммунитета, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, д. 18). E-mail: iesmagambetov@yandex.ru. Scopus Author ID 56120429700, ResearcherID E-3327-2014, SPIN-код РИНЦ 8132-2320, <https://orcid.org/0000-0002-2063-2449>

## About the authors

**Dmitry S. Polyansky**, Technologist, Medgamal Branch, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (The Gamaleya National Center), Ministry of Health of the Russian Federation (18, Gamaleya ul., Moscow, 123098, Russia); Assistant Professor, I.P. Alimarin Department of Analytical Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: polanskiydmityriy15@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-0792-7063>

**Ekaterina I. Ryabova**, Junior Researcher, Laboratory of Immunobiotechnology, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (The Gamaleya National Center), Ministry of Health of the Russian Federation (18, Gamaleya ul., Moscow, 123098, Russia); Postgraduate Student, K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA (23, Akademika Skryabina ul., Moscow, 109472, Russia). E-mail: ryabovaei96@gmail.com. Scopus Author ID 57301278100, ResearcherID AAE-7335-2022, RSCI SPIN-code 6963-1376, <https://orcid.org/0000-0002-2687-5185>

**Artem A. Derkaev**, Junior Researcher, Laboratory of Immunobiotechnology, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (The Gamaleya National Center), Ministry of Health of the Russian Federation (18, Gamaleya ul., Moscow, 123098, Russia). E-mail: derkaev.a@yandex.ru. Scopus Author ID 57381507000, ResearcherID AFU-7075-2022, SPIN-код РИНЦ 9339-9440, <https://orcid.org/0000-0003-3776-3856>

**Nikita S. Starkov**, Technologist, Medgamal Branch, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (The Gamaleya National Center), Ministry of Health of the Russian Federation (18, Gamaleya ul., Moscow, 123098, Russia). E-mail: starkovns@medgamal.ru. <https://orcid.org/0009-0000-6493-5903>

**Irina S. Kashapova**, Researcher, Laboratory of Molecular Biotechnology, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (The Gamaleya National Center), Ministry of Health of the Russian Federation (18, Gamaleya ul., Moscow, 123098, Russia). E-mail: kashapova@medgamal.com. SPIN-код РИНЦ 4860-3713, <https://orcid.org/0000-0002-5108-3841>

**Dmitry V. Shcheblyakov**, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Head of the Laboratory of Immunobiotechnology, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (The Gamaleya National Center), Ministry of Health of the Russian Federation (18, Gamaleya ul., Moscow, 123098, Russia). E-mail: sdmitryv@yahoo.com. Scopus Author ID 35073056900, ResearcherID E-5899-2014, SPIN-код РИНЦ 6357-2725, <https://orcid.org/0000-0002-1289-3411>

**Andrey P. Karpov**, Cand. Sci. (Biol.), Chief Technologist, Medgamal Branch, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (The Gamaleya National Center), Ministry of Health of the Russian Federation (18, Gamaleya ul., Moscow, 123098, Russia). E-mail: ap.karpov@medgamal.ru. Scopus Author ID 22834845200

**Ilias B. Esmagambetov**, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Head of the Laboratory of Stromal Regulation of Immunity, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology (The Gamaleya National Center), Ministry of Health of the Russian Federation (18, Gamaleya ul., Moscow, 123098, Russia). E-mail: iesmagambetov@yandex.ru. Scopus Author ID 56120429700, ResearcherID E-3327-2014, SPIN-код РИНЦ 8132-2320, <https://orcid.org/0000-0002-2063-2449>

Химия и технология неорганических материалов  
Chemistry and technology of inorganic materials

УДК 54.061

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-258-266>

EDN KYWKWJ



НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

## Твердые растворы в системах дисульфидов $\text{Re(IV)S}_2\text{--Ti(IV)S}_2$ , $\text{Re(IV)S}_2\text{--Mo(IV)S}_2$ и $\text{Re(IV)S}_2\text{--W(IV)S}_2$

Е.И. Ефремова, М.А. Лазов, М.Р. Кобрин✉, В.В. Фомичев

МИРЭА — Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий  
им. М.В. Ломоносова), Москва, 119571 Россия

✉ Автор для переписки, e-mail: [kobrin92@ya.ru](mailto:kobrin92@ya.ru)

### Аннотация

**Цели.** Халькогениды переходных элементов с низкой степенью окисления, а также их замещенные производные до сих пор являются малоизученным классом химических соединений. В качестве нового двумерного полупроводника дисульфид рения имеет множество отличительных особенностей и обладает большим потенциалом для применения благодаря своей необычной структуре и уникальным анизотропным свойствам, а наличие у данного соединения слабой межслойной связи и уникальной искаженной октаэдрической (1T) структуры позволяет предположить возможность создания новых фаз на его основе. Цель данной работы — получение и исследование фаз в системах  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Ti(IV)S}_2$ ,  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Mo(IV)S}_2$  и  $\text{Re(IV)S}_2\text{--W(IV)S}_2$ .

**Методы.** Образцы были получены методом высокотемпературного твердофазного ампульного синтеза в вакууме. Исследование проводили методами рентгенофазового анализа и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии.

**Результаты.** Установлены области существования твердых растворов, интеркалатов и двухфазных областей в полученных системах. Для новых фаз получены дифрактограммы и рассчитаны параметры кристаллической решетки. По данным энергий связи остовных электронов с ядром показано, в каких валентных состояниях находятся элементы после синтеза, подтверждено, что все полученные в результате синтеза фазы содержат переходные элементы в степени окисления (IV).

**Выводы.** В богатых рением областях образуются твердые растворы по типу внедрения, в то время как в областях, близких к дисульфидам титана и молибдена, реализуются интеркалированные фазы. В системе  $\text{ReS}_2\text{--WS}_2$  существует область твердых растворов, включающая 30, 50 и 70 мол. % дисульфида рения, структура которых является полиморфной модификацией структуры исходных компонентов. Подтверждено присутствие рения, молибдена и вольфрама в этих фазах в степени окисления (+IV). Полученные данные о фазообразовании в системах дихалькогенидов могут быть практически использованы при создании материалов, обладающих уникальными электронными, магнитными и оптическими свойствами с обширной областью применения.

### Ключевые слова

твердые растворы, интеркалаты, дисульфиды переходных металлов, фазообразование, кристаллическая решетка, энергии связи

Поступила: 07.11.2023

Доработана: 08.12.2023

Принята в печать: 11.04.2024

### Для цитирования

Ефремова Е.И., Лазов М.А., Кобрин М.Р., Фомичев В.В. Твердые растворы в системах дисульфидов  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Ti(IV)S}_2$ ,  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Mo(IV)S}_2$  и  $\text{Re(IV)S}_2\text{--W(IV)S}_2$ . *Тонкие химические технологии*. 2024;19(3):258–266. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-258-266>

RESEARCH ARTICLE

# Solid solutions in disulfide systems Re(IV)S<sub>2</sub>–Ti(IV)S<sub>2</sub>, Re(IV)S<sub>2</sub>–Mo(IV)S<sub>2</sub>, and Re(IV)S<sub>2</sub>–W(IV)S<sub>2</sub>

Ekaterina I. Efremova, Mikhail A. Lazov, Mikhail R. Kobrin✉, Valery V. Fomichev

MIREA — Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, 119571 Russia

✉ Corresponding author, e-mail: kobrin92@ya.ru

## Abstract

**Objectives.** Chalcogenides of transition elements with low oxidation states, as well as their substituted derivatives, remain a poorly studied class of chemical compounds. Rhenium disulfide has many distinctive features and great application potential as a new two-dimensional semiconductor. This is due to its unusual structure and unique anisotropic properties. The presence of weak interlayer bonding and a unique distorted octahedral (1T) structure suggests the possibility of creating new phases on its basis. The aim of this work is to obtain and study phases in systems Re(IV)S<sub>2</sub>–Ti(IV)S<sub>2</sub>, Re(IV)S<sub>2</sub>–Mo(IV)S<sub>2</sub>, and Re(IV)S<sub>2</sub>–W(IV)S<sub>2</sub>.

**Methods.** The samples were obtained by high-temperature solid-phase ampoule synthesis in a vacuum. The study was carried out using X-ray phase analysis and X-ray photoelectron spectroscopy.

**Results.** The regions of existence of solid solutions, intercalates and two-phase regions in the resulting systems were established. Diffraction patterns were obtained for the new phases and the crystal lattice parameters were calculated. Based on data relating to the binding energies of core electrons with the nucleus, the study showed the valence states of the elements after synthesis. The study also confirmed that all phases obtained as a result of synthesis contain transition elements in the oxidation state (IV).

**Conclusions.** Intercalated solid solutions are formed in areas rich in rhenium, while in areas close to titanium and molybdenum disulfides, intercalated phases are attained. In the ReS<sub>2</sub>–WS<sub>2</sub> system there is a region of solid solutions, including 30, 50, and 70 mol % rhenium disulfide. Their structure is a polymorphic modification of the structure of the original components. The presence of rhenium, molybdenum, and tungsten in these phases in the oxidation state (+IV) was confirmed. The data obtained on phase formation in dichalcogenide systems can be practically used in the creation of materials with unique electronic, magnetic, and optical properties with a wide range of applications.

## Keywords

solid solutions, intercalates, transition metal disulfides, phase formation, crystal lattice, binding energies

Submitted: 07.11.2023

Revised: 08.12.2023

Accepted: 11.04.2024

## For citation

Efremova E.I., Lazov M.A., Kobrin M.R., Fomichev V.V. Solid solutions in disulfide systems Re(IV)S<sub>2</sub>–Ti(IV)S<sub>2</sub>, Re(IV)S<sub>2</sub>–Mo(IV)S<sub>2</sub>, and Re(IV)S<sub>2</sub>–W(IV)S<sub>2</sub>. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2024;19(3):258–266. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-258-266>

## ВВЕДЕНИЕ

Слоистые дихалькогениды переходных металлов являются актуальным объектом многочисленных научных исследований благодаря разнообразию физических и физико-химических свойств материалов на основе этих соединений [1–3]. Однако халькогениды переходных элементов с низкой степенью окисления, а также их замещенные производные, до сих пор являются малоизученным классом химических соединений [4].

Дихалькогениды переходных элементов представляют интерес благодаря своей слоистой структуре и широкому спектру электрических свойств от полупроводниковых в 4-й группе (d0) к металлическим

в 5-й (d1) и обратно к полупроводниковым в 6-й (d2). Здесь d0, d1 и d2 — количество свободных валентных электронов, которые остаются после образования связи в дихалькогенидах [5]. Также дихалькогениды могут выступать как сверхпроводники [6]. Кроме того, дихалькогениды известны своими сегнетоэлектрическими, каталитическими и оптическими свойствами, а также имеют запрещенную зону переestraиваемой ширины [7].

Твердые растворы и легированные соединения дисульфидов переходных металлов являются важными объектами исследований в химической технологии (материаловедении) по причине разнообразия электронных, магнитных и оптических свойств, благодаря чему они используются

в электронике (генераторах второй гармоники, полевых транзисторах), катализе и энергетике (солнечных батареях) [2]. Сочетание разных свойств (например, свойств полупроводника и диэлектрика) может привести к интересным результатам для перспективного использования материалов [9, 10]. Переходные металлы и их сульфиды могут быть использованы как добавки для улучшения свойств исходных слоистых материалов. Например, сульфид рения используется как добавка к фотокатализатору для выделения водорода, либо к сульфиду кадмия для увеличения скорости данного процесса, что в будущем позволит полностью отойти от катализаторов на основе благородных металлов [11–13].

Дисульфид рения (ReS<sub>2</sub>) формирует двумерные (2D) слоистые кристаллы [14]. В качестве нового двумерного полупроводника дисульфид рения имеет множество отличительных особенностей и обладает большим потенциалом для применения благодаря своей необычной структуре и уникальным анизотропным свойствам [15]. Также благодаря своей кристаллической структуре дисульфид рения имеет множество отличительных от дихалькогенидов титана, молибдена и вольфрама характеристик, а именно обладает слабой межслойной связью и уникальной искаженной октаэдрической структурой (тип структуры 1T). Такие отличительные характеристики приводят к тому, что объемный и монослойный ReS<sub>2</sub> имеют почти одинаковые зонные структуры, причем оба они относятся к прямозонным полупроводникам [16, 17]<sup>1</sup>.

Можно предположить, что сочетание свойств дисульфидов 4-й и 6-й групп — титана, молибдена, вольфрама — со свойствами дисульфида рения в единой структурированной фазе типа «хозяин–гость» приведет к изменению их свойств.

Цель настоящей работы — синтез новых фаз — твердых растворов в системах Re(IV)S<sub>2</sub>–Ti(IV)S<sub>2</sub>, Re(IV)S<sub>2</sub>–Mo(IV)S<sub>2</sub> и Re(IV)S<sub>2</sub>–W(IV)S<sub>2</sub>.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы следующие исходные вещества: рений — металлический порошок с содержанием основного компонента не менее 99.9% рения (ГОСТ 25278.16-87<sup>2</sup>), титан — металлический порошок, х.ч. (СТП ТУ КОМП 3-272-10),

вольфрам — металлический порошок, х.ч. (СТП ТУ КОМП 3-684-13), сера элементарная (*Компонент-реактив*, Россия, ос.ч., ТУ 3-304-10), дисульфид молибдена (*Спец Металл Мастер*, Россия, ТУ 48-19-133-90). Остальные дихалькогениды были получены прямым взаимодействием порошков соответствующих металлов (титана, вольфрама и рения) и элементарной серы.

Синтез дисульфида рения проводили методом, описанным нами ранее [4]. Навески металлического рения и серы элементарной помещали в кварцевую ампулу, вакуумировали (давление 10<sup>–5</sup> атм), запаивали и помещали в муфельную печь. Синтез проводили в следующем режиме: в течение 5 ч ампулу с реакционной смесью постепенно нагревали до температуры 1000°C и 20 ч выдерживали при указанной температуре. Затем ампулу с образцом охлаждали в печи в течение суток. Выход продукта по сере — стехиометрический. Дисульфиды титана и вольфрама получали аналогичным способом.

Синтез образцов в двойных системах дисульфидов Re(IV)S<sub>2</sub>–Ti(IV)S<sub>2</sub>, Re(IV)S<sub>2</sub>–Mo(IV)S<sub>2</sub> и Re(IV)S<sub>2</sub>–W(IV)S<sub>2</sub> вели следующим образом. Дисульфиды были смешаны в стехиометрических количествах, полученную шихту гомогенизировали на шаровой мельнице в течение 30 мин, после чего ее запаивали в вакуумированной кварцевой ампуле. Синтез вели в муфельной печи. Нагрев до 1100°C вели в течение 10 ч, выдерживали при данной температуре 48 ч, после чего спонтанно охлаждали. Образцы двойных сульфидов готовили с соотношением основного компонента от 0 до 100%.

Рентгеновские исследования выполнены на дифрактометре XRD-6000 (*Shimadzu*, Япония) (Cu-K<sub>α</sub> излучение, 2θ = 10°–60°, шаг съемки 0.2 град/мин, экспозиция 10 с). При идентификации фаз использовали картотеку ICDD-JCPDS<sup>3</sup> (дисульфид рения — карточка 89-0341, тригональная кристаллическая решетка; дисульфид титана — карточка 15-853, гексагональная кристаллическая решетка; дисульфид молибдена — карточка 17-744, гексагональная кристаллическая решетка; дисульфид вольфрама — карточка 8-237, гексагональная кристаллическая решетка).

Исследования электронной структуры и состава методом рентгеновской фотоэлектронной

<sup>1</sup> BE Lookup Table for Signals from Elements and Common Chemical Species. URL: [https://xpslibrary.com/wp-content/uploads/2019/07/BE\\_Lookup\\_table.pdf](https://xpslibrary.com/wp-content/uploads/2019/07/BE_Lookup_table.pdf). Дата обращения 18.10.2022. / Accessed October 18, 2022.

<sup>2</sup> ГОСТ 25278.16-87. Государственный стандарт Союза ССР. Сплавы и легированные металлы. Методы определения рения. М.: Издательство стандартов; 1988. [GOST 25278.16-87. State Standard of the USSR. Alloys and foundry alloys of rare metals. Methods for determination of rhenium. Moscow: Izdatel'stvo standartov; 1998.]

<sup>3</sup> International Center for Diffraction Data (former name—Joint Committee on Powder Diffraction Standards). <https://www.icdd.com/>. Дата обращения 28.12.2023. / Accessed December 28, 2023.

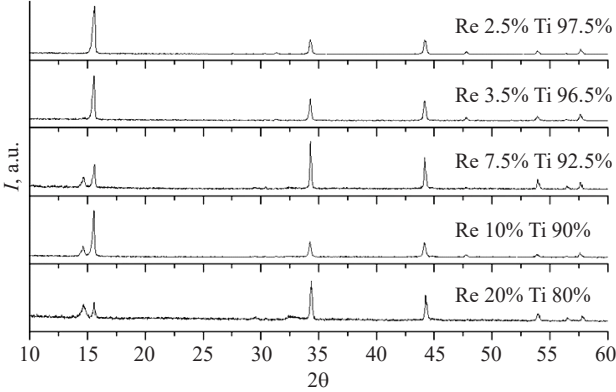
спектроскопии проводили на электронном спектрометре Kratos AXIS Ultra DLD (*Kratos Analytical*, Великобритания) с монохроматизированным рентгеновским источником Al-K<sub>α</sub> ( $h\nu = 1486.6$  эВ, энергетическое разрешение 0.5 эВ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Фазообразование в системе ReS<sub>2</sub>–TiS<sub>2</sub>

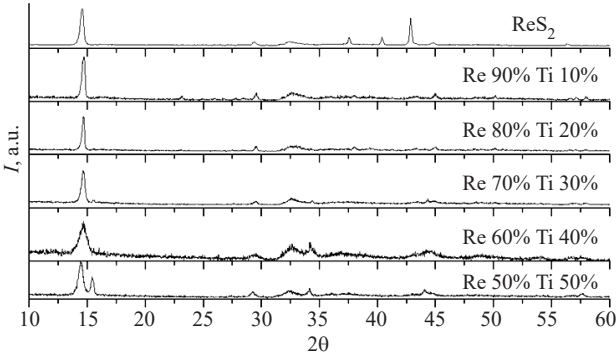
Дифрактограммы некоторых образцов системы в области, богатой титаном, приведены на рис. 1. Рассчитанные параметры элементарной ячейки этих фаз представлены в табл. 1. Необходимо отметить, что характер рентгенограмм исходных компонентов, а именно недостаточность количества рефлексов (например, для дисульфида рения количество рефлексов равно четырем согласно картотеке ICDD-JCPDS), вносит погрешность в расчеты параметров решетки твердых растворов, но не влияет на определение фазообразования синтезированных образцов. На основании результатов рентгенофазового анализа — неизменности параметров кристаллической решетки в этой области концентраций дисульфида рения — можно говорить об образовании твердых растворов состава Re<sub>x</sub>Ti<sub>(1-x)</sub>S<sub>2</sub> в интервале  $0 < x \leq 0.04$ . При увеличении содержания Re было отмечено существование двухфазной области с присутствием TiS<sub>2</sub>.

Анализ рис. 2 показал, что составы с содержанием дисульфида рения 50% имеют две фазы, а с содержанием 60% и больше — одну фазу. Таким образом, в широкой области, богатой рением, реализуются твердые растворы. Видно, что в составах с содержанием рения 60% и 70% присутствуют



**Рис. 1.** Дифрактограммы некоторых образцов системы ReS<sub>2</sub>–TiS<sub>2</sub>, в том числе твердых растворов замещения состава Re<sub>1-x</sub>Ti<sub>x</sub>S<sub>2</sub> (2.5 и 3.5% Re)

**Fig. 1.** Diffraction patterns of some samples of the system ReS<sub>2</sub>–TiS<sub>2</sub>, including solid solutions of composition substitution Re<sub>1-x</sub>Ti<sub>x</sub>S<sub>2</sub> (2.5 and 3.5% Re)



**Рис. 2.** Дифрактограммы исходного ReS<sub>2</sub> и синтезированных из него твердых растворов номинального состава Re<sub>1-x</sub>Ti<sub>x</sub>S<sub>2</sub>

**Fig. 2.** Diffraction patterns of the original ReS<sub>2</sub> and solid solutions synthesized from it with the nominal composition Re<sub>1-x</sub>Ti<sub>x</sub>S<sub>2</sub>

**Таблица 1.** Параметры кристаллической решетки и энергии связей некоторых фаз Re<sub>x</sub>Ti<sub>(1-x)</sub>S<sub>2</sub>

**Table 1.** Crystal lattice parameters and bond energies of some phases Re<sub>x</sub>Ti<sub>(1-x)</sub>S<sub>2</sub>

| Состав<br>Composition                                                                                     | <i>a</i> , Å | <i>c</i> , Å | <i>V</i> , Å <sup>3</sup> | Энергия связи Re, эВ<br>Re bond energy, eV | Энергия связи Ti, эВ<br>Ti bond energy, eV |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------|---------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| ReS <sub>2</sub> , тригональная кристаллическая решетка<br>ReS <sub>2</sub> , trigonal crystal lattice    | 6.35(5)      | 12.78(15)    | 434.49                    | 41.00                                      | —                                          |
| ReS <sub>2</sub> 95%                                                                                      | 6.39(5)      | 12.23(15)    | 432.39                    | 42.06                                      | —                                          |
| ReS <sub>2</sub> 90%                                                                                      | 6.41(5)      | 12.27(15)    | 436.21                    | —                                          | —                                          |
| ReS <sub>2</sub> 80%                                                                                      | 6.55(5)      | 12.76(15)    | 474.91                    | —                                          | —                                          |
| ReS <sub>2</sub> 70%                                                                                      | 6.41(5)      | 12.28(15)    | 437.66                    | —                                          | —                                          |
| ReS <sub>2</sub> 3.5%                                                                                     | 3.40(4)      | 5.69(6)      | 56.93                     | 40.92                                      | 456.09                                     |
| TiS <sub>2</sub> , гексагональная кристаллическая решетка<br>TiS <sub>2</sub> , hexagonal crystal lattice | 3.40(4)      | 5.69(6)      | 57.14                     | —                                          | 457.20                                     |

*Примечание:* *a* и *c* — параметры решетки, *V* — объем элементарной ячейки.

*Note:* *a* and *c* are lattice measurements, *V* is unit cell volume.

рефлексы 34° и 57.7°, которые относятся к фазе дисульфида рения, что хорошо согласуется с данными из базы JCPDS (карточка 89-0341). Для полученных твердых растворов был выполнен расчет параметров кристаллической решетки (табл. 1). При анализе результатов следует иметь в виду, что ионные радиусы всех переходных элементов в степени окисления (IV), рассматриваемых в настоящей работе, примерно равны и составляют ~0.6 Å [18]. В этом случае постоянство параметров кристаллической решетки может свидетельствовать об образовании твердых растворов замещения на основе как дисульфида титана, так и дисульфида рения. В то же время можно предположить, что наблюдаемые изменения параметра *c* свидетельствует об образовании интеркалированных соединений на основе дисульфида рения. Это естественно, если учесть, что слои в структуре дисульфида рения слабо связаны, и межслоевое расстояние у дисульфида рения больше, чем у дисульфида титана. Заметными изменениями, вызванными интеркаляцией рения в TiS<sub>2</sub>, являются уширение дифракционных максимумов (по сравнению с исходными) и снижение их относительной интенсивности. Этот эффект может быть обусловлен появлением микронапряжений в решетке «хозяина» или уменьшением размеров кристаллитов.

Рентгеновские фотоэлектронные спектры измерены для сульфида титана (IV) и образцов трех составов: Re<sub>0.035</sub>Ti<sub>0.965</sub>S<sub>2</sub>, Re<sub>0.95</sub>Ti<sub>0.05</sub>S<sub>2</sub> и образца из двухфазной области с содержанием сульфида рения(IV) 20% (табл. 1). Линия Ti 2p имеет энергию 457.2 эВ, что соответствует четырехвалентному титану в сульфидах. В образцах Re<sub>0.035</sub>Ti<sub>0.965</sub>S<sub>2</sub> и Re<sub>0.95</sub>Ti<sub>0.05</sub>S<sub>2</sub> оба пика титана сдвигались, что может говорить об образовании твердых растворов в рассматриваемых системах. Других форм нахождения рения в образцах не наблюдалось.

## Фазообразование в системе ReS<sub>2</sub>–MoS<sub>2</sub>

На рис. 3 представлены дифрактограммы образцов системы дисульфид рения–дисульфид молибдена с разным соотношением компонентов (от 20 до 90%), результаты расчета параметров кристаллической решетки представлены в табл. 2. Из таблицы видно, что параметры образцов с различным содержанием сульфидов отличаются от параметров чистых дисульфидов металлов.

Анализ полученных рентгенограмм позволяет выделить две области твердых растворов: на основе ReS<sub>2</sub> — до 35 мол. % MoS<sub>2</sub>, на основе MoS<sub>2</sub> — до 20 мол. % ReS<sub>2</sub>. В интервале концентраций от 20 до 65 мол. % MoS<sub>2</sub> в системе наблюдается двухфазная область. Твердые растворы на основе MoS<sub>2</sub> демонстрируют изменение обоих параметров кристаллической решетки по мере увеличения содержания рения, что может свидетельствовать об образовании твердого раствора внедрения. Со стороны дисульфида рения идет резкое изменение параметров *a* и *V* для фазы, содержащей 20 мол. % MoS<sub>2</sub>, что позволяет говорить об образовании твердого раствора внедрения

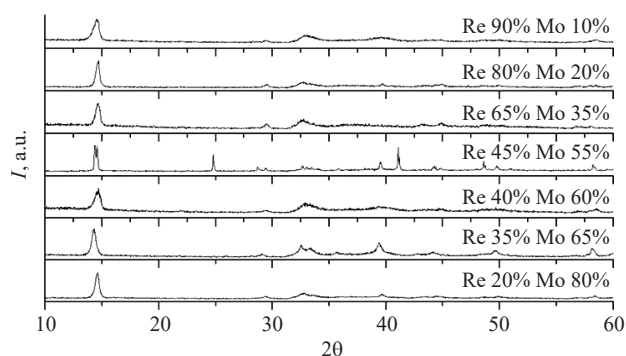


Рис. 3. Дифрактограммы образцов системы ReS<sub>2</sub>–MoS<sub>2</sub>

Fig. 3. Diffraction patterns of the ReS<sub>2</sub>–MoS<sub>2</sub> system

Таблица 2. Параметры кристаллической решетки и энергии связей твердых растворов, образующихся в системе ReS<sub>2</sub>–MoS<sub>2</sub>

Table 2. Crystal lattice parameters and bond energies of solid solutions formed in the ReS<sub>2</sub>–MoS<sub>2</sub> system

| Состав ReS <sub>2</sub><br>ReS <sub>2</sub> composition                                                   | <i>a</i> , Å | <i>c</i> , Å | <i>V</i> , Å <sup>3</sup> | Энергия связи Re, эВ<br>Re bond energy, eV | Энергия связи Mo, эВ<br>Mo bond energy, eV |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------|---------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| MoS <sub>2</sub> , гексагональная кристаллическая решетка<br>MoS <sub>2</sub> , hexagonal crystal lattice | 3.161(18)    | 12.290(4)    | 106.43                    | –                                          | 229.50                                     |
| ReS <sub>2</sub> 20%                                                                                      | 3.165(25)    | 12.254(87)   | 106.30                    | 42.67                                      | 227.21                                     |
| ReS <sub>2</sub> 35%                                                                                      | 3.173(46)    | 12.328(16)   | 107.50                    | 41.15                                      | 226.31                                     |
| ReS <sub>2</sub> 80%                                                                                      | 6.749(03)    | 12.727(5)    | 501.99                    | 41.61                                      | 226.32                                     |
| ReS <sub>2</sub> , тригональная кристаллическая решетка<br>ReS <sub>2</sub> , trigonal crystal lattice    | 6.352(52)    | 12.779(44)   | 434.49                    | 41.00                                      | –                                          |

на основе дисульфида рения. При наличии слабого взаимодействия между слоями ReS<sub>2</sub> внедрение молибдена в структуру слоя естественно будет влиять, в основном, только на параметр *a*, в то время как параметр *c* может оставаться неизменным.

### Фазообразование в системе ReS<sub>2</sub>–WS<sub>2</sub>

По полученным рентгенограммам образцов системы ReS<sub>2</sub>–WS<sub>2</sub> (рис. 4) и рассчитанным параметрам кристаллических решеток (табл. 3), можно сделать вывод об образовании твердых растворов в области с содержанием дисульфида рения от 30 до 70%. Из рис. 4 видно, что рентгенограммы образцов с содержанием дисульфида рения 70, 50 и 30% характеризуются дополнительными отражениями, что может указывать на полиморфизм в этой части двойной системы. Так как наличие полиморфных модификаций в данной системе характерно только для дисульфида вольфрама, можно предположить, что полиморфизм относится именно к данному сульфиду [19]. Уменьшение значений параметров кристаллической решетки твердых растворов по сравнению с параметрами дисульфида рения может быть связано с усилением межслоевого взаимодействия при внедрении в слой WS<sub>2</sub> и выравнивании их волнистого строения.

Рентгеновские фотоэлектронные спектры некоторых синтезированных образцов двойных систем (табл. 1–3, рис. 5) показывают присутствие во всех случаях переходных элементов — титана, молибдена, вольфрама и рения — в степенях окисления (IV). В качестве эталонных соединений при анализе спектров использовались чистые дисульфиды рения, молибдена, вольфрама и титана, которые хорошо согласуются с литературными данными (см. сноску 1). Некоторые изменения энергии связи основных электронов этих элементов обусловлены образованием

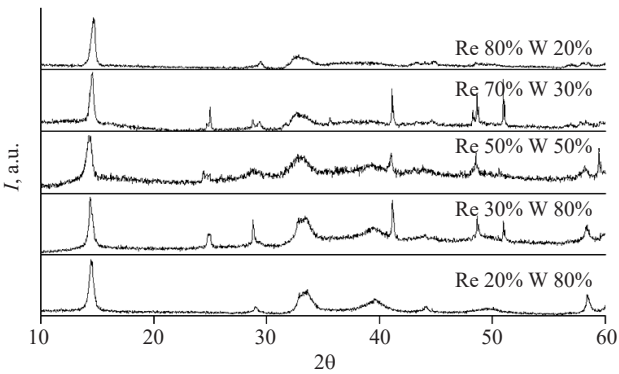


Рис. 4. Дифрактограммы твердых растворов в системы ReS<sub>2</sub>–WS<sub>2</sub>

Fig. 4. Diffraction patterns of solid solutions in the ReS<sub>2</sub>–WS<sub>2</sub> system

твердых растворов. Это закономерно, учитывая, что в индивидуальных дисульфидах межатомные расстояния металл–металл невелики и сопоставимы с межатомными расстояниями в металлах.

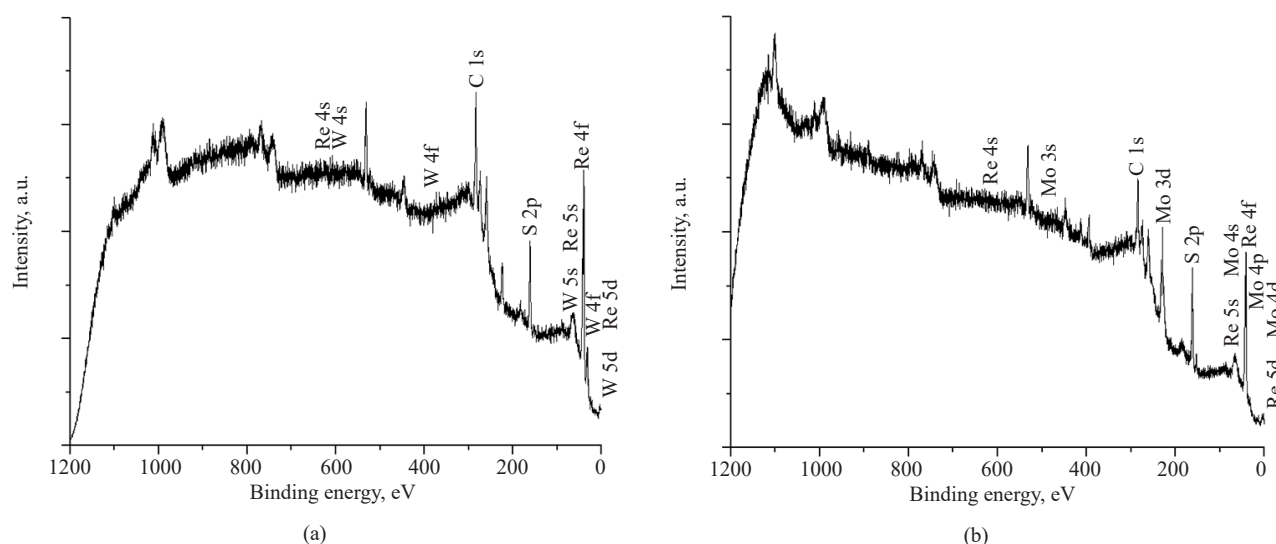
Анализ химического состояния атомов (рения, молибдена и серы) на поверхности сульфидов твердого раствора Re<sub>0.8</sub>Mo<sub>0.2</sub>S<sub>2</sub> заключался в детальном изучении спектров электронных уровней Re 4f, Mo 3d и S 2p, что позволило количественно охарактеризовать энергии связей основных электронов с ядром.

В рентгеновском фотоэлектронном спектре Re 4f происходит спин-орбитальное расщепление пика; во всех образцах элемент характеризуется наличием двух линий, что соответствует литературным данным (см. сноску 1). В образцах с содержанием молибдена энергии связей обоих пиков сдвигались, что может говорить об образовании твердых растворов в рассматриваемых системах. Других форм нахождения рения в образцах не наблюдалось.

Таблица 3. Параметры кристаллической решетки и энергии связей твердых растворов, образующихся в системе ReS<sub>2</sub>–WS<sub>2</sub>

Table 3. Crystal lattice parameters and bond energies of solid solutions formed in the ReS<sub>2</sub>–WS<sub>2</sub> system

| Состав ReS <sub>2</sub><br>ReS <sub>2</sub> composition                                                 | <i>a</i> , Å | <i>c</i> , Å | <i>V</i> , Å <sup>3</sup> | Энергия связи Re, эВ<br>Re bond energy, eV | Энергия связи W, эВ<br>W bond energy, eV |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------|---------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------|
| WS <sub>2</sub> , гексагональная кристаллическая решетка<br>WS <sub>2</sub> , hexagonal crystal lattice | 3.15(6)      | 12.31(54)    | 153.76                    | —                                          | 32.00                                    |
| ReS <sub>2</sub> 20%                                                                                    | 3.29(7)      | 12.4(87)     | 169.05                    | 42.11                                      | 33.88                                    |
| ReS <sub>2</sub> 30%                                                                                    | 5.75(62)     | 12.45(33)    | 519.29                    | 41.27                                      | 32.97                                    |
| ReS <sub>2</sub> 70%                                                                                    | 5.39(7)      | 12.64(56)    | 462.59                    | 40.34                                      | 32.01                                    |
| ReS <sub>2</sub> 80%                                                                                    | 5.71(98)     | 12.69(12)    | 521.08                    | 42.62                                      | 34.67                                    |
| ReS <sub>2</sub> , тригональная кристаллическая решетка<br>ReS <sub>2</sub> , trigonal crystal lattice  | 6.35(21)     | 12.78(65)    | 649.67                    | 41.00                                      | —                                        |



**Рис. 5.** Обзорный спектр твердого раствора  $\text{ReS}_2$  35%– $\text{WS}_2$  65% (a) и твердого раствора  $\text{ReS}_2$  80%– $\text{MoS}_2$  20% (b)

**Fig. 5.** Survey spectrum of the  $\text{ReS}_2$  35%– $\text{WS}_2$  65% solid solution (a) and the  $\text{ReS}_2$  80%– $\text{MoS}_2$  20% solid solution (b)

Молибден присутствует в спектре твердого раствора с содержанием 20% рения в двух линиях и в трех линиях в остальных образцах, что говорит о возможном образовании наряду с дисульфидом еще и оксидной формы с  $\text{Mo(IV)}$ , а также присутствии следовых количеств молибдена в более высоких степенях окисления. Наличие данных пиков не позволяет точно определить атомное соотношение элементов в полученных образцах. Выводы по перераспределению энергии делали только по энергии связи, которая соответствует молибдену в дисульфиде (табл. 2). В образцах, содержащих молибден и вольфрам, энергии связей обоих пиков сдвигались, что может говорить об образовании твердых растворов в рассматриваемых системах.

Вольфрам во всех образцах представлен одной линией, соответствующей энергии сульфида элемента с валентностью (IV). В образцах прослеживается изменение энергии связи остоновых электронов с ядром (табл. 3), что говорит о перераспределении энергии при образовании твердых растворов.

Для системы  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Ti(IV)S}_2$  были исследованы фотоэлектронные спектры трех образцов: интеркалата состава  $\text{Re}_{0.035}\text{Ti}_{0.965}\text{S}_2$ , твердого раствора состава  $\text{Re}_{0.95}\text{Ti}_{0.05}\text{S}_2$  и двухфазной области с содержанием сульфида рения(IV) 20%. По изменению энергии связи можно судить о ее перераспределении, то есть об образовании твердых растворов и интеркалатных соединений.

Для титана в образцах с рением также просматриваются дублеты, один пик которого соответствует сульфиду титана с изменившимся значением энергии связи. Второй пик, который отсутствует в образце чистого сульфида титана, может соответствовать более

окисленной форме титана, который особым образом соединяется с рением; эти данные необходимо исследовать более подробно. Выводы по перераспределению энергии делали только по энергии связи, которая соответствует титану в дисульфиде.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В статье были представлены результаты исследования фазообразования в системах  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Ti(IV)S}_2$ ,  $\text{Re(IV)S}_2\text{--Mo(IV)S}_2$  и  $\text{Re(IV)S}_2\text{--W(IV)S}_2$ . Выполнены рентгеновское фазовое и рентгеновское фотоэлектронноскопическое исследования выделенных фаз. Установлены области существования твердых растворов в системах. Показано, что в богатых рением областях образуются твердые растворы по типу внедрения, в то время как в областях, близких к дисульфидам титана и молибдена, реализуются интеркалированные фазы. В системе  $\text{ReS}_2\text{--WS}_2$  существует область твердых растворов, включающая 30, 50 и 70 мол. % дисульфида рения, структура которых является полиморфной модификацией структуры исходных компонентов (структурный тип  $\text{CdI}_2$ ). Подтверждено присутствие рения, молибдена и вольфрама в этих фазах в степени окисления (IV).

## Вклад авторов

Все авторы в равной степени внесли свой вклад в исследовательскую работу.

## Authors' contribution

All authors equally contributed to the research work.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
 The authors declare no conflicts of interest.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Zhang E., Jin Y., Yuan X., Wang W., Zhang C., Tang L., Liu S., Zhou P., Hu W., Xiu F. ReS<sub>2</sub>-Based Field-Effect Transistors and Photodetectors. *Adv. Funct. Mater.* 2015;25(26): 4076–4082. <https://doi.org/10.1002/adfm.201500969>
2. Al-Dulaimi N., Lewis D.J., Zhong X.L., Malik M.A., O'Brien P. Chemical Vapour Deposition of Rhenium Disulfide and Rhenium-Doped Molybdenum Disulfide Thin Films Using Single-Source Precursors. *J. Mater. Chem.* 2016;4(12): 2312–2318. <https://doi.org/10.1039/C6TC00489J>
3. Lemme M.C., Akinwande D., Huyghebaert C. 2D materials for future heterogeneous electronics. *Nat. Commun.* 2022;13(1):1392. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29001-4>
4. Ионов А.М., Кобрин М.Р., Можиль Р.Н., Сигов А.С., Сыров Ю.В., Фомичев В.В. Синтез и исследование дисульфида рения(IV). *Тонкие химические технологии.* 2017;12(6):83–90. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2017-12-6-83-90>  
[Ionov A.M., Kobrin M.R., Mozchil R.N., Sigov A.S., Syrov Yu.V., Fomichev V.V. Synthesis and study of rhenium(IV) disulphide. *Fine Chem. Technol.* 2017;12(6):83–90 (in Russ.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2017-12-6-83-90>]
5. Dalmatova S.A., Fedorenko A.D., Mazalov L.N., Asanov I.P., Ledneva A.Y., Tarasenko M.S., Enyashin A.N., Zaikovskii V.I., Fedorov V.E. XPS experimental and DFT investigations on solid solutions of Mo<sub>1-x</sub>Re<sub>x</sub>S<sub>2</sub> (0 < x < 0.20). *Nanoscale.* 2018;10(21):10232–10240. <https://doi.org/10.1039/c8nr01661e>
6. Liu C.X. Unconventional Superconductivity in Bilayer Transition Metal Dichalcogenides. *Phys. Rev. Lett.* 2017;118(8):087001. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.118.087001>
7. Huang J., Li X., Jin X., Wang L., Deng Y. High-efficiency and stable photocatalytic hydrogen evolution of rhenium sulfide co-catalyst on Zn<sub>0.3</sub>Cd<sub>0.7</sub>S. *Mater. Adv.* 2020;1(3):363–370. <https://doi.org/10.1039/D0MA00187B>
8. Chen R., Ma M., Luo Y., Qian L., Wan S., Xu S., She X. Fabrication of Ce-ReS<sub>2</sub> by Molten Salt for Electrochemical Hydrogen Evolution. *Trans. Tianjin University.* 2022;28(60):440–445. <http://doi.org/10.1007/s12209-022-00314-1>
9. Пономаренко В.П., Попов В.С., Попов С.В., Чепурнов Е.Л. Фото- и наноэлектроника на основе двумерных 2D-материалов. (обзор). (Часть I. 2D-материалы: свойства и синтез). *Успехи прикладной физики.* 2019;7(1):10–48.  
[Ponomarenko V.P., Popov V.S., Popov S.V., Chepurinov E.L. Photo- and nanoelectronics based on two-dimensional 2D-materials (a review) (Part I. 2D-materials: properties and synthesis). *Uspekhi Prikladnoi Fiziki = Advances in Applied Physics.* 2019;7(1):10–48 (in Russ.).]
10. Azizar G.A.B., Hong J.W. Optimizing intrinsic cocatalyst activity and light absorption efficiency for efficient hydrogen evolution of 1D/2D ReS<sub>2</sub>-CdS photocatalysts via control of ReS<sub>2</sub> nanosheet layer growth. *J. Mater. Sci. Technol.* 2023;168:103–113. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2023.05.035>
11. Su N., Bai Y., Shi Z., Li J. ReS<sub>2</sub> Cocatalyst Improves the Hydrogen Production Performance of the CdS/ZnS Photocatalyst. *ACS Omega.* 2023;8(6):6059–6066. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c08110>
12. Wang N., Li Y., Wang L., Yu X. Photocatalytic Applications of ReS<sub>2</sub>-Based Heterostructures. *Molecules.* 2023;28(6):2627. <http://doi.org/10.3390/molecules28062627>
13. Rahman M., Davey K., Qiao S. Advent of 2D Rhenium Disulfide (ReS<sub>2</sub>): Fundamentals to Applications. *Adv. Functional Mater.* 2017;27(10). <https://doi.org/10.1002/adfm.201606129>
14. Satheesh P.P., Jang H-S., Pandit B., Chandramohan S., Heo K. 2D Rhenium Dichalcogenides: From Fundamental Properties to Recent Advances in Photodetector Technology. *Adv. Functional Mater.* 2023;33(16). <https://doi.org/10.1002/adfm.202212167>
15. Hart L., Dale S., Hoyer S., Webb J.L., Wolverson D. Rhenium dichalcogenides: layered semiconductors with two vertical orientations. *Nano Lett.* 2016;16(2):1381–1386. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.5b04838>
16. Wolverson D., Hart L.S. Lattice dynamics of the rhenium and technetium dichalcogenides. *Nanoscale Res. Lett.* 2016;11(1):250. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1459-9>
17. Wolverson D., Crampin S., Kazemi A.S., Ilie A., Bending S.J. Raman spectra of monolayer, few-layer, and bulk ReSe<sub>2</sub>: an anisotropic layered semiconductor. *ACS Nano.* 2014;8(11):11154–11164. <https://doi.org/10.1021/nn5053926>
18. Shannon R.D., Prewitt C.T. Revised values of effective ionic radii. *Acta Cryst.* 1970;B26(7):1046–1048. <https://doi.org/10.1107/S0567740870003576>
19. Голубь А.С., Зубавичус Я.В., Словохотов Ю.Л., Новиков Ю.Н. Монослоевые дисперсии дихалькогенидов переходных металлов в синтезе интеркаляционных соединений. *Успехи химии.* 2003;72(2):138–158.  
[Golub A.S., Zubavichus Ya.V., Slovokhotov Yu.L., Novikov Yu.N. Single-layer dispersions of transition metal dichalcogenides in the synthesis of intercalation compounds. *Russ. Chem. Rev.* 2003;72(2):123–141. <https://doi.org/10.1070/RC2003v072n02ABEH000789>]  
[Original Russian Text: Golub A.S., Zubavichus Ya.V., Slovokhotov Yu.L., Novikov Yu.N. Single-layer dispersions of transition metal dichalcogenides in the synthesis of intercalation compounds. *Uspekhi khimii.* 2003;72(2): 138–158 (in Russ.).]

### Об авторах

**Ефремова Екатерина Игоревна**, к.х.н., доцент кафедры неорганической химии им. А.Н. Реформатского, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: katifeefremova@yandex.ru. Scopus Author ID 56506855800, SPIN-код РИНЦ 8228-8730, <https://orcid.org/0009-0005-1088-7308>

**Лазов Михаил Александрович**, к.х.н., ассистент, кафедра аналитической химии им. И.П. Алимариной, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: lazovm@gmail.com. Scopus Author ID 56466030700, SPIN-код РИНЦ 9661-9280, <https://orcid.org/0000-0001-8578-1683>

**Кобрин Михаил Романович**, преподаватель, кафедра неорганической химии им. А.Н. Реформатского, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: kobrin92@ya.ru. SPIN-код РИНЦ 9071-5240, <https://orcid.org/0000-0002-8744-3028>

**Фомичев Валерий Вячеславович**, д.х.н., профессор кафедры химии и технологии редких элементов им. Большакова К.А., Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: valeryfom@rambler.ru. Scopus Author ID 57196028937, ResearcherID P-9883-2017, SPIN-код РИНЦ 8950-0895, <https://orcid.org/0000-0003-4840-0655>

### About the authors

**Ekaterina I. Efremova**, Cand. Sci. (Chem.), Assistant Professor, A.N. Reformatskii Department of Inorganic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: katifeefremova@yandex.ru. Scopus Author ID 56506855800, RSCI SPIN-code 8228-8730, <https://orcid.org/0009-0005-1088-7308>

**Mikhail A. Lazov**, Cand. Sci. (Chem.), Assistant Professor, I.P. Alimarin Department of Analytical Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: lazovm@gmail.com. Scopus Author ID 56466030700, RSCI SPIN-code 9661-9280, <https://orcid.org/0000-0001-8578-1683>

**Mikhail R. Kobrin**, Lecturer, A.N. Reformatskii Department of Inorganic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: kobrin92@ya.ru. RSCI SPIN-code 9071-5240, <https://orcid.org/0000-0002-8744-3028>

**Valery V. Fomichev**, Dr. Sci. (Chem.), Professor, K.A. Bolshakov Department of Chemistry and Technology of Rare Elements, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: valeryfom@rambler.ru. Scopus Author ID 57196028937, ResearcherID P-9883-2017, RSCI SPIN-code 8950-0895, <https://orcid.org/0000-0003-4840-0655>

Отпечатано в МИРЭА – Российском технологическом университете.

119454, РФ, Москва, пр-т Вернадского, д. 78.

Подписано в печать 27.06.2024.

Формат 60×90/8. Печать цифровая.

Уч.-изд. листов 11.5.

Тираж 100 экз. Заказ № 1273.

Printed in MIREA – Russian Technological University.

78, Vernadskogo pr., Moscow, 119454, Russian Federation.

Signed to print on June 27, 2024.

Format 60×90/8. Digital print.

C.p.l. 11.5.

100 copies. Order no. 1273.

Подписку на печатную версию журнала

*Тонкие химические технологии* = *Fine Chemical Technologies*  
можно оформить через ООО «Агентство «Книга-Сервис»,  
[www.akc.ru](http://www.akc.ru).

Подписной индекс: **36924**.

Subscription to the

*Tonkie Khimicheskie Tekhnologii* = *Fine Chemical Technologies*  
printed version can be made through the *Kniga-Servis* Agency,  
[www.akc.ru](http://www.akc.ru).

Subscription index: **36924**.

