



ТЕМА НОМЕРА:

НАУЧНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
СОБЛЮДЕНИЯ КОНВЕНЦИЙ
О ЗАПРЕЩЕНИИ ХИМИЧЕСКОГО
И БИОЛОГИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
ФГБУ «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации

JOURNAL OF NBC
PROTECTION CORPS

ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

Том 5, № 3
июль-сентябрь

2021

В НОМЕРЕ:

- Специальное учение «Защита-2021» войск РХБ защиты Вооруженных Сил Российской Федерации
- Современные подходы в области молекулярной генетики вирусов при изучении представителей семейства Coronaviridae
- Разработка модели выбора базовых изобретений

Наша замечательная Россия

Новодвинская крепость, Архангельск



В 1700 г. в Москву поступила информация, что шведский король Карл XII отдал тайный приказ о снаряжении военной флотилии для нападения на Архангельск. В декабре того же года двинскому воеводе А.П. Прозоровскому царь Петр Первый предписал заняться подготовкой к строительным работам, чтобы весной 1701 г. начать возведение новой крепости на подступах к Архангельску со стороны моря. Уже в 1705 г. крепость была вооружена 180 пушками, которые располагались по всему периметру на валганге (верхняя часть крепостного вала, спереди защищенная бруствером). Новодвинская крепость – «старшая сестра» Петропавловской крепости в Петербурге. По проекту – типичная голландская крепость, с каких начинались многие города голландских колоний, в том числе и Нью-Йорк. Несмотря на утраты, она дошла до нашего времени в своем первоначальном виде, ни разу не подвергаясь перестройкам. Здесь же в 1702 г. русскими была одержана первая после нарвской «конфузии» победа над шведами, пытавшимися с моря прорваться к Архангельску и уничтожить верфи. Эта история достоверно рассказана в фильме «Россия молодая».

Фотография верхнего ряда – вид на крепость со стороны южных ворот. Фигурки людей позволяют оценить масштаб сооружения. Толщина земляных валов куртин, с учетом каменных крепостных стен, в основании – 20–21 м, в верхней части – 13–14 м. Толщина каменных стен – от 2,3 до 3,3 м, с контрфорсами – 5 м. Высота каменной стены – 5 м, земляного вала – 6,5 м. Длина каменных стен между бастионами – 120 м, общая длина стен одного бастиона – 300 м. Фотографии нижнего ряда: слева – кроме ворот, крепость соединялась с внешним миром более чем десятком подземных ходов; в центре – дом коменданта; справа – вид на бастион Флажный.



ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

ISSN 2587-5728
(Print)

Том 5, № 3
2021 г.

Журнал издается
с 2017 года

Рецензируемый научно-практический журнал, специализирующийся на освещении химических и биологических угроз Российской Федерации, научных достижений по основным направлениям деятельности и задачам войск РХБ защиты ВС РФ, повышении профессионального уровня специалистов войск РХБ защиты ВС РФ, возрождении интереса к их истории и привлечении молодых ученых к работе в научно-исследовательских организациях войск РХБ защиты ВС РФ

Учредитель и издатель

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр»
Министерства обороны
Российской Федерации
(27 НЦ МО РФ)

Выходит ежеквартально

Главный редактор

д-р техн. наук, доц. Петров С.В. (Москва)

Заместители главного редактора

канд. биол. наук, снс Супотницкий М.В. (Москва)
канд. техн. наук, доц. Колесников Д.П. (Москва)

Ответственный секретарь

Шило Н.И. (Москва)

Научный редактор

канд. биол. наук Лебединская Е.В. (Москва)

Редакционная коллегия

член-корреспондент РАН, д-р биол. наук, проф.
Аминин Д.Л. (Владивосток)
д-р мед. наук, проф. Дармов И.В. (Киров)
д-р биол. наук, проф. Ефременко Е.Н. (Москва)
д-р биол. наук, проф. Завьялова Н.В. (Москва)
д-р техн. наук, проф. Мухин В.М.
(Электросталь)
д-р мед. наук, проф. Рембовский В.Р.
(Санкт-Петербург)
д-р хим. наук Родин И.А. (Москва)
д-р хим. наук, проф. Рыбальченко И.В. (Москва)
д-р хим. наук Савельева Е.И. (Санкт-Петербург)

Редакционный совет

Председатель –
канд. воен. наук Кириллов И.А. (Москва)

Заместители председателя:

канд. экон. наук Кикоть С.Г. (Москва)
канд. хим. наук, доц. Ковтун В.А. (Москва)

Члены редакционного совета:

д-р воен. наук Иноземцев В.А. (Вольск)
д-р техн. наук, проф. Кондратьев В.Б. (Москва)
канд. мед. наук Туманов А.С. (Киров)
д-р хим. наук, проф. Холстов В.И. (Москва)

Дизайн, верстка: Сластилова Л.М. (Москва)

Адрес редакции:

27 НЦ МО РФ, 105005, г. Москва,
Бригадирский пер., д. 13.
Тел.: 8 (499) 265-42-90, e-mail: 27nc@mail.ru.
Издание зарегистрировано Федеральной
службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых
коммуникаций (Роскомнадзор).
Свидетельство о регистрации средства
массовой информации
ПИ № ФС 77-69472 от 25.04.2017 г.
Все права защищены. При перепечатке
материалов и размещении их на
интернет-ресурсах ссылка на журнал
обязательна.

Подписано в печать: 25.09.2021 г. Тираж 500 экз.
Отпечатано в типографии:
ФГУП «ЦНИИХМ им. Д.И. Менделеева»,
115487, г. Москва, ул. Нагатинская, д. 16 А.
Тел.: 8 (499) 661-80-46, e-mail: ntrved@cniim.ru

СОДЕРЖАНИЕ

Редакционная статья

Специальное учение войск РХБ защиты Вооруженных Сил
Российской Федерации «Защита-2021»
И.А. Кириллов. 203

Проблемы соблюдения конвенций о запрещении химического и биологического оружия

Синтез дейтерированных производных метилфосфоновой кислоты
для использования в качестве стандартных соединений в анализе
токсичных химикатов
В.А. Яшкир, В.И. Крылов, И.И. Крылов, А.В. Браун,
Д.В. Орешкин, И.В. Рыбальченко, В.Н. Фатеенков. 204

Биологическая безопасность и защита от биологических угроз

Современные подходы в области молекулярной генетики вирусов при изучении
представителей семейства Coronaviridae
М.В. Супотницкий. 217

Современные подходы к решению задач по подготовке проб к анализу методом
полимеразной цепной реакции

М.С. Тихвинский, А.А. Воробьев, Я.А. Кириев, Г.С. Усенко, А.И. Козлов, С.Г. Исупов. 236

Химическая безопасность и защита от химического терроризма

Технологии химической утилизации имитационных рецептур и компонентов
специальных средств на химической основе
М.В. Воробьев, А.А. Цветков, О.В. Лапишинов. 247

Вооружение войск РХБ защиты и средства РХБ защиты

Влияние дисперсности аэрозоля на его маскирующую способность
Д.П. Колесников, В.Н. Пенязь, М.А. Голышев, Д.Н. Буряк, И.В. Артамонов. 260

Охрана результатов интеллектуальной деятельности в войсках РХБ защиты

Разработка модели выбора базовых изобретений для оценки значимости
объектов интеллектуальной собственности при совершенствовании и развитии
средств защиты от оружия массового поражения
О.Н. Никонова, Д.В. Фролов, А.И. Сорокин,
Е.Д. Клещенко, Ю.П. Злобина, О.Н. Тягин. 269

Хроника

В Главном Храме Вооруженных Сил Российской Федерации состоялось
освящение и передача иконы войск РХБ защиты. 283

О встрече командования войск РХБЗ и руководства Союза ветеранов войск
РХБЗ с Главой Владимирской митрополии, духовником верующих
военнослужащих войск РХБ защиты. 284

Всероссийская военно-историческая конференция «Правда и вымыслы
о Второй мировой войне». 287

Вторая Всероссийская научно-практическая конференция «Исследование вопросов
радиационной, химической и биологической защиты в мирное и военное время». 292

В Военной академии РХБ защиты им. Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко
прошла торжественная церемония приведения первокурсников к Военной присяге. 295

Киселёв Александр Фёдорович (к 90-летию со дня рождения). 296

Рыбальченко Игорь Владимирович (к 75-летию со дня рождения). 297

Якимчук Петр Трофимович (к 75-летию со дня рождения). 300

Все рукописи проверяются программой «Антиплагиат».

Журнал включен в научную электронную библиотеку eLIBRARY.RU и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).
Условия оферты для авторов приведены в п. 11 Правил направления и опубликования научных статей в
журнале «Вестник войск РХБ защиты» (Вестник войск РХБ защиты. 2020. Т. 4. № 1. С. 89–97).



Published since
2017

JOURNAL

OF NBC PROTECTION CORPS

ISSN 2587-5728
(Print)
Vol. 5 No 3
2021

«Journal of NBC Protection Corps» is a peer-reviewed scientific and practical journal, publishing papers in the fields of chemical and biological threats to the Russian Federation. It covers scientific achievements in the main spheres and tasks of the NBC Protection Troops. The objective of the journal is to improve the professional level of specialists of the NBC Protection Troops, to revive the interest in their history and to attract young scientists to the work in scientific research organization of the NBC Protection Troops

Founder and Publisher

Federal State Budgetary Establishment
«27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence
of the Russian Federation.

Quarterly Edition

Editor-in-Chief

Doctor of Technical Sciences, Associate Professor
Petrov S.V. (Moscow)

Deputy Editors-in-Chief

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
Supotnitskiy M.V. (Moscow)

Candidate of Technical Sciences, Associate Professor
Kolesnikov D.P. (Moscow)

Executive Secretary

Shilo N.I. (Moscow)

Science Editor

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
Lebedinskaya E.V. (Moscow)

Editorial Board

Corresponding Member of RAS, Doctor of Biological
Sciences, Professor Aminin D.L. (Vladivostok)

Doctor of Medical Sciences, Professor

Darmov I.V. (Kirov)

Doctor of Biological Sciences, Professor

Efremenko E.N. (Moscow)

Doctor of Biological Sciences, Professor

Zavyalova N.V. (Moscow)

Doctor of Technical Sciences, Professor

Mukhin V.M. (Elektrostal)

Doctor of Medical Sciences, Professor

Rembovskiy V.R. (St.-Petersburg)

Doctor of Chemical Sciences Rodin I.A. (Moscow)

Doctor of Chemical Sciences, Professor

Rybalchenko I.V. (Moscow)

Doctor of Chemical Sciences

Savelieva E.I. (St.-Petersburg)

Editorial Council

Chairman –

Candidate of Military Sciences Kirillov I.A. (Moscow)

Vice-Chairmen:

Candidate of Economical Sciences Kikot S.G.

(Moscow)

Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor

Kovtun V.A. (Moscow)

Editorial Council Members:

Doctor of Military Sciences

Inozemcev V.A. (Volsk)

Doctor of Technical Sciences, Professor

Kondratyev V.B. (Moscow)

Candidate of Medical Sciences Tumanov A.S. (Kirov)

Doctor of Chemical Sciences, Professor

Kholstov V.I. (Moscow)

CRS preparation: Slasilova L.M. (Moscow)

Address of the Editorial Office

Federal State Budgetary Establishment
«27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence

of the Russian Federation, Brigadirskii Lane 13,

Moscow 105005, Russian Federation.

Tel.: 8 (499) 265-42-90, e-mail: 27nc@mil.ru.

Publication is registered by the Federal

Service for Supervision in the Sphere of

Telecom, Information Technologies and Mass

Communications.

Certification of the Mass Media

ПН № ФС 77-69472, April 25, 2017.

All rights reserved. Links to the journal are

obligatory while citing.

The publication data for the journal is

25 September, 2021.

Circulation: 500 copies.

Published in: Federal State Unitary Establishment

«TsNIIKhM» named after D.I. Mendeleev,

Nagatinskaya Str. 16A, Moscow 115487, Russian

Federation Tel.: 8 (499) 661-80-46,

e-mail: ntrved@cniihm.ru

CONTENTS

Editorial

Special Exercise of the NBC Protection Troops of the Armed Forces of the Russian
Federation «Defence-2021»

I.A. Kirillov. 203

The Problems of Adherence to the Chemical and Biological Weapons Conventions

Synthesis of Deuterated Methylphosphonic Acid Derivatives for Use as Standard
Compounds in the Analysis of Toxic Chemicals

V.A. Yashkir, V.I. Krylov, I.I. Krylov, A.V. Brown, D.V. Oreshkin,
I.V. Rybalchenko, V.N. Fateenkov 204

Biological Security and Protection against Biological Threats

Modern Approaches to Molecular Genetics of Viruses in the Study of the Members of
the Family Coronaviridae

M.V. Supotnitskiy. 217

Current State of Method Development for PCR Sample Preparations

M.S. Tikhvinskiy, A.A. Vorobiov, Ya.A. Kibirev,
G.S. Usenko, A.I. Kozlov, S.G. Isupov. 236

Chemical Security and Protection against Chemical Terrorism

Technologies for Chemical Utilization of Imitation Recipes and Components
of Special Products on a Chemical Basis

M.V. Vorobiev, A.A. Tsvetkov, O.V. Lapshinov 247

Weapons and Means of NBC Protection Troops

Effect of Aerosol Dispersion on Its Masking Ability

D.P. Kolesnikov, V.N. Peniaz, M.A. Golyshev, D.N. Buryak, I.V. Artamonov 260

Protection of the Results of Intellectual Activity in the NBC Protection Troops

The Creation of the Basic Inventions Classification Model for the Estimating
Significance of Intellectual Property Objects considering the Development of Means of
Protection against Weapons of Mass Destruction

O.N. Nikonova, D.V. Frolov, A.I. Sorokin, E.D. Kleshchenko,
Y.P. Zlobina, O.N. Tjzhin 269

Cronicle

Consecration and Transfer of the Icon of the NBC Protection Troops Took Place in the Main
Temple of the Armed Forces of the Russian Federation 283

On the Meeting of the Command of the NBC Protection Troops and the Leadership
of the Union of Veterans of the NBC Protection Troops with the Head

of the Vladimir Metropole 284

All-Russian Military Historical Conference «Truth and Fiction
about the Second World War» 287

The Second All-Russian Scientific and Practical Conference «Issues of Radiation,
Chemical and Biological Protection in Peacetime and Wartime» 292

Oath of Allegiance of the Freshers in the Military Academy of Radiation, Chemical
and Biological Defense named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko 295

Alexander Fedorovich Kiselev (90th Birth Anniversary). 296

Igor Vladimirovich Rybalchenko (75-th Birth Anniversary) 297

Pyotr Trofimovich Yakimchuk (75-th Birth Anniversary) 300

All the manuscripts are checked by the Antiplagiat program.

The journal is included into the scientific electronic library eLIBRARY.RU and the Russian Science Citation Index.

Terms of the offer for the authors are given in the Article 11 of the Rules for the authors (Journal of NBC
Protections Corps. 2020. V. 4. No 1. P. 89-97).

Специальное учение войск РХБ защиты Вооруженных Сил Российской Федерации «Защита-2021»

В войсках радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации в период с 27 июля по 27 августа 2021 года на фоне военно-стратегической обстановки, складывающейся к началу стратегического учения «Запад-2021», прошло специальное учение «Защита-2021», в ходе которого был отработан комплекс возлагаемых на войска задач. К учению привлекались две бригады и пять полков РХБ защиты общей численностью свыше пяти тысяч военнослужащих и восьмиста единиц техники.

На первом этапе учения, в период с 27 по 30 июля, отработывались вопросы планирования и межвидового взаимодействия при совместном выполнении задач по ликвидации последствий аварии на Курской АЭС, а также очага биологического заражения в г. Курчатове подразделениями войск РХБ защиты, Национальной гвардии, МВД, МЧС, при участии корпорации «Росатом», ФМБА и Роспотребнадзора России. Силами бригады РХБ защиты Западного военного округа и полка РХБ защиты центрального подчинения была проведена РХБ разведка на маршрутах движения общей протяженностью более 300 км и территории общей площадью свыше 600 км², проведена специальная обработка 400 единиц «условно зараженной» военной и гражданской техники. Подразделениями аэрозольного противодействия осуществлялась маскировка стартовых позиций зенитной ракетной бригады, прикрывающей Курскую АЭС. Силами научно-исследовательского центра биологической защиты выполнен комплекс мероприятий по недопущению опасного инфекционного заболевания среди гражданского населения вследствие условного применения биологических средств диверсионным способом.

Второй этап учения проходил на территории объединенного пункта базирования сил Северного флота (г. Северодвинск) в период с 5 по 7 августа. В ходе учения отработывались вопросы ликвидации последствий радиационной аварии на атомной подводной лодке. К выполнению задач привлекались подразделения РХБ защиты и службы радиационной безопасности Северного флота, а также мобильная бригада и полк РХБ защиты центрального подчинения. Осуществлена разведка на прилегающих территориях с целью выявления радиационной обстановки, дезактивировано значительное количество «условно зараженной» техники и поверхностей сооружений. В ходе работы апробирована новая универсальная тепловая машина УТМ-80М для обработки объектов подводных сил флота.

Третий этап учения проходил в период с 25 по 27 августа на полигоне Мулино (Нижегородская обл.) с привлечением всех соединений и воинских частей РХБ защиты Западного и Центрального военных округов, научно-исследовательских организаций войск РХБ защиты, а также общевойсковых танковых подразделений. На данном этапе отработывались вопросы работы органов управления по уточнению спланированных мероприятий РХБ защиты в интересах группировки войск (сил) на Западном стратегическом направлении в условиях возможного нарастания угрозы агрессии, разработаны и доведены до подчиненных войск распорядительные документы.

При подготовке к операции была проведена комплексная тренировка сил и средств аэрозольного противодействия, в ходе которой осуществлялась постановка маскирующих площадных аэрозольных завес для снижения заметности элементов командных пунктов, районов сосредоточения мотострелковых танковых подразделений, а также линейных завес для скрытия от противника эшелонов, выдвигающихся из глубины. Особое внимание уделялось применению маскирующих пенных покрытий. В рамках тренировки по подготовке подразделений к действиям в условиях радиоактивного, химического и биологического заражения были развернуты пункты специальной обработки, действующие в интересах мотострелковых подразделений, преодолевших зараженные участки местности с использованием имитационных средств. В ходе тренировки по огневому поражению противника силами мобильной группы, тяжелых огнеметных систем, были поражены условные цели, имитировавшие колонны бронетехники противника.

Проведенное учение явилось важнейшей вехой в деле подготовки войск РХБ защиты к выполнению функциональных задач в соответствии со своим предназначением. Оно еще раз показало, что войска РХБ защиты готовы и способны в любой обстановке обеспечить не только выполнение Вооруженными Силами задач, но и жизнедеятельность населения и функционирование объектов научно-промышленного потенциала государства в условиях возникновения (проявления) опасных факторов радиационного, химического и биологического характера.

Начальник войск РХБ защиты ВС РФ
генерал-лейтенант



И.А. Кириллов

Синтез дейтерированных производных метилфосфоновой кислоты для использования в качестве стандартных соединений в анализе токсичных химикатов

В.А. Яшкир, В.И. Крылов, И.И. Крылов, А.В. Браун,

Д.В. Орешкин, И.В. Рыбальченко, В.Н. Фатеенков

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации,
105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13

Поступила 05.09.2021 г. Принята к публикации 23.09.2021 г.

Одним из способов обеспечения высокой достоверности обнаружения, идентификации и точности количественного определения токсичных химикатов (ТХ) в экологических и биомедицинских пробах методами газовой и жидкостной хромато-масс-спектрометрии является использование в качестве добавок к анализируемой пробе внутренних стандартов (ВС), которые, в отличие от целевых ТХ, содержат в своем составе стабильные изотопы – такие, как D, ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O . При этом предпочтение отдается наиболее доступным стабильным дейтерированным соединениям. Меченые стабильными изотопами ВС широко используются в многочисленных исследованиях по разработке методов анализа различных токсичных химикатов – в частности, алкилфосфоновых кислот. Для оперативного и качественного выполнения задач, возлагаемых на назначенную лабораторию, представляется необходимым иметь физический банк образцов меченых стабильными изотопами ВС, соответствующих тем ТХ, появление которых в анализируемых пробах наиболее вероятно. К ним, прежде всего, относятся стабильные продукты разложения таких фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ), как зарин, зоман, циклозарин, VX, VR, CVX, а именно – метилфосфоновая кислота, ее этиловый, изопропиловый, бутиловый, изобутиловый, пинаколиловый и циклогексиловый эфиры, а также соответствующие симметричные диэфиры. *Цель работы* – синтез дейтерированных производных метилфосфоновой кислоты для использования в качестве стандартных соединений в анализе токсичных химикатов. Нами синтезированы ВС состава дейтерометилфосфоновой кислоты и ее производных: хлорангидридов О-алкиловых эфиров дейтерометилфосфоновых кислот, кислых О-алкиловых эфиров дейтерометилфосфоновых кислот, О,О-диалкиловых эфиров дейтерометилфосфоновых кислот, а также бис-дейтерометилэфир дейтерометилфосфоновой кислоты, аддукты тирозина и трипептида Tyr-Thr-Lys с хлорангидами О-изопропилового и О-циклогексилового эфиров дейтерометилфосфоновой кислоты. Изучены ЯМР ^2H , ^{31}P , ГХ-МС и ВЭЖХ-МС спектральные характеристики синтезированных веществ.

Ключевые слова: внутренний стандарт; ВЭЖХ-МС; дейтерий; дейтерометилфосфоновая кислота; изомеризация; изотоп; синтез; спектрометрия; ГХ-МС; триизопропилфосфит; фосфонат; фосфоновая кислота; ЯМР спектроскопия.

Библиографическое описание: Яшкир В.А., Крылов В.И., Крылов И.И., Браун А.В., Орешкин Д.В., Рыбальченко И.В., Фатеенков В.Н. Синтез дейтерированных производных метилфосфоновой кислоты для использования в качестве стандартных соединений в анализе токсичных химикатов // Вестник войск РХБ защиты. 2021. Т. 5. № 3. С. 204–216. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-1-3-204-216>

Лаборатория химико-аналитического контроля федерального государственного бюджетного учреждения «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации аккредитована Организацией по запрещению химического оружия (ОЗХО) в качестве «назначенной» для проведения анализов экологических и биомедицинских проб, отобранных в местах предполагаемого применения химического оружия. Лаборатория имеет действующее Техническое соглашение с Техническим секретариатом ОЗХО, дающее ей право на проведение анализа таких проб, предоставляемых инспекционными группами ОЗХО, и регламентирующее порядок взаимодействия с ОЗХО при выполнении этих работ.

Одним из способов обеспечения высокой достоверности обнаружения, идентификации и точности количественного определения токсичных химикатов (ТХ) в экологических и биомедицинских пробах методами газовой и жидкостной хромато-масс-спектрометрии является использование в качестве добавок к анализируемой пробе внутренних стандартов (ВС), которые, в отличие от целевых ТХ, содержат в своем составе стабильные изотопы – такие, как D, ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O . При этом предпочтение отдается наиболее доступным стабильным дейтерированным соединениям [1]. Регистрация в масс-спектре пиков фрагментов со значениями m/z , превышающими значения m/z фрагментов целевого ТХ на величину, соответствующую суммарной массе изотопов D, включенных в структуру молекулы ВС, гарантирует достоверность идентификации ТХ, а отношение значений откликов ТХ и ВС, внесенного в анализируемую пробу – точность количественного определения.

Меченые стабильными изотопами ВС широко используются в многочисленных исследованиях по разработке методов анализа различных токсичных химикатов, в частности, алкилфосфоновых кислот [2–4], фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) [5–10] и иприта [11–14].

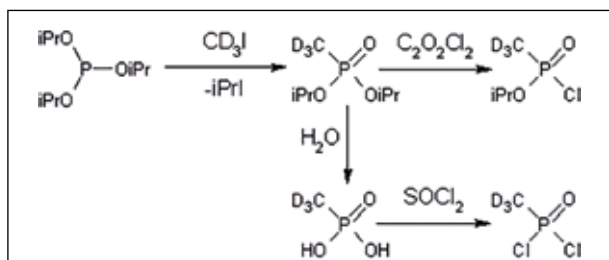


Рисунок 1 – Схема получения дихлорангидрида дейтерометилфосфоновой кислоты и хлорангидрида изопропилового эфира дейтерометилфосфоновой кислоты

Для оперативного и качественного выполнения задач, возлагаемых на «назначенную» лабораторию, представляется необходимым иметь физический банк образцов меченых стабильными изотопами ВС, соответствующих тем ТХ, появление которых в анализируемых пробах наиболее вероятно. К ним, прежде всего, относятся стабильные продукты разложения таких ФОВ, как зарин, зоман, циклозарин, VX, VR, CVX, а именно – метилфосфоновая кислота, ее этиловый, изопропиловый, бутиловый, изобутиловый, пинаколиловый и циклогексиловый эфиры, а также соответствующие симметричные диэфиры.

Цель работы – синтез дейтерированных производных метилфосфоновой кислоты для использования в качестве стандартных соединений в анализе токсичных химикатов.

Задачами настоящей работы явились разработка методик синтеза меченых стабильными изотопами внутренних стандартов продуктов разложения ФОВ, получение их необходимых количеств для формирования физического банка образцов, а также изучение масс-спектрометрических характеристик синтезированных соединений.

Так как продукты разложения ФОВ представляют собой алкилфосфоновые кислоты и их производные, необходимо рассмотреть возможные методы синтеза их дейтерированных аналогов, в алкильной части которых все атомы водорода будут заменены на дейтерий.

В литературе имеется только один пример получения дейтерометилфосфоновой кислоты, ее дихлорангидрида, диизопропилового эфира и хлорангидрида изопропилового эфира [15]. Схемы реакций приведены на рисунке 1.

Высокая селективность данной реакции объясняется реакционной способностью дейтерометилиодида.

Для получения производных дейтероэтил-, дейтеропропил- и дейтероизопропилфосфоновых кислот данный метод не подходит, так как в результате реакции будут образовываться, помимо искоемых соединений, произ-

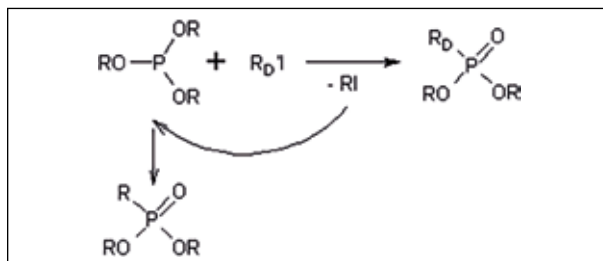


Рисунок 2 – Схема взаимодействия триалкилфосфитов с алкилгалогенидами

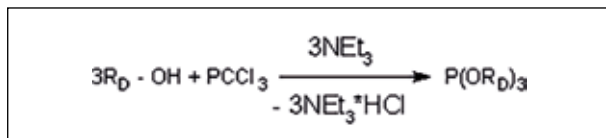


Рисунок 3 – Схема получения трис-дейтероалкилфосфитов из дейтероспиртов

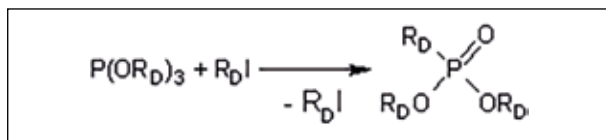


Рисунок 4 – Изомеризация трис-дейтероалкилфосфитов дейтероалкилгалогенидами

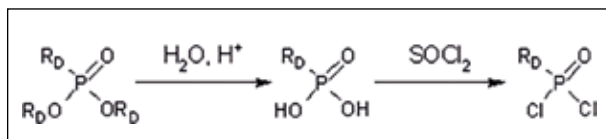


Рисунок 5 – Схема синтеза дихлорангидридов дейтероалкилфосфоновых кислот из бис-дейтероалкиловых эфиров дейтероалкилфосфоновых кислот

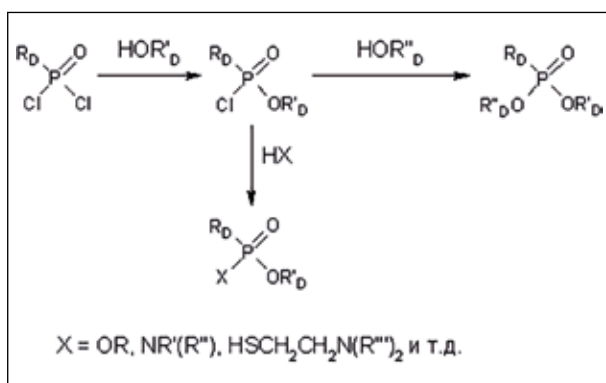


Рисунок 6 – Схема получения различных производных дейтероалкилфосфоновой кислоты на основе дейтероспиртов

водные реакции выделяющегося иодаккана с триалкилфосфитом, что показано на рисунке 2. Разделить полученные продукты практически невозможно.

Единственный выход в этой ситуации – использование в качестве исходных дейтеротриалкилфосфитов, которые могут быть получены из соответствующих дейтерированных спиртов и треххлористого фосфора [16–22] по схеме, показанной на рисунке 3.

При взаимодействии полученных фосфитов с дейтероидалканами, имеющими тот же радикал, что и в триалкилфосфите, будут образовываться дейтерированные диэфиры дейтероалкилфосфоновых кислот, причем дейтероидалкан в реакции может быть использован

в каталитических количествах, поскольку выделяющийся в ходе реакции дейтероидалкан будет аналогичен исходному. Реакция протекает по схеме, показанной на рисунке 4.

Полученные в результате вышеуказанной реакции вещества могут сами использоваться как стандартные соединения при идентификации, а также являются исходными для получения разнообразных производных.

Для получения разнообразных производных дейтероалкилфосфоновых кислот, в качестве исходных продуктов необходимо иметь дихлорангидриды, получаемые по схеме, показанной на рисунке 5. Получение их из диэфиров, описанных выше, не представляет сложности и осуществляется по схеме, приведенной на рисунке 5.

Дейтероалкилфосфоновые кислоты сами по себе тоже являются важными стандартами при идентификации и количественном определении алкилфосфоновых кислот.

Кроме того, дихлорангидриды – исходные вещества для получения дифторангидридов, моноклорангидридов эфиров, диэфиров с одинаковыми или различными заместителями, диамидов и амидозфиров дейтероалкилфосфоновых кислот.

Поскольку дейтерированные спирты не отличаются по своим свойствам от обычных, возможно получение разнообразных производных с атомами дейтерия не только во фрагменте C-P связи, но и в O-алкильных фрагментах, что показано на рисунке 6.

Таким образом, для получения разнообразных производных ФОВ с дейтерированными фрагментами, ключевым является получение дихлорангидридов дейтероалкилфосфоновых кислот. Для этого необходимо иметь набор дейтерированных спиртов и дейтероалкилиодидов.

Ввиду того, что стоимость дейтерированных спиртов и дейтероалкилиодидов (кроме дейтерометанола и дейтероидметана) очень высока, а все известные ФОВ являются производными метилфосфоновой кислоты, мы решили ограничиться синтезом дейтерометилфосфоновой кислоты и ее производных.

Обсуждение результатов

Синтез дейтерометилфосфоновой кислоты был осуществлен двумя методами: на основе триизопропилфосфита (описан в литературе [15]) и на основе трис-дейтерометилфосфита.

По первому способу, существенным недостатком является выделение чистой кислоты, поскольку наличие кислого фосфита в триизопропилфосфите, даже после кипячения с натрием, составляет около 6 %, а после реакции с дейтероидметаном, кроме фосфита, в реакционной смеси, по данным ЯМР ^{31}P , присутствуют

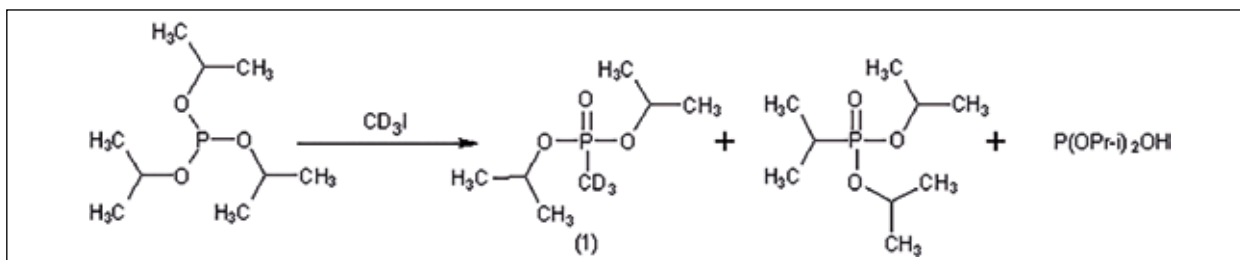


Рисунок 7 – Схема изомеризации триизопропилфосфита дейтериодметаном

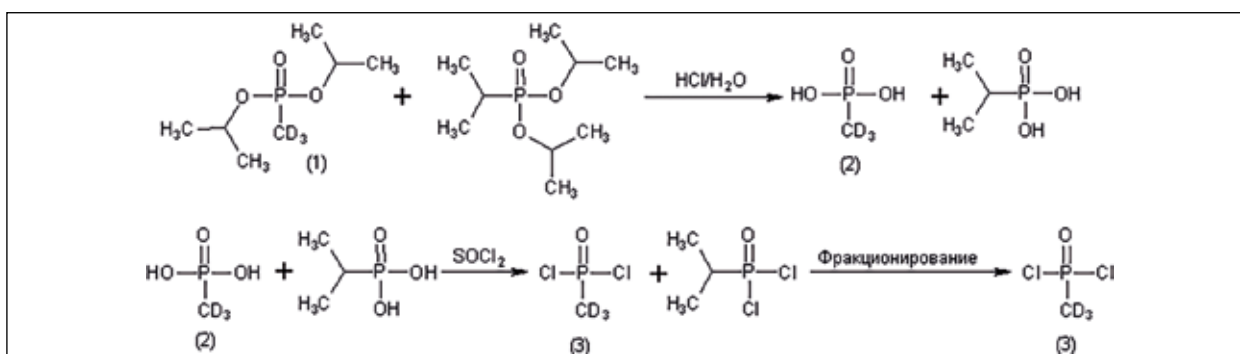


Рисунок 8 – Схема синтеза дихлорангирида дейтерометилфосфоновой кислоты

еще три продукта, один из которых является диизопропиловым эфиром изопропилфосфоновой кислоты. Сумма примесей составляет около 15 % (рисунок 7).

Ключевой стадией очистки является получение дихлорангирида дейтерометилфосфоновой кислоты перегонкой реакционной смеси после обработки продуктов кислотного гидролиза избытком тионилхлорида (рисунок 8).

Трис-дейтерометилфосфит был получен из треххлористого фосфора реакцией с дейтерометанолом в присутствии третичных аминов в качестве акцепторов хлористого водорода. В качестве третичных аминов использовали триэтиламин (ТЭА) и N,N-диэтиланилин (ДЭАН). Более высокая чистота продукта и более высокие выходы были получены с ДЭАН (рисунок 9).

Изомеризация трис-дейтерометилфосфита в бис-дейтерометиловый эфир дейтерометилфосфоновой кислоты под действием дейтерометиодида проходит количественно. Чистота продукта после перегонки составила 99%. Гидролиз диэфира в кислой среде количественно приводит к получению дейтерометилфосфоновой кислоты высокой степени чистоты (рисунок 10).

Сравнивая два способа получения дейтерометилфосфоновой кислоты по экономическим показателям, можно сделать вывод, что первый способ более выгоден.

Синтез хлорангидридов алкиловых эфиров дейтерометилфосфоновой кислоты, кислых эфиров и диэфиров (рисунок 11) был осуществлен по обычным методикам [15, 23, 25].

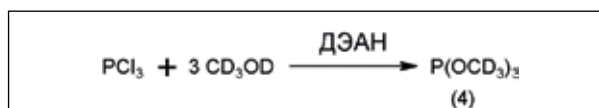


Рисунок 9 – Схема синтеза трис-дейтерометилфосфита

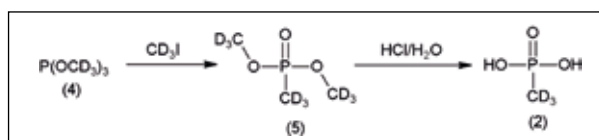


Рисунок 10 – Схема синтеза дейтерометилфосфоновой кислоты из бис-дейтерометилового эфира дейтерометилфосфоновой кислоты



Рисунок 11 – Схема синтеза хлорангидридов эфиров, кислых эфиров и диэфиров дейтерометилфосфоновой кислоты

Дипинаколиновый эфир дейтерометилфосфоновой кислоты был получен путем взаимодействия дихлорангирида ДМФК с пинаколятом натрия в кипящем толуоле (рисунок 12).

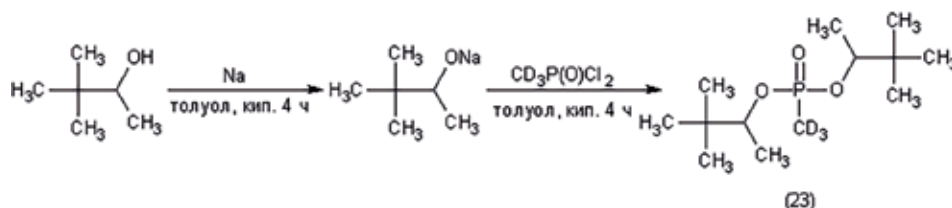


Рисунок 12 – Схема синтеза дипинаколинового эфира дейтерометилфосфоновой кислоты

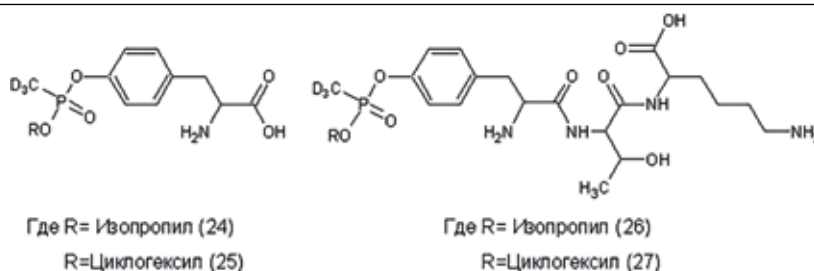


Рисунок 13 – Фосфорилированные дейтероалкилфосфоновыми кислотами тирозин и трипептид Tyr-Thr-Lys

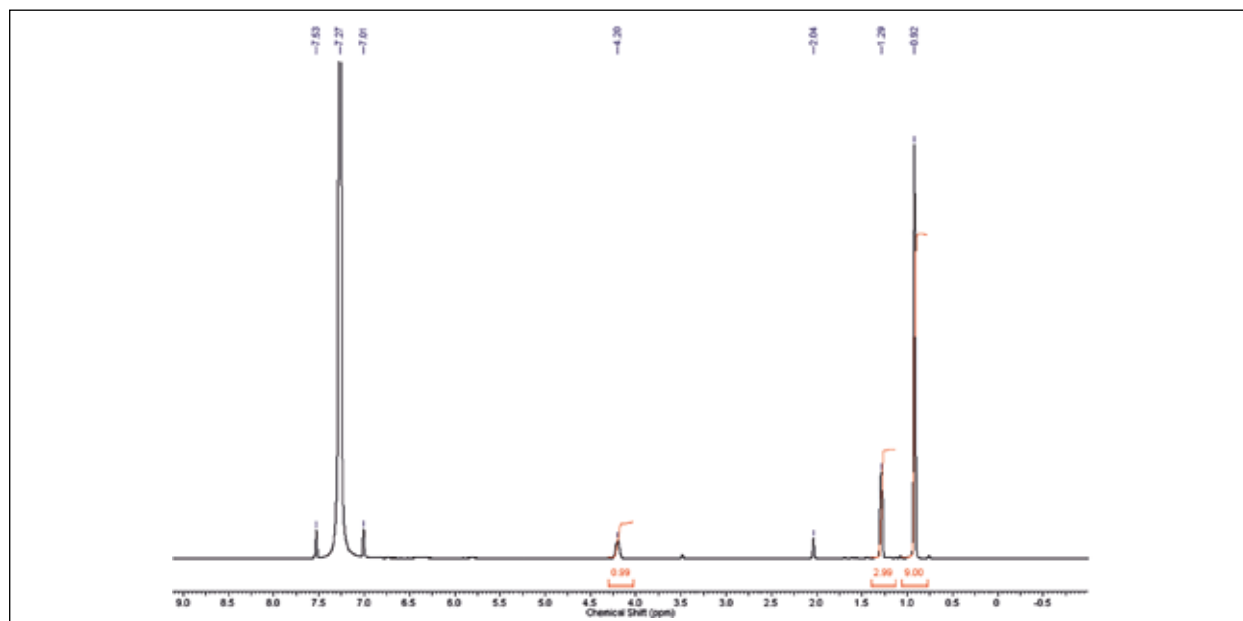
Также на основе хлорангидридов изопропилового и циклогексилового эфиров ДМФК были получены аддукты с тирозином и трипептидом Tyr-Thr-Lys (рисунок 13) [25, 26]. Данные продукты были использованы в 2018 и 2020 годах как стандарты при проведении биомедицинских тестов под эгидой ОЗХО.

По своим физико-химическим свойствам полученные производные дейтерометилфосфоновой кислоты не отличаются от производных метилфосфоновой кислоты. В ЯМР ^1H спектрах отсутствует сигнал метильной группы при атоме фосфора, он проявляется в

спектрах ^2H в той же области спектра. КССВ $\text{P-}^2\text{H}$ (CD_3) составляет около 2,6 Гц. Химические сдвиги атомов фосфора практически не отличаются от недеютерированных аналогов. Данные ЯМР ^2H и ^{31}P приведены в таблице 1, а в качестве примера приведены ЯМР ^1H , ^2H и ^{31}P спектры О-пинаколилдейтерометилфосфоната на рисунках 14–16.

Экспериментальная часть

Регистрацию ^1H , ^2H , ^{31}P ЯМР спектров проводили на спектрометре QONE AS400 при температуре 298 К. Частота регистрации спектров ^1H – 399,834 МГц, ^2H – 61,377 МГц

Рисунок 14 – ЯМР ^1H спектр О-пинаколилдейтерометилфосфоновой кислоты в CHCl_3

и ^{31}P – 161,856 МГц. Шкалу для протонных и дейтериевых экспериментов градуировали по отношению к сигналу соответствующего дейтерорастворителя, для экспериментов ^{31}P – по отношению к внутреннему стандарту (фосфорная кислота). Регистрацию ГХ-МС спектров проводили на газовом хромато-масс-спектрометре высокого разрешения Agilent 7200 Q-TOF, регистрацию ВЭЖХ-МС спектров проводили на аналитической станции Agilent Infinity 1260/Thermo Scientific Orbitrap Fusion Lumos в режиме электрораспылительной ионизации. Для синтеза дей-

терометилфосфоновой кислоты использовали триизопропилфосфит, треххлористый фосфор, дейтерометанол и дейтероидметан производства «Sigma-Aldrich».

Диизопропиловый эфир дейтерометилфосфоновой кислоты (I)

К 10,4 г (0,05 моль) триизопропилфосфита добавляли 7,25 г (0,05 моль) дейтероидметана и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 ч. Реакционную массу перегоняли, собирая фракцию с температурой кипения 50-51 °С при 1 мм рт.ст., получали 8,4 г (выход 92 % от теоретического) диизопропилового эфира дейтеро-

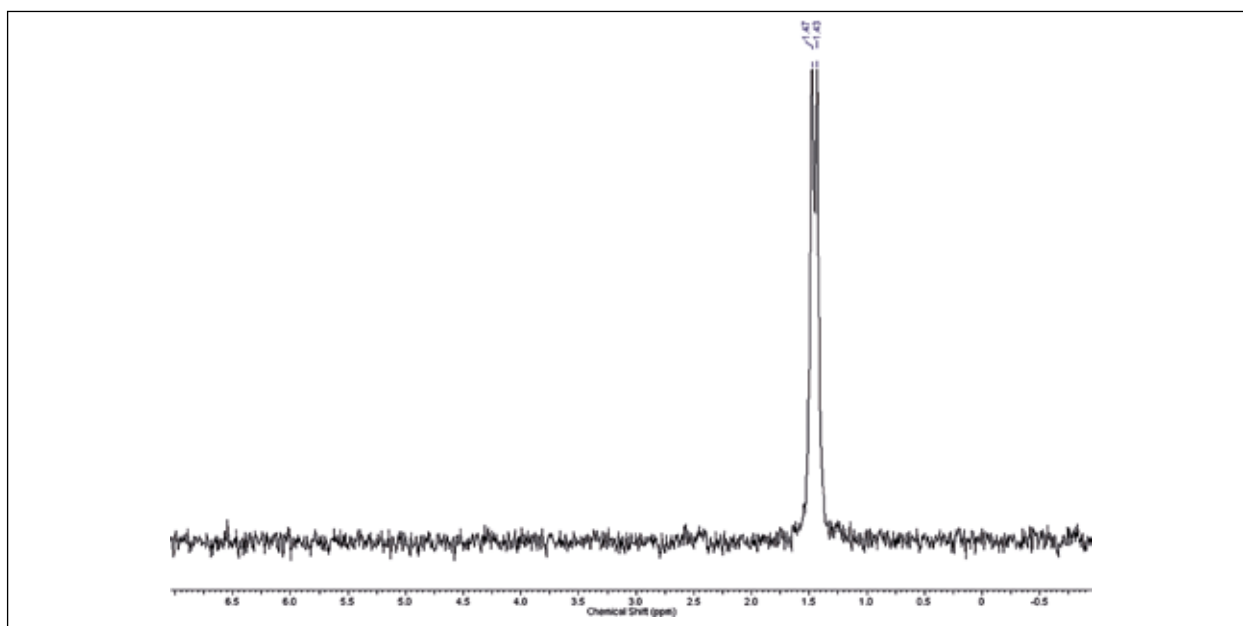


Рисунок 15 – ЯМР ^1H спектр О-пинаколилдейтерометилфосфоновой кислоты в CHCl_3

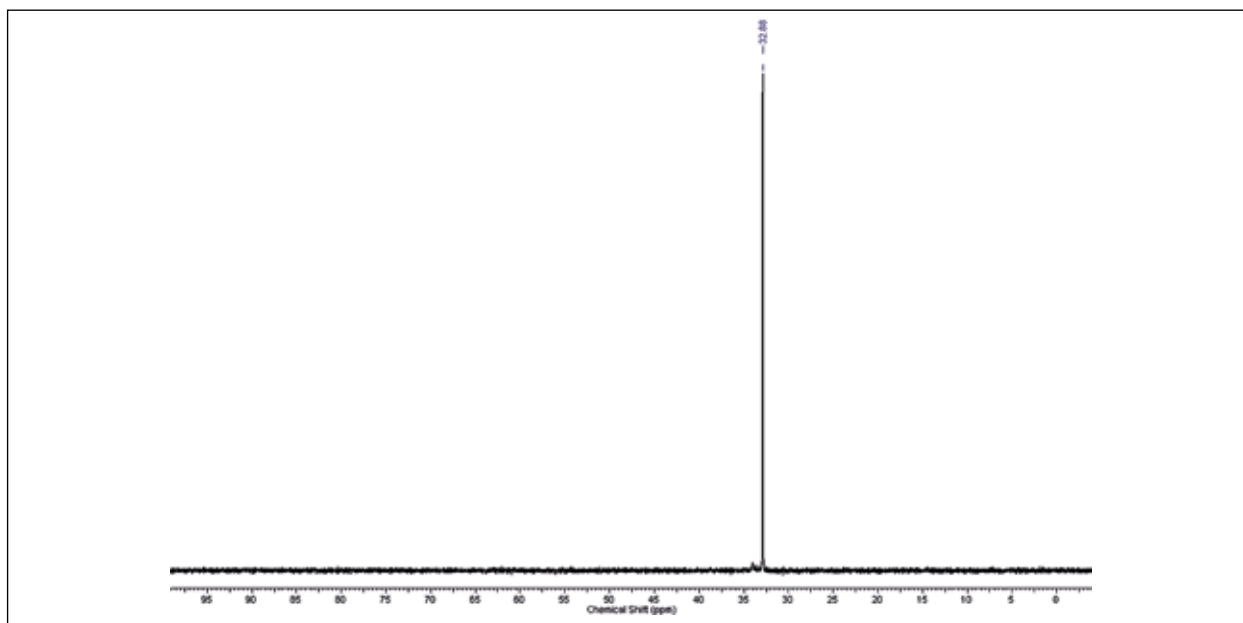


Рисунок 16 – ЯМР ^{31}P спектр О-пинаколилдейтерометилфосфоновой кислоты в CHCl_3

метилфосфоновой кислоты. ^2H ЯМР (CDCl_3), δ , м.д.: 1,05 д, CD_3P , $J=2,6$ Гц; ^{31}P ЯМР (CDCl_3) δ , м.д.: 27,92, с.

Дейтерометилфосфоновая кислота (2)

8 г (0,043 моль) диизопропилового эфира дейтерометилфосфоновой кислоты (1) и 12 мл концентрированной соляной кислоты помещали в автоклав из нержавеющей стали, футерованный тефлоном, и нагревали при 145°C в течение 1 ч. После охлаждения реакционную массу упаривали досуха в вакууме водоструйного насоса. Получали 4,0 г (выход 93 % от теоретического) дейтерометилфосфоновой кислоты ($\text{d}_3\text{-МФК}$). ^2H ЯМР (D_2O , $\text{pH}=1$), δ , м.д.: J ,

Гц: 1,21 д, CD_3P , $J=2,6$ Гц; ^{31}P ЯМР (D_2O $\text{pH}=1$) δ , м.д.: 30,1, с.

Дихлорангидрид дейтерометилфосфоновой кислоты (3)

3,8 г (0,038 моль) дейтерометилфосфоновой кислоты (2) нагревали при кипении с 10 мл хлористого тионила в течение 1 часа до прекращения выделения хлористого водорода. Избыток хлористого тионила удаляли в вакууме водоструйного насоса. Остаток перегоняли в вакууме, собирая фракцию с температурой кипения $85\text{--}90^\circ\text{C}$ при 20 мм рт.ст. Получали 4,2 г, 80 % от теоретического, дихлорангидрида метилфосфоновой кислоты. ^2H ЯМР (CDCl_3), δ ,

Таблица 1 – Данные ^2H и ^{31}P ЯМР спектроскопии производных дейтерометилфосфоновой кислоты

№ соединения	Название вещества (сокращение)	Дейтерорастворитель	Спектр ^2H , δ м.д., J Гц	Спектр ^{31}P , δ м.д.
6	О-этилдейтерометилхлорфосфонат ($\text{d}_3\text{-ХАЭМФК}$)	CDCl_3	1,96, д, CD_3P , $J=2,6$ Гц	40,06, с
7	О-изопропилдейтерометилхлорфосфонат ($\text{d}_3\text{-ХАИПМФК}$)	CDCl_3	1,89, д, CD_3P , $J=2,6$ Гц	38,45, с
8	О-н-бутилдейтерометилхлорфосфонат ($\text{d}_3\text{-ХАБМФК}$)	CDCl_3	1,91, д, CD_3P , $J=2,6$ Гц	40,15, с
9	О-и-бутилдейтерометилхлорфосфонат ($\text{d}_3\text{-ХАИБМФК}$)	CDCl_3	1,90, д, CD_3P , $J=2,6$ Гц	40,17, с
10	О-циклогексилдейтерометилхлорфосфонат ($\text{d}_3\text{-ХАЦГМФК}$)	CDCl_3	1,94, д, CD_3P , $J=2,6$ Гц	41,06, с
11	О-пинаколилдейтерометилхлорфосфонат ($\text{d}_3\text{-ХАПМФК}$)	CDCl_3	1,93, д, CD_3P , $J=2,6$ Гц	39,6 с; 39,0, с
12	О-этилдейтерометилфосфоновая к-та ($\text{d}_3\text{-ЭМФК}$)	CDCl_3	1,39, д, $J=2,6$ Гц	31,32 с
13	О-изопропилдейтерометилфосфоновая к-та ($\text{d}_3\text{-ИПМФК}$)	CDCl_3	1,40, д, $J=2,6$ Гц	32,07 с
14	О-н-бутилдейтерометилфосфоновая к-та ($\text{d}_3\text{-БМФК}$)	CDCl_3	1,38, д, $J=2,6$ Гц	32,48 с
15	О-и-бутилдейтерометилфосфоновая к-та ($\text{d}_3\text{-ИБМФК}$)	CDCl_3	1,43, д, $J=2,6$ Гц	31,96 с
16	О-циклогексилдейтерометилфосфоновая к-та ($\text{d}_3\text{-ЦГМФК}$)	CDCl_3	1,46, д, $J=2,6$ Гц	32,93 с
17	О-пинаколилдейтерометилфосфоновая к-та ($\text{d}_3\text{-ПМФК}$)	CDCl_3	1,45, д, $J=2,6$ Гц	32,87 с
18	О,О-диэтилдейтерометилфосфонат ($\text{d}_3\text{-ДЭМФК}$)	CDCl_3	1,42, д, $J=2,6$ Гц	29,9 с
19	О,О-диизопропилдейтерометилфосфонат ($\text{d}_3\text{-ДИПМФК}$)	CDCl_3	1,44, д, $J=2,6$ Гц	30,7 с
20	О,О-ди-н-бутилдейтерометилфосфонат ($\text{d}_3\text{-ДБМФК}$)	CDCl_3	1,42, д, $J=2,6$ Гц	30,60 с
21	О,О-ди-и-бутилдейтерометилфосфонат ($\text{d}_3\text{-ДИБМФК}$)	CDCl_3	1,46, д, $J=2,6$ Гц	30,47 с
22	О,О-дициклогексилдейтерометилфосфонат ($\text{d}_3\text{-ДЦГМФК}$)	CDCl_3	1,50, д, $J=2,6$ Гц	31,20
23	О,О-дипинаколилдейтерометилфосфонат ($\text{d}_3\text{-ДПМФК}$)	CDCl_3	1,47 д, $J=2,6$ Гц; 1,46 д, $J=2,6$ Гц; 1,45 д, $J=2,6$ Гц	29,32 с; 30,14 с; 28,35 с

м.д.; J, Гц: 2,45 д, CD₃P, J=2,6 Гц; ³¹P ЯМР (CDCl₃) δ, м.д.: 44,2, с.

Трис-дейтерометилфосфит (4)

В четырехгорлую круглодонную колбу емкостью 500 мл, снабженную механической мешалкой, термометром, барботером для инертного газа и капельной воронкой с противодавлением с хлоркальциевой трубкой, помещали 10,8 г (0,3 моль) дейтерометанола, 44,7 г (0,3 моль) ДЭАН и 200 мл свежеперегнанного (над натрием) диэтилового эфира. Смесь охлаждали на ледо-солевой бане до минус 10 °С и пускали ток аргона. Через 10–15 мин, когда вся установка была продута аргоном, по каплям добавляли смесь 13,75 г (0,1 моль) треххлористого фосфора в 100 мл свежеперегнанного диэтилового эфира с такой скоростью, чтобы температура реакционной массы не превышала 5 °С. После прибавления раствора треххлористого фосфора (около 1,5 ч) капельную воронку меняли на обратный холодильник и нагревали на водяной бане при температуре кипения растворителя в течение 2 часов. После нагрев убирали, реакционную массу охлаждали до комнатной температуры и фильтровали от гидрохлорида ДЭАН на стеклянном фильтре под вакуумом водоструйного насоса. Осадок промывали 200 мл диэтилового эфира, фильтрат переносили в двугорлую колбу, снабженную барботером для инертного газа, насадкой Вюрца с термометром и нисходящим холодильником, отгоняли диэтиловый эфир, охлаждали и переносили в перегонную колбу. Перегоняли

при атмосферном давлении, собирая фракцию 109–113 °С. Полученный трис-дейтеротриметилфосфит еще раз перегоняли в вакууме при 50 мм рт.ст., собирая фракцию с температурой кипения 38–40 °С. Выход 4,2 г, 32 % от теоретического. ²H ЯМР (CDCl₃), δ, м.д.; J, Гц: 3,43 д, CD₃OP, J=1,6 Гц; ³¹P ЯМР (CDCl₃) δ, м.д.: 141,08, с.

Бис-дейтерометилловый эфир дейтерометилфосфоновой кислоты (5)

Бис-дейтерометилловый эфир дейтерометилфосфоновой кислоты был получен аналогично (1) путем нагревания трис-дейтерометилфосфита (4,2 г, 0,032 моль) с дейтероиодметаном (4,57 г, 0,032 моль). Продукт перегоняли при 8 мм рт.ст., собирая фракцию с температурой кипения 61–62 °С. Выход дейтеродиметилового эфира дейтерометилфосфоновой кислоты 3,92 г (92 % от теоретического). ²H ЯМР (CDCl₃), δ, м.д.; J, Гц: 3,42, д, CD₃O, J=1,6 Гц; 1,17, д, CD₃P, J=2,6 Гц; ³¹P ЯМР (CDCl₃) δ, м.д.: 33,08, с.

Синтезы О-алкилдейтерометилхлорфосфонатов 6-11, кислых эфиров дейтерометилфосфоновой кислоты 12-17 и диалкилдейтерометилфосфонатов 18-23 были осуществлены по методикам, показанным в работах [15, 24, 25]. Спектральные характеристики полученных веществ приведены в таблице 1. Данные ГХ-МС и ВЭЖХ-МС анализа синтезированных соединений приведены в таблицах 2 и 3.

Таким образом, в результате проведенных исследований разработаны методики синтеза меченых стабильными изотопами внутренних стандартов продуктов разложения ФОВ, полу-

Таблица 2 – Данные ГХ-МС спектрометрии производных дейтерометилфосфоновой кислоты

Соединение	Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z$, млн ⁻¹	Интенсивность, %
d3-ХАЭМФК	CH ₂ D ₃ CIO ₂ P	117,9904	117,9908	-0,4	100
	CD ₃ CIO ₂ P	99,9798	99,9795	-0,3	40
	CHD ₃ O ₂ P	82,0137	82,0132	-0,5	65
d3-ДЭМФК	C ₃ H ₇ D ₃ O ₃ P	128,0556	128,0552	-0,4	70
	CD ₃ O ₃ P	97,0008	97,0009	-0,1	90
	CHD ₃ O ₂ P	82,0137	82,0135	-0,2	100
d3-ХАИПМФК	CH ₂ D ₃ CIO ₂ P	117,9904	117,9901	-0,3	100
	C ₃ H ₄ D ₃ CIO ₂ P	144,0060	144,0062	-0,2	30
	CHD ₃ O ₂ P	82,0137	82,0135	-0,2	65
d3-ДИПМФК	C ₃ H ₅ D ₃ O ₃ P	126,0399	126,0396	-0,3	60
	CD ₃ O ₃ P	97,0008	97,0008	-0,1	90
	CHD ₃ O ₂ P	82,0137	82,0135	-0,2	65
d3-ХАИБМФК	CH ₂ D ₃ CIO ₂ P	117,9904	117,9906	-0,2	100
	C ₂ H ₃ D ₃ CIO ₂ P	130,9982	130,9987	-0,5	25
	CHD ₃ CIO ₂ P	100,9877	100,9875	-0,2	60

Продолжение таблицы 2

Соединение	Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z, \text{млн}^{-1}$	Интенсивность, %
d3-ДИБМФК	CD3O3P	97,0008	97,0006	-0,2	100
	C2H4D3O3P	113,0321	113,0320	-0,1	10
	C4H7D3O3P	140,0556	140,0556	-0,04	8
	C5H11D3O3P	156,0689	156,0685	-0,4	6
d3-ХАБМФК	C3H4D3ClO2P	144,0060	144,0065	-0,5	3
	CH2D3ClO2P	117,9904	117,9905	-0,1	100
	C5H9D3O2P	138,0763	138,0766	-0,3	10
d3-ДБМФК	CD3O3P	97,0008	97,0004	-0,4	100
	C3H5D3O3P	126,0399	126,0395	-0,4	8
	C5H11D3O3P	156,0689	156,0685	-0,4	10
d3-ХАПМФК	C3H5D3ClO2P	145,0139	145,0134	-0,5	100
	CH2D3ClO2P	117,9904	117,9907	-0,3	80
	CHD3ClOP	100,9877	100,9874	-0,3	90
d3-ДПМФК	C3H5D3O3P	126,0399	126,0394	-0,5	95
	CD3O3P	97,0008	97,0004	-0,4	100
	C6H11D3O3P	168,0869	168,0865	-0,4	8
d3-ХАЦГМФК	CH2D3ClO2P	117,9904	117,9908	-0,4	10
	CHD3O2P	82,0137	82,0135	-0,2	10
	CD3ClOP	99,9798	99,9795	-0,3	6
	C5H11D3O3P	156,0689	156,0688	-0,1	1
d3-ДЦГМФК	CD3O3P	97,0008	97,0005	-0,3	100
	C7H13D3O3P	182,1025	182,1027	-0,2	1
	CHD3O2P	82,0137	82,0135	-0,2	10

Таблица 3 – Данные ВЭЖХ-МС спектрометрии производных дейтерометилфосфоновой кислоты

Соединение	Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z, \text{млн}^{-1}$	Интенсивность, %
d3-ЭМФК	C ₃ H ₅ ² H ₃ O ₃ P	126,0405	126,0404	-0,73	3,1
	CH ² H ₃ O ₃ P	98,0092	98,0090	-1,27	100
	O ₃ P	78,9591	78,9589	-2,15	14,0
	C ² H ₂ O ₂ P	78,9923	78,9922	-2,06	8,0
d3-ИПМФК	C ₄ H ₇ ² H ₃ O ₃ P	140,0561	140,0560	-0,90	4,1
	CH ² H ₃ O ₃ P	98,0092	98,0090	-1,50	100
	O ₃ P	78,9591	78,9589	-2,01	9,9
	C ² H ₂ O ₂ P	78,9923	78,9922	-1,86	3,0
d3-БМФК	C ₅ H ₉ ² H ₃ O ₃ P	154,0718	154,0715	-1,83	0,96
	CH ² H ₃ O ₃ P	98,0092	98,0090	-1,85	100
	O ₃ P	78,9591	78,9590	-0,10	10,8
	C ² H ₂ O ₂ P	78,9923	78,9923	-0,42	8,4

Продолжение таблицы 3

Соединение	Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z, \text{млн}^{-1}$	Интенсивность, %
d3-ИБМФК	$\text{C}_5\text{H}_9^2\text{H}_3\text{O}_3\text{P}$	154,0718	154,0716	-0,84	30,0
	$\text{CH}^2\text{H}_3\text{O}_3\text{P}$	98,0092	98,0091	-1,19	100
	O_3P	78,9591	78,9590	-0,94	6,0
	$\text{C}^2\text{H}_2\text{O}_2\text{P}$	78,9923	78,9923	-1,23	21,4
d3-ЦГМФК	$\text{C}_7\text{H}_{11}^2\text{H}_3\text{O}_3\text{P}$	180,0874	180,0873	-0,86	25,7
	$\text{CH}^2\text{H}_3\text{O}_3\text{P}$	98,0092	98,0090	-2,32	100
	O_3P	78,9591	78,9590	-0,78	3,2
	$\text{C}^2\text{H}_2\text{O}_2\text{P}$	78,9923	78,9923	-0,90	2,3
d3-ПМФК	$\text{C}_7\text{H}_{13}^2\text{H}_3\text{O}_3\text{P}$	182,1031	182,1033	0,79	7,1
	$\text{CH}^2\text{H}_3\text{O}_3\text{P}$	98,0092	98,0090	-2,13	100
	O_3P	78,9591	78,9590	-1,04	3,4
	$\text{C}^2\text{H}_2\text{O}_2\text{P}$	78,9923	78,9923	-1,02	1,9
d3-МФК	$\text{CH}^2\text{H}_3\text{O}_3\text{P}$	98,0092	98,0090	-2,21	3,1
	O_3P	78,9591	78,9589	-2,39	100

чены их необходимые количества для формирования физического банка дейтерированных внутренних стандартов, включающего 20 образцов. Все полученные соединения охарактеризованы с использованием спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии высокого разрешения.

Полученные результаты планируется использовать при выполнении задач аккредит-

тованной ОЗХО лабораторией 27 НЦ МО РФ в рамках привлечения ее к мероприятиям по контролю за выполнением положений Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении, а также при участии в официальных профессиональных тестах ОЗХО.

Вклад авторов/Autor Contributions

Все авторы внесли свой вклад в концепцию рукописи, участвовали в обсуждении и написании этой рукописи, одобрили окончательную версию. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи / All authors contributed to the conception of the manuscript, the discussion, and writing of this manuscript, approved the final version. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Список источников / References

1. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии // Техносфера. М. 2015. С. 509–511.
2. Nyholm J.R., Gustafsson T. Structural determination of nerve agent markers using gas chromatography massspectrometry after derivatization with 3-pyridyldiazomethane // Mass Spectrom. 2013.

V. 48. P. 813–822.

3. Subramaniama R., Östin A. Direct derivatization and gas chromatography–tandem mass spectrometry identification of nerve agent biomarkers in urine samples // Journal of Chromatography B. 2013. V. 928. P. 98–105.
4. Połec I., Kielczewska A. Alkyl methylphosphonic acids, the degradation products of organophosphorous CWA — preparation and direct quantitative GC-FID analysis // Central European Journal of Chemistry. 2010.

V. 8. P. 1251–1265. <https://doi.org/10.2478/s11532-010-0102-3>

5. Polhuijs M., Langenberg P.J. New Method for Retrospective Detection of Exposure to Organophosphorus Anticholinesterases: Application to Alleged Sarin Victims of Japanese Terrorists // *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1997. V. 146. P. 156–161.

6. Van der Meer J.A., Trap H.C. Comprehensive gas chromatography with Time of Flight MS and large volume introduction for the detection of fluoride-induced regenerated nerve agent in biological samples // *J. Chromatography B*. 2010. V. 878. P. 1320–1325.

7. Knaack J.S., Zhou Y. High-Throughput Immunomagnetic Scavenging Technique for Quantitative Analysis of Live VX Nerve Agent in Water, Hamburger, and Soil Matrixes // *Anal. Chem.* 2012. V. 84. P. 10052–10057.

8. Fidler A., Hulst A. G. Retrospective detection of exposure to organophosphorus anti-cholinesterases: mass spectrometric analysis of phosphorylated human butyrylcholinesterase // *Chem. Res. Toxicol.* 2002. V. 15. P. 582–590.

9. Capoun T. Internal standards for quantitative analysis of chemical warfare agents by the GC/MS method: nerve agents // *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2020. V. 2020. P. 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/8857210>

10. Subramaniam R., Åstota C. Determination of S-2-(N,N-diisopropylaminoethyl)- and S-2-(N,N-diethylaminoethyl) methylphosphonothiolate, nerve agent markers, in water samples using strong anion-exchange disk extraction, in vial trimethylsilylation, and gas chromatography–mass spectrometry analysis // *Journal of Chromatography A*. 2012. V. 1229. P. 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.01.068>

11. McGuire M.J., Byers C.E. A rapid and sensitive technique for assessing exposure VX via GC-MS-MS analysis // *Journal of Analytical Toxicology*. 2008. V. 32. № 1. P. 63–67. <https://doi.org/10.1093/jat/32.1.63>

12. Halmea M., Karjalainen M. Development and validation of efficient stable isotope dilution LC–HESI–MS/MS method for the verification of β -lyase metabolites in human urine after sulfur mustard exposure // *Journal of Chromatography B*. 2011. V. 879. № 13–14. P. 908–914. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.02.043>

13. Lawrence R.J., Smith J.R. Improvements in the methodology of monitoring sulfur mustard exposure by gas chromatography-mass spectrometry analysis of cleaved and derivatized blood protein adducts // *Journal of Analytical Toxicology*. 2008. V. 32. № 1. P. 31–36. <https://doi.org/10.1093/jat/32.1.31>

14. Hayes T.L., Kenny D.V. Feasibility of direct analysis of saliva and urine for phosphonic acids and thiodiglycol-related species associated with exposure to chemical warfare agents using LC-MS/MS // *J. Med. Chem. Def.* 2004. V. 2.

15. Bennet A.J., Kovach I.M., Bibbs J.A. Catalytic recruitment by phosphoryl derivatives as inactivators

of acetylcholinesterase and substrates for imidazole-catalyzed hydrolysis: β -deuterium isotope effects // *J. Am. Chem. Soc.* 1989. V. 111. P. 6424.

16. Gilyarov V.A., Shcherbina T.M., Laretina A.P., Kabachnik M.I. GC-MS study of the imide-amide rearrangement // *Bull. Russ. Acad. Sci. Div. Chem. Sci. (Engl. Transl.)* 1992. V. 41. P. 1931–1934.

17. LiXinhai, Yuan Ling, Wang Qinggang et al. Solid-phase synthesis for novel nerve agent adducted nonapeptides as biomarkers // *Tetrahedron Letters*. 2017. V. 58. P. 1437–1440.

18. Moravie R. M., Froment F., Corset J. Vibrational spectra and possible conformers of dimethylmethylphosphonate by normal mode analysis // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 1989. V. 45. P. 1015–1024.

19. Gu M., Turecek F. The precursor scan. A new type of experiment in neutralization-reionization mass spectrometry // *Organic Mass Spectrometry*. 1993. V. 28. P. 1135–1143.

20. Kins C.F., Dudenko D., Sebastiani D., Brunklaus G. Molecular mechanisms of additive fortification in model epoxy resins: a solid state NMR study // *Macromolecules*. 2010. V. 43. P. 7200–7211.

21. Abbott A., Sierakowski T., Kiddle J.J. et al. Detailed investigation of the radical-induced destruction of chemical warfare agent simulants in aqueous solution // *Journal of Physical Chemistry B*. 2010. V. 114. No. 22. P. 7681–7685.

22. Huras B., Konopski L., Zakrzewski J. A simple efficient synthesis of [2H10]deuterated bromfenvinphos by the Perkow reaction // *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. 2011. V. 54. No. 7. P. 399–400.

23. Крылов В.И., Крылов И.И., Яшкир В.А., Рыбальченко И.В. Синтез О-тирозинфосфорилированных аддуктов различных производных метилфосфоновой и фосфорной кислот в качестве соединений сравнения для анализа биомедицинских проб // *Вестник войск РХБ защиты*. 2019. Т. 3. № 2. С. 103–110.

Krylov V.I., Krylov I.I., Yashkir V.A., Rybalchenko I.V. Synthesis of O-tyrosine Phosphorylated Adducts of Methylphosphonic and Phosphoric Acid Derivatives as Reference Compounds for the Analysis of Biomedical Samples // *Journal of NBC Protection Corps*. 2019. V. 3. № 2. P. 103–110 (in Russian).

24. Petrov K.A., Baksova R.A., Khorkhoyanu L.V. et al. Synthesis of mono(2-ethylhexyl) ester of methylphosphinic acid // *Zh. Prikl. Khim.* 1966. V. 39. P. 2798.

25. Родин И.А., Байгельдиев Т.М., Крылов В.И. и др. Фосфорилирование тирозина и трипептида (Tyr-Thr-Lys) циклогексил метил- и (дейтерометил) хлорфосфонатами // *Журнал общей химии*. 2020. Т. 90. № 4. С. 557–562.

Rodin I.A., Baygildiev T.M., Krylov V.I. et al. Phosphorylation of Tyrosine and Tyr-Thr-Lys Tripeptide with Cyclohexylmethyl- and (Deuteromethyl)

phosphonchloridates // Russian Journal of General Chemistry. 2020. V. 90. № 4. P. 619–623 (in Russian).

26. Rodin I.A., Baygildiev T.M., Krylov V.I. et al. Synthesis of the Tripeptides Tyr-Thr-Lys Phosphorylated

with Isopropyl Methyl- and (Deuteromethyl) phosphonochloridates as Reference Standards for the Analysis of Biomedical Samples // Russian Journal of General Chemistry. 2019. V. 89. No. 10. P. 2103–2107.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13.

Яшкир Вадим Анатольевич. Старший научный сотрудник отдела, канд. хим. наук, доцент.

Крылов Владислав Игоревич. Научный сотрудник отдела.

Крылов Игорь Иванович. Старший научный сотрудник отдела, канд. хим. наук, доцент.

Браун Аркадий Владимирович. Старший научный сотрудник отдела, канд. хим. наук.

Орешкин Дмитрий Владимирович. Научный сотрудник отдела.

Рыбальченко Игорь Владимирович. Ведущий научный сотрудник отдела, доктор хим. наук, профессор.

Фатеенков Владимир Николаевич. Начальник отдела, канд. воен. наук, доцент.

Контактная информация для всех авторов: 27nc_1@mil.ru
Контактное лицо: Яшкир Вадим Анатольевич; 27nc_1@mil.ru

Synthesis of Deuterated Methylphosphonic Acid Derivatives for Use as Standard Compounds in the Analysis of Toxic Chemicals

Yashkir V.A., Krylov V.I., Krylov I.I., Brown A.V., Oreshkin D.V.,
Rybalchenko I.V., Fateenkov V.N.

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Brigadirsky lane 13, Moscow 105005, Russian Federation

Received 5 September 2021. Accepted 23 September 2021.

One of the ways to ensure high reliability of detection, identification and accuracy of quantitative determination of toxic chemicals (TC) in environmental and biomedical samples by gas and liquid chromatography-mass spectrometry methods is to use internal standards (IS) as additives to the analyzed sample, which, in contrast from target TC, contain stable isotopes such as D, ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O . In this case, preference is given to the most accessible stable deuterated compounds. IS labeled with stable isotopes are widely used in numerous studies to develop methods for the analysis of various toxic chemicals, in particular, alkylphosphonic acids. For the prompt and high-quality performance of the tasks assigned to the assigned laboratory, it seems necessary to have a physical bank of samples labeled with stable IS isotopes, corresponding to those TC, the appearance of which in the analyzed samples is most likely. These include, first of all, stable decomposition products of such as sarin, soman, cyclosarin, VX, VR, CVX, namely, methylphosphonic acid, its ethyl, isopropyl, butyl, isobutyl, pinacolyl and cyclohexyl esters, as well as the corresponding symmetric diesters. In accordance with the objectives of the article, we have synthesized the IS composition of deuteromethylphosphonic acid and its derivatives: acid chlorides of O-alkyl esters of deuteromethylphosphonic acids, acid O-alkyl esters of deuteromethylphosphonic acids, O, O-dialkyl esters of deuteromethylphosphonic acids, and also adducts of tyrosine and tripeptide Tyr-Thr-Lys with chlorides of O-isopropyl and O-cyclohexyl esters of deuteromethylphosphonic acid. NMR ^2H , ^{31}P , GC-MS and HPLC-MS spectral characteristics of the synthesized substances were studied.

Keywords: deuterium; deuteromethylphosphonic acid; GC-MS; HPLC-MS; internal standard; isomerization; isotope; NMR spectroscopy; phosphonate; phosphonic acid; spectrometry; synthesis; triisopropyl phosphite.

For citation: Yashkir V.A., Krylov V.I., Krylov I.I., Brown A.V., Oreshkin D.V., Rybalchenko I.V., Fateenkov V.N. Synthesis of Deuterated Methylphosphonic Acid Derivatives for Use as Standard Compounds

in the Analysis of Toxic Chemicals // Journal of NBC Protection Corps. 2021. V. 5. № 3. P. 204–216. ://
doi.org/10.35825/2587-5728-2021-1-3-204-216

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

References

See P. 213–215.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Brigadirsky lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

Vadim Anatolyevich Yashkir. Senior Researcher of the Department. Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor.

Vladislav Igorevich Krylov. Researcher of the Department.

Igor Ivanovich Krylov. Senior Researcher of the Department. Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor.

Arkadiy Vladimirovich Braun. Senior Researcher of the Department. Candidate of Chemical Sciences.

Dmitriy Vladimirovich Oreshkin. Researcher of the Department.

Igor Vladimirovich Rybalchenko. Leading Researcher of the Department. Doctor of Chemical Sciences, Professor.

Vladimir Nikolaevich Fateenkov. Head of the Department. Candidate of Military Sciences, Associate Professor.

Contact information for all authors: 27nc_1@mil.ru

Contact person: Vadim Anatolyevich Yashkir; 27nc_1@mil.ru

Современные подходы в области молекулярной генетики вирусов при изучении представителей семейства *Coronaviridae*

М.В. Супотницкий

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации,
105005, Российская Федерация, Москва, Бригадирский переулок, д. 13

Поступила 01.09.2021 г. Принята к публикации 23.09.2021 г.

Существующие подозрения об искусственном происхождении пандемии COVID-19 и об использовании технологии обратной генетики для создания вируса SARS-CoV-2 требуют понимания ее возможностей в конструировании новых вирусов. *Цель работы* – показать, каким образом применение обратной генетики позволяет конструировать ранее не существовавшие коронавирусы, технологии и основные достижения в их создании. Для подготовки данной статьи использовалась информация, находящаяся в открытом доступе и легко проверяемая по приведенным источникам. Название технологии – «обратная генетика» – произошло из-за того, что при получении способных к размножению РНК-вирусов идут не от ДНК к РНК, как это обычно делается в клетке при синтезе белка, а наоборот, от РНК вируса к комплементарной ей ДНК (кДНК), а с нее с помощью РНК-полимеразы фага Т7 – «обратно» к инфекционной РНК. Так как полученная плюс-РНК генома коронавируса имитирует клеточную матричную РНК (мРНК), она немедленно распознается машиной трансляции клетки и запускает формирование собственных инфекционных вирусных частиц. Разработано две системы обратной генетики, предполагающие получение инфекционной плюс-РНК – в условиях *in vitro* и *in vivo*. Проблема получения полноразмерной кДНК гигантского генома коронавирусов решается путем его фрагментации и последующей сшивки фрагментов с использованием стандартных подходов молекулярной биологии. В статье приведены примеры, каким образом данная технология позволяет получать синтетические коронавирусы, по свойствам неотличимые от выделенных из природы, менять круг их хозяев, усиливать вирулентность и устойчивость к специфическим антителам, влиять на патогенез болезни. Также показаны перспективы использования рекомбинантных вирусов в клеточных скрининговых анализах и моделях инфекции *in vivo* для идентификации профилактических и терапевтических подходов к лечению вирусных инфекций.

Ключевые слова: атипичная пневмония; коронавирус; межвидовая передача; обратная генетика; пандемия; COVID-19; SARS-CoV-2.

Библиографическое описание: Супотницкий М.В. Современные подходы в области молекулярной генетики вирусов при изучении представителей семейства *Coronaviridae* // Вестник войск РХБ защиты. 2021. Т. 5. № 3. С. 217–235. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-1-3-217-235>

Коронавирусы уже не менее 25 лет являются рутиной генной инженерии. Создание их рекомбинантных производных стало обычным делом в практике двух сотрудничающих/конкурирующих научных школ – Университета Северной Каролины в Чапел-Хилл (University of

North Carolina at Chapel Hill, UNC, UNC-Chapel Hill; United States) (руководитель – Ральф Стивен Барик) (Ralph Steven Baric, 1954 г.р.) [1, 2] и Уханьского института вирусологии (Wuhan Institute of Virology, WIV; China)¹ (руководитель школы – Ши Чжэнли) (Zhengli-Li Shi, 1964 г.р.) [3]. Но это

¹ Институт был основан в 1956 г. как Уханьская лаборатория микробиологии Академии наук Китая. В январе 2015 г. в институте французским подрядчиком из Лиона построена первая в КНР лаборатория с уровнем защиты BSL-4. Стоимость контракта – 44 млн долл. США. Сотрудники прошли обучение в лаборатории BSL-4 в Галвестоне, штат Техас (The Galveston National Laboratory in Galveston, Texas, United States). В но-

не единственные научные школы, экспериментирующие с геномами коронавирусов. В допандемический период исследования по изменению генома коронавирусов проводились открыто, с благородными, публично озвучиваемыми целями² – определить, какой именно белок отвечает за способность коронавирусов переходить от одного биологического вида животных к другому; могут ли они попасть от животных к людям; и могут ли распространяться воздушно-капельным путем между людьми; как создать спасительную вакцину на тот случай, «если» ..., и т.п. SARS-CoV-2 стал объектом манипуляций обратной генетики еще до объявления пандемии COVID-19³ [4]. После объявления пандемии работы по получению синтетических вариантов SARS-CoV-2 приобрели взрывной характер [4–8]. В 2021 г. были созданы клеточные и векторные системы для получения вируса в количествах, выходящих за рамки нужд диагностических исследований [8]. Получение вариантов коронавирусов летучих мышей, способных вызывать инфекцию у других видов животных и в клетках человека [9], а также вариантов SARS-CoV-2, ранее не существовавших в природе [5–8], говорит о переходе генетических исследований коронавирусов на уровень синтетической биологии [10, 11]. В условиях затянувшейся пандемии COVID-19, а также с учетом того обстоятельства, что природный резервуар SARS-CoV-2 остался не выясненным, такие исследования и их методология должны быть объектом пристального мониторинга, а его результаты – общедоступными.

Цель работы – показать, каким образом применение обратной генетики позволяет конструировать ранее не существовавшие коронавирусы, технологии и основные достижения в их создании.

Вся информация, использованная для подготовки данной статьи, находится в открытом доступе и может быть проверена по приведенным ссылкам на источники. Ее поиск проводился с помощью текстовой медицинской базы PubMed, поисковых возможностей Google Scholar, Научной электронной библиотеки

eLIBRARY.RU и научных специализированных изданий.

Первые коронавирусные химеры. Одним из отличительных признаков вирусов семейства *Coronaviridae* является высокая специфичность к виду хозяина. Основной задачей исследований по получению коронавирусных химер в конце 1990-х гг. было выявление молекулярной основы взаимодействия коронавирусов с соответствующими им рецепторами клетки-хозяина. Ее решение облегчило бы понимание патогенеза коронавирусных инфекций, однако этому мешало незнание деталей процесса сборки вирионов. Возможность начать изучение роли отдельных белков в морфогенезе коронавируса предоставила новая технология – сборка коронавирусаподобных частиц (coronavirus-like particles, VLP) из коэкспрессируемых в культуре клеток белков М (белок мембранной матрицы), Е (мембранный белок) и гликопротеина шипа (S-белок) без участия нуклеокапсида вируса (белок N). VLP высвобождались из клеток и образовывали гомогенную популяцию, морфологически неотличимую от нормальных вирионов [12].

Белки М и Е могли самостоятельно образовывать VLP. Роль S-белка в сборке вириона и его почковании оставалась непонятной. Он сам транспортировался к плазматической мембране и удерживался в комплексе Гольджи за счет его ассоциации с белком М. S-мультимеры каким-то образом специфически вписывались в пустоты массивов мономеров М (или М и Е), но они не вносили особого вклада в стабильность VLP [13]. Стало очевидным, что S-белок, хотя и не требуется для сборки вируса, необходим ему для какой-то иной важной функции – например, для инфицирования клетки [14].

Чтобы доказать роль S-белка в специфическом узнавании рецепторов на поверхности клеток-мишеней и, таким образом, показать его участие в иницировании инфекционного процесса, L. Куо с соавт.⁴ [14] сконструировали *мутант* вируса гепатита мышей (mouse hepatitis virus, MHV), у которого эктодомен гли-

вом лабораторном здании – 3000 м² площади BSL-4, а также 20 лабораторий BSL-2 и две лаборатории BSL-3. Объекты BSL-4 были аккредитованы Китайской национальной службой аккредитации для оценки соответствия (CNAS) в январе 2017 г., а лаборатория уровня BSL-4 была введена в эксплуатацию в январе 2018 г. См. https://en.wikipedia.org/wiki/Wuhan_Institute_of_Virology (дата обращения: 25.05.2021).

² Подробно о манипуляциях с геномом коронавирусов, предшествующих пандемии COVID-19, можно прочитать в научном «эссе» российского ученого Юрия Дейгина. В этой же работе Юрий Дейгин предлагает подходы к определению признаков вмешательства в геном вирусов. См. Deigin Y. Lab-Made? SARS-CoV-2 Genealogy through the Lens of Gain-of-Function Research. <https://yurideigin.medium.com/lab-made-cov2-genealogy-through-the-lens-of-gain-of-function-research-f96dd7413748> (дата обращения: 16.06.2021).

³ Название новой болезни и вызвавшего ее вируса было определено ВОЗ 11.02.2020 г. следующим образом: возбудитель болезни – коронавирус острого респираторного синдрома 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARSCoV-2). Болезнь – коронавирусное заболевание 2019 (Coronavirus Disease 2019, COVID-19).

⁴ Работа выполнена в David Axelrod Institute, Wadsworth Center for Laboratories and Research, New York State Department of Health, Albany (New York 12201) и Institute of Virology, Department of Infectious Diseases

копротеина шипа (S-белок) был заменен сильно дивергировавшим эктодоменом гликопротеина шипа вируса инфекционного перитонита кошек (feline infectious peritonitis virus, FIPV). MNV и FIPV относятся к двум разным группам коронавируса и каждая из них высокоспецифична для соответствующего вида хозяина. S-белки MNV и FIPV имеют только 26% общей аминокислотной идентичности, их наибольшее расхождение происходит в аминоконцевой половине каждой молекулы. Они распознают разные рецепторы: MNV – членов семейства билиарных гликопротеинов мышей; FIPV – кошачью аминопептидазу N (fAPN).

Полученный жизнеспособный химерный вирус, обозначенный как fMNV, приобрел способность *пересекать видовой барьер* – т.е. инфицировать клетки кошек, и одновременно он потерял способность инфицировать клетки мыши в культуре ткани. Это реципрокное переключение видовой специфичности убедило исследователей в том, что диапазон клеток-хозяев коронавируса определяется, в первую очередь, на уровне взаимодействий между S-белком и рецептором вируса на клетке хозяина. S-белок коронавируса – основной и, возможно, единственный фактор его видовой специфичности. В то же время исследователи отдавали себе отчет в ограниченности использованного ими метода сайт-специфического мутагенеза для исследований экспрессии и функции генов из-за чрезвычайно большого размера генома коронавируса – 28–32 т.п.н. [14].

Разработка обратной генетической системы конструирования коронавируса. Получение полноразмерной кДНК⁵ гигантского (для вирусов!) генома, да еще в сочетании с участками нестабильности, способной в пермиссивных клеточных линиях сформировать полную инфекционную РНК вируса – для молекулярных биологов 1990-х гг. было сложной задачей. В начале нулевых годов ее решила группа Ральфа Баррика, пойдя по пути деконструкции РНК-генома коронавируса на фрагменты кДНК, полученные с помощью ОТ-ПЦР⁶ или химическим синтезом. Затем эти фрагменты последовательно сшивали в соответствии с последовательностью РНК-цепи вируса, максимизируя стабильность генома. При необходимости вносили нуклеотидные замены в отдельные фраг-

менты. Полноразмерную кДНК вируса в условиях *in vitro* использовали в качестве матрицы для транскрипции РНК с помощью РНК-полимеразы фага Т7. Полученная плюс-РНК генома коронавируса имитирует клеточную мРНК. Поэтому при введении в пермиссивную клетку она немедленно распознается ее машиной трансляции и запускает формирование собственных инфекционных вирусных частиц. То есть создатели такого способа синтеза вирусов пошли в «обратную сторону» – не от ДНК к РНК, как это обычно делается в клетке при синтезе белка, а наоборот, от РНК вируса к его кДНК, с нее – «обратно» к инфекционной РНК. Нуклеотидные замены и делеции, внесенные в кДНК-фрагменты перед их сшивкой в полноразмерную кДНК вируса, после транскрипции с нее РНК и образования вирусных частиц, если не знать об их искусственном происхождении, будут в эпидемических цепочках рассматриваться как мутации природного штамма вируса, например, Wuhan-Hu-1. В этом суть работы обратной генетической системы (англ. reverse genetic system, RGS) конструирования коронавируса [15].

В настоящее время для получения синтетических коронавируса используются две системы обратной генетики, предполагающие получение инфекционной плюс-РНК в условиях *in vitro* [4–6, 16], а также две системы, позволяющие получение инфекционной плюс-РНК вируса в условиях *in vivo* [7, 8].

Получение инфекционной плюс-РНК коронавируса в условиях *in vitro*. Первопроходцами этой технологии стала группа Ральфа Баррика. Используя вирусы трансмиссивного гастроэнтерита (transmissible gastroenteritis virus, TGEV) и гепатита мышей (штамм MNV-A59), тогда наиболее изученных среди коронавируса, они собрали полноразмерные кДНК обоих вирусов. На плаزمиде были получены субклоны кДНК, охватывающие весь геном вируса. Затем субклоны кДНК «сшивали» вместе в условиях *in vitro* и получали интактную конструкцию кДНК, полностью соответствующую исходной плюс-цепи РНК коронавируса. Признаков сборки полноразмерной кДНК не оставалось. Транскрипты, полученные из полноразмерной кДНК коронавируса, с помощью электропорации вводили в пермиссивные клеточные линии

and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, and Institute of Biomembranes, Utrecht University (3584 CL Utrecht, The Netherlands).

⁵ кДНК (комплементарная ДНК, англ. cDNA) – ДНК, синтезированная на матрице зрелой мРНК в реакции, катализируемой обратной транскриптазой.

⁶ ПЦР с обратной транскрипцией (англ. – reverse transcription polymerase chain reaction, ОТ-ПЦР) – метод амплификации специфического фрагмента рибонуклеиновой кислоты (РНК). Одноцепочечную молекулу РНК превращают в реакции обратной транскрипции (ОТ, англ. – RT, reverse transcription) в комплементарную ДНК (кДНК) и далее амплифицируют уже одноцепочечную молекулу ДНК, используя традиционную ПЦР.

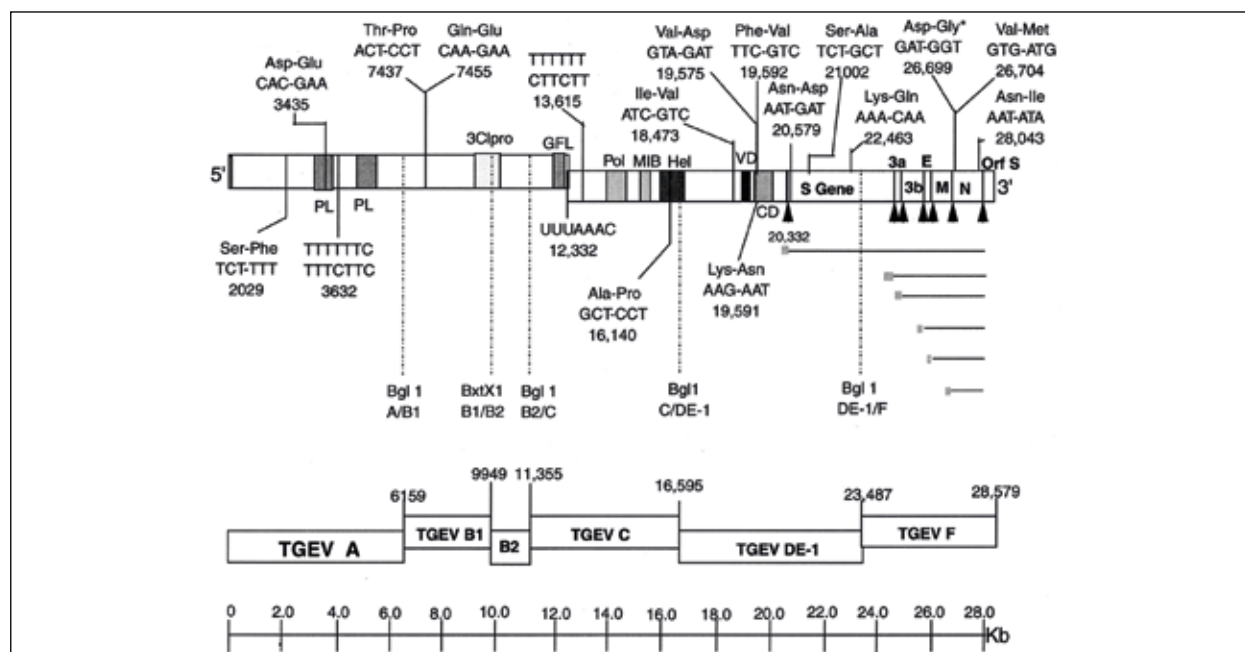


Рисунок 1 – Обратная генетическая система конструирования коронавируса. Показана общая схема сборки шести клонов кДНК (TGEV A–TGEV F) в полноразмерную кДНК TGEV. Вирус, полученный из бляшек, эффективно реплицировался и проявлял сходную морфологию бляшек в перmissive клеточных линиях. Цифровые обозначения соответствуют положению нуклеотидов в геноме вируса. Сокращения: Bgl I и Bst X1 – рестрикционные эндонуклеазы класса IIS и IIG, формировавшие «липкие концы», по которым шло бесшовное соединение клонов кДНК; PL – папаин-подобная протеаза; GFL – домен, подобный фактору роста; Pol – полимеразный мотив; MIB – металл-связывающий мотив (metal-binding motif); Hel – мотив геликазы; VD – вариативный домен; CD – консервативный домен; ↑ – межгенные начала (intergenic starts). Подробности в статье B. Yount с соавт. [1]

(Vero E6) и в них начиналась сборка полноценных, обладающих инфекционностью, вирусных частиц⁷ [1, 2]. Общая схема сборки клонов кДНК TGEV в полноразмерную кДНК инфекционного РНК-вируса показана на рисунке 1.

Полный геном SARS-CoV Urbani был собран этим же способом в виде шести смежных субклонов. Через уникальные сайты рестрикционной эндонуклеазы Bgl I их соединяли (лигировали) в полноразмерную кДНК вируса и в условиях *in vitro* использовали в качестве матрицы для транскрипции РНК с помощью РНК-полимеразы фага T7. Полученные РНК-транскрипты вводили в перmissive клетки с помощью электропорации, где по ним

клеточная машина трансляции формировала инфекционные вирусные частицы [1].

Эта же технология, адаптированная X. Хие с соавт.⁸ [5, 6] для получения синтетических производных SARS-CoV-2, представлена на рисунке 2. Она позволяет: 1) генерировать мутантные и репортерные SARS-CoV-2 и другие вирусы путем манипулирования плазмидой, содержащей фрагмент кДНК с необходимой мутацией (или мутациями), снижая риск нецелевых мутаций или делеций, непреднамеренно включенных в рекомбинантный вирус; 2) одновременно манипулировать множественными мутациями из разных фрагментов кДНК, так как для создания комбинаторных мутантных вирусов можно

⁷ Работа выполнена в Department of Epidemiology, School of Public Health, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina; Department of Pediatrics and Microbiology and Immunology, Elizabeth B. Lamb Center for Pediatric Research, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, Tennessee; Department of Microbiology, School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania; Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina.

⁸ Работа выполнена в Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Texas Medical Branch, Galveston TX, США. Она уникальна еще и тем, что на 40 страницах на примере SARS-CoV-2 приведено детальное описание 108 этапов получения синтетических коронавируса с указанием возможных ошибок и критических точек при их выполнении. Например, раздел «TROUBLESHOOTING» (поиск и устранение ошибок) стоит посмотреть просто из любопытства [6]. В целом методика получения SARS-CoV-2 расписана так подробно, как расписывают лабораторную работу на младших курсах университетов. В этом же учреждении проходили стажировку китайские ученые из Института вирусологии в Ухани (URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Wuhan_Institute_of_Virology; дата обращения: 25.05.2021).

параллельно сконструировать более одной мутации из разных фрагментов кДНК. Такая гибкость важна при характеристике комбинаторного эффекта нескольких вирусных мутаций на иммунный ответ хозяина или течение болезни; 3) быстро вставлять в геном искусственного вируса мутации, обнаруженные у новых клинических изолятов или проводить замены участков генома исходного вируса на аналогичные родственных коронавирусов животных.

Т.Т.Н. Thao с соавт. [4] предложили платформу для сборки крупных геномов коронавирусов, альтернативную платформе Ральфа Барика⁹. Их платформа использует для создания синтетических РНК-вирусов дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Обоснованием использования системы клонирования в дрожжах является способность дрожжей рекомбинировать перекрывающиеся фрагменты ДНК *in vivo*, что позволило разработать метод, названный клонированием с рекомбинацией, связанной с трансформацией (англ. transformation-associated recombination cloning, TAR). Субгеномные фрагменты вирусов были созданы Т.Т.Н. Thao с соавт. [4] с использованием вирусных изолятов, клонированной вирусной ДНК, клинических образцов или синтетической ДНК, а затем эти фрагменты были повторно собраны в один геном в *S. cerevisiae* с использованием технологии TAR, позволяющей сохранить полученный рекомбинант в качестве искусственной хромосомы в дрожжах¹⁰ [17]. Затем с помощью РНК-полимеразы Т7 получали инфекционную РНК репликационно способно-

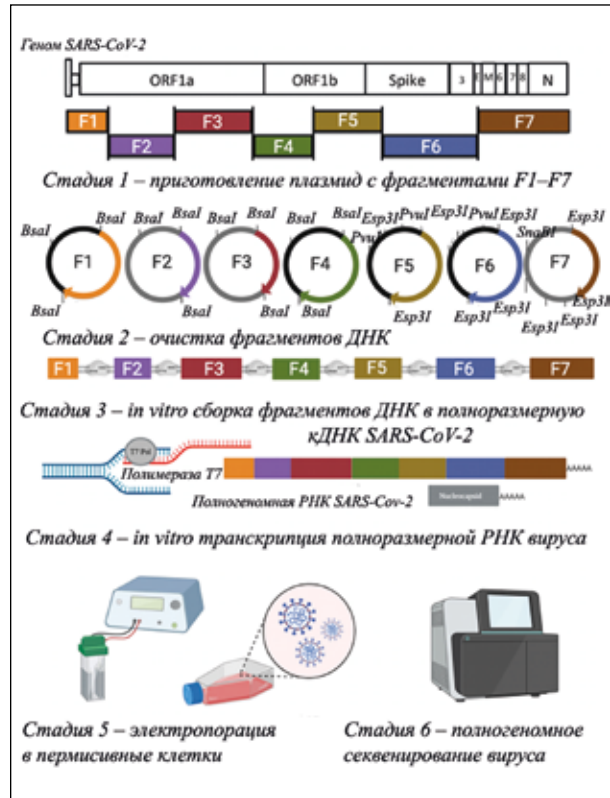


Рисунок 2 – Основные шесть стадий получения синтетического SARS-CoV-2 и его производных при получении плюскРНК вируса в условиях *in vitro*. Стадии разделены на 108 этапов. Стадии 1–4 выполняются в общей лаборатории. Процедуры стадий 5–6, связанные с манипуляциями с SARS-CoV-2, должны выполняться в лаборатории уровня биобезопасности 3 (BSL-3).

Стадия 1 – приготовление семи плазмид, содержащих фрагменты F1–F7 SARS-CoV-2. Нежелательные мутации в плазидах перед сборкой полноразмерной ДНК SARS-CoV-2 исключаются рестрикционным анализом и секвенированием по Сэнгеру. Стадия 2 – подготовка высококачественных фрагментов ДНК для последующих экспериментов путем переваривания (гидролиза) рестриктазами плазмид. Стадия 3 – сборка семи фрагментов ДНК в полноразмерную ДНК SARS-CoV-2 в условиях *in vitro* с использованием ДНК-лигазы T4. Полноразмерный продукт лигирования немедленно очищают фенол-хлороформной экстракцией и осаждением изопропанолом. Стадия 4 – транскрипция в условиях *in vitro* полноразмерной РНК и РНК N-гена. Стадия 5 – электропорация в перmissive клетки (Vero E6 или BHK-21 и VeroE6) полноразмерной РНК вируса и выделение рекомбинантного вируса SARS-CoV-2 из клеточной культуры. Стадия 6 – полногеномное секвенирование вируса по Сэнгеру для проверки всей последовательности генома полученного вируса.

По X. Xie с соавт. [6]

⁹ Работа выполнена в Institute of Virology and Immunology (IVI), Switzerland; Department of Infectious Diseases and Pathobiology, Vetsuisse Faculty, University of Bern, Switzerland; Graduate School for Biomedical Science, University of Bern, Switzerland; Institute of Veterinary Bacteriology, Vetsuisse Faculty, University of Bern, Switzerland; Institute for Infectious Diseases, University of Bern, Switzerland; Department for Molecular and Medical Virology, Ruhr-Universität Bochum, Germany; Institute of Virology, Charité-Universitäts corporate member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, и Berlin Institute of Health, Germany; German Centre for Infection Research, associated partner Charité, Berlin, Germany; Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Москва, Российская Федерация.

¹⁰ Искусственные хромосомы дрожжей (англ. yeast artificial chromosome, YAC) – это хромосомы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, предназначенные для клонирования генов. Основными компонентами YAC являются автономно реплицирующаяся последовательность, центромера и теломеры *S. cerevisiae*. Для отбора трансформированных дрожжевых клеток используются гены селективируемых маркеров, таких как устойчивость к антибиотикам или визуализируемый маркер. В такую хромосому можно вставлять фрагменты ДНК размером от 100 до 1000 т.п.н.

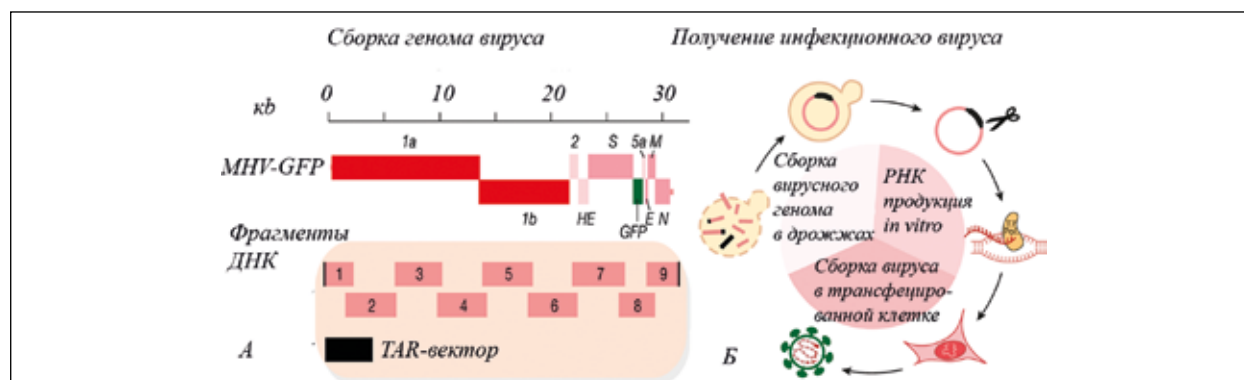


Рисунок 3 – Схема создания синтетического инфекционного коронавируса с помощью технологии TAR. А. Вирусную РНК получали из клеток 17С1-1 мыши, инфицированных МНВ-ГРП, и использовали для амплификации с помощью ОТ-ПЦР перекрывающихся фрагментов ДНК, охватывающих геном МНВ-ГРП от 2024 до 29672 нуклеотида. Фрагменты ДНК, содержащие 5' и 3'-концы, были клонированы на вирусе осповакцины, амплифицированы с помощью ПЦР. Б. Все фрагменты ДНК были одновременно трансформированы в *S. cerevisiae* (штамм VL6-48N). Трансформированные фрагменты ДНК собирали путем гомологичной рекомбинации в дрожжах для создания YAC, которая содержит полноразмерную последовательность вирусной кДНК. Производство инфекционной экпированной вирусной РНК в условиях *in vitro* начинается с выделения YAC с последующей линейризацией плазмиды, чтобы обеспечить матрицу ДНК для транскрипции РНК вируса РНК-полимеразой Т7. Получение инфекционного вируса инициируется электропорацией клеток ВНК-МНВ-Н, после чего производство и амплификация вируса осуществляются путем культивирования вируса в перmissive линиях клеток. Подробное описание технологии см. в работе T.T.N. Thao с соавт. [4]

го вируса. Первоначально эта технология отрабатывалась на МНВ А59 (рисунок 3).

Для оценки возможности применить платформу синтетической геномики к другим коронавирусам, исследователи воссоздали МЕРS-CoV из восьми перекрывающихся фрагментов ДНК. В результате были получены рекомбинантные rMERS-CoV и rMERS-CoV-GFP. Этим экспериментом они показали, что платформа синтетической геномики подходит для модификации генома коронавируса. Синтетический rMERS-CoV-GFP уникален тем, что содержал вставку гена зеленого флуоресцирующего протеина (англ. green fluorescent protein, GFP), состоящего из 238 аминокислот (ММ 27 кДа). Клоны синтетических вирусов пассировали на перmissive клетках 15–17 раз, последующее секвенирование показало, что полученные геномы стабильно сохранялись в процессе пассажей.

Далее T.T.N. Thao с соавт. [4] клонировали несколько других коронавирусов: HCoV-229E2, HCoV-HKU1 (GenBank: NC_006577), MERS-CoV-Riyadh-1734-2015 (GenBank: MN481979); и вирусов других семейств – таких, как вирус ZIKA из семейства Flaviviridae (GenBank: KX377337) и респираторно-синцитиальный вирус человека

из семейства Pneumoviridae (hRSV). Клонирование этих вирусных геномов с помощью технологии TAR во всех случаях было успешным вне зависимости от источника вируса, матрицы нуклеиновой кислоты или количества фрагментов ДНК. Клонирование hRSV-B осуществлено без какой-либо предварительной информации о генотипе вируса, непосредственно из клинического образца (носоглоточный аспират), из четырех перекрывающихся фрагментов ДНК (GenBank: MT107528). В совокупности эти результаты демонстрируют, что платформа синтетической геномики TAR обеспечивает технический прогресс для быстрого создания молекулярных клонов различных РНК-вирусов с использованием вирусных изолятов, клонированной ДНК, синтетической ДНК или клинических образцов в качестве исходного материала.

Получение инфекционной плюсРНК непосредственно в перmissive клетках. Системы данного типа отличаются от описанных выше отсутствием этапа подверженной ошибкам транскрипции кДНК в условиях *in vitro*. Первая такая система обратной генетики была создана в 2020 г. Ye Ch. с соавт.¹¹ [7] на ос-

¹¹ Работа выполнена в Texas Biomedical Research Institute, San Antonio, Texas, USA; Department of Veterinary Microbiology, University of Ilorin, Ilorin, Nigeria; Department of Molecular and Cell Biology, Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Madrid, Spain; Department of Immunology and Microbiology, The Scripps Research Institute, La Jolla, California, USA.

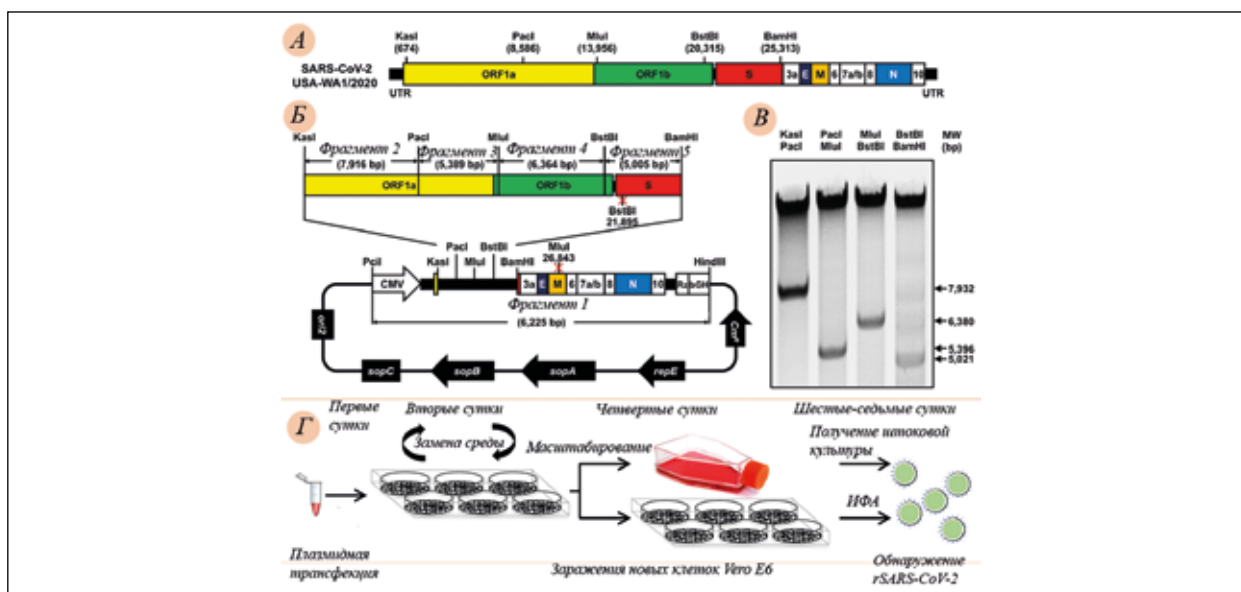


Рисунок 4 – Сборка синтетического генома SARS-CoV-2 в BAC и получение синтетического вируса непосредственно в пермиссивных клетках. А. Схематическое изображение генома SARS-CoV-2. Указанные сайты рестрикции использовали для клонирования всего вирусного генома (29903 нуклеотида) SARS-CoV-2 (штамм USA-WA1/2020) в плазмиду pBeloBAC. Показаны открытые рамки считывания структурных белков 1a, 1b, шипа (S), оболочки (E), матрицы (M) и нуклеокапсида (N) и дополнительных белков (3a, 6, 7a, 7b, 8 и 10). UTR. Длина не в масштабе. **Б и В.** Сборка вирусного генома. **Б.** Полноразмерный клон инфекционной кДНК собирали путем последовательного клонирования в плазмиду pBeloBAC химически синтезированных фрагментов с 1 по 5, покрывающих весь вирусный геном, в плазмиду с использованием указанных сайтов рестрикции под контролем промотора цитомегаловируса (CMV); клон был фланкирован на 3'-конце рибозимом (Rz) вируса гепатита дельта (HDV) и последовательностями терминирования и полиаденилирования бычьего гормона роста (bGH). Указана длина каждого из химически синтезированных вирусных фрагментов. Ori2 указывает участок начала репликации BAC. *sorA*, *sorB* и *sorC* – элементы плазмиды, гарантирующие, что каждая бактериальная клетка получит копию BAC. *СтR* указывает на ген устойчивости к хлорамфениколу. **В.** После сборки ДНК клон BAC, несущего весь вирусный геном, переваривали указанными рестрикционными ферментами (вверху), и продукты ДНК анализировали в 0,5 % агарозном геле. **Г.** Схематическое изображение подхода к спасению rSARS-CoV-2. Клетки Vero E6 трансфицировали BAC SARS-CoV-2. Через 24 ч среду для трансфекции заменяли на среду для постинфекции. На 4-е сутки клетки вносили во флаконы T75 и супернатант культуры клеток использовали для заражения новых клеток Vero E6. Через 48 ч после инфицирования в клетках Vero E6 с помощью иммунофлуоресценции обнаруживали rSARS-CoV-2. В качестве контроля эксперимента клетки Vero E6 трансфицировали BAC. По Ch. Ye с соавт. [7]

нове бактериальной искусственной хромосомы (BAC)¹². Она использована для генерации инфекционного рекомбинантного SARS-CoV-2 (rSARS-CoV-2), проявляющего в условиях *in vivo* признаки, аналогичные свойствам природного изолята вируса.

Исследователи химически синтезировали пять фрагментов генома штамма SARS-CoV-2, выделенного из мазка, взятого из ротоглотки

пациента с симптомами респираторного заболевания в округе Снохомиш, штат Вашингтон (США). Они были собраны в плазмиде pBeloBAC¹³ с использованием стандартных подходов молекулярной биологии (рисунок 4).

Чтобы облегчить сборку вирусного генома, в него включили генетические метки, позволяющие отличить клон rSARS-CoV-2 от природного изолята – две молчащие мутации. Одна – в гене

¹² Бактериальная искусственная хромосома (англ. bacterial artificial chromosome, BAC) – это конструкция ДНК, основанная на функциональной плазмиде фертильности (или F-плазмиде), используемой для трансформации и клонирования бактерий, обычно *E. coli*. F-плазмиды содержат гены разделения, которые способствуют равномерному распределению плазмид после деления бактериальных клеток. Обычный размер вставки бактериальной искусственной хромосомы составляет 150–350 т.п.н.

¹³ pBeloBAC – однокопийный плазмидный вектор, реплицирующийся в кишечной палочке. Предназначен для создания BAC. Подробное описание см. https://www.snapgene.com/resources/plasmid-files/?set=basic_cloning_vectors&plasmid=pBeloBAC11 (дата обращения: 20.07.2021).

S-белка (21895 нуклеотид), другая – в гене М-белка (26843 нуклеотид); удалив сайты рестрикции BstBI и MluI соответственно (рисунок 4Б).

Для восстановления rSARS-CoV-2 клетки Vero E6 трансфицировали ВАС SARS-CoV-2 и ВАС (контроль), и в сравнении с контролем отслеживали наличие цитопатического эффекта в клетках, проявлявшегося через 72 ч после трансфекции. Продукция инфекционного вируса (пассаж 0) трансфицированными клетками составляла $3,4 \times 10^5$ БОЕ/мл¹⁴ (рисунок 4Г). Восстановление rSARS-CoV-2 было подтверждено обнаружением вирусного антигена в клетках Vero E6, инфицированных супернатантами культур клеток, собранных ранее из культур клеток Vero E6, трансфицированных SARS-CoV-2 ВАС.

Несколькими месяцами позже аналогичная система разработана S. Rihn с соавт.¹⁵ [8]. От описанной выше системы Ch. Ye с соавт. [7] она отличается тем, что для введения ДНК, кодирующей плюсРНК вируса в пермиссивные клетки, используется не ВАС, а *плазмидный вектор*. Прямую визуализацию и количественную оценку реплицирующегося вируса в клетках обеспечивали кассеты, содержащие маркеры. Исследователи назвали ее *плазмидной системой обратной генетики* (англ. reverse genetics, RG). Ими с использованием низкокопийной

плазмиды pCC1-4K (не содержащей фактора F, отвечающего за конъюгацию плазмиды) на основе вируса Wuhan-Hu-1 создан инфекционный клон кДНК (icDNA) SARS-CoV-2.

Геном icDNA SARS-CoV-2 собран из 5 синтетических фрагментов ДНК, каждый из которых фланкирован уникальными сайтами рестрикции SanDI (1524)¹⁶, PacI (8586), MluI (13956), Bsu36I (18176) и BamHI (25313). Промотор цитомегаловируса человека (CMV) был вставлен в положение, соответствующее 5'-концу генома; двойной рибозим вируса гепатита (HDV)¹⁷ и терминатор вируса обезьяны 40 (SV40) были добавлены после поли-А-хвоста 3'-конца вирусного генома. Эти элементы обеспечивают эффективную транскрипцию и гомогенный процессинг 3'-конца во время спасения инфекционного вируса. Прямую визуализацию и количественную оценку реплицирующегося вируса в клетках обеспечивали кассеты, содержащие последовательности, кодирующие флуоресцентные (mCherry и ZsGreen) и биолюминесцентные (нанолюцифераза или NLuc) белковые маркеры¹⁸, вставленные в остов плазмиды. Чтобы избежать делеции вирусных последовательностей, маркеры были клонированы внутри рамки считывания (in-frame) ближе к С-концу белка ORF7a с использованием линкера «пропуска рибосом» (2A) вируса ящура 2A19. Так

¹⁴ Бляшкообразующая единица, БОЕ (plaque-forming unit, PFU) – наименьшее количество вируса, способное вызвать образование одной негативной колонии («бляшка») соответственно на однослойной культуре клеток позвоночных или на агаровой культуре бактерий.

¹⁵ Работа выполнена в MRC-University of Glasgow Centre for Virus Research (CVR), Glasgow, United Kingdom; Institute of Technology, University of Tartu, Tartu, Estonia; MRC Protein Phosphorylation and Ubiquitylation Unit, School of Life Sciences, University of Dundee, Dundee, United Kingdom; Institute of Biodiversity, Animal Health and Comparative Medicine, University of Glasgow, Glasgow, United Kingdom; Emerging Viruses, Inflammation and Therapeutics Group, Menzies Health Institute Queensland, Griffith University, Gold Coast, Queensland, Australia; Division of Biological Sciences, College of Arts and Sciences, University of the Philippines Visayas, Miagao, Iloilo, Philippines; West of Scotland Specialist Virology Centre, Glasgow, United Kingdom; Indian Immunologicals Ltd (IIL), Rakshapuram, Gachibowli Post, Hyderabad Telangana, India; Drug Discovery Unit (DDU), Wellcome Centre for Anti-Infectives Research, School of Life Sciences, University of Dundee, Dundee, United Kingdom; School of Medical Sciences, Griffith University, Gold Coast, Queensland, Australia.

¹⁶ В скобках указано положение нуклеотидного остатка в геноме вируса.

¹⁷ Рибозим вируса гепатита дельта (HDV) – некодирующая РНК (non-coding RNA), обнаруженная в геноме HDV, необходимая для его репликации. HDV – единственный известный человеческий вирус, который использует активность рибозима для заражения своего хозяина. Рибозим активен в условиях *in vivo* в отсутствии каких-либо белковых факторов.

¹⁸ mCherry – белок, входящий в группу мономерных красных флуоресцентных белков mFruits. Его природный белок-предшественник – DsRed (RFP) был выделен из кораллов рода *Discosoma* отряда морских анемонов. В отличие от DsRed, mCherry является мономерным белком и его флуоресценция более стабильна, чем у его природного предшественника. Ген mCherry содержит 711 пар оснований. Белок включает 236 аминокислот, ММ 26,7 кДа.

ZsGreen – исключительно ярко-зеленый флуоресцентный белок, полученный из рифтового коралла *Zoanthus* sp. (ММ 26,1 кДа).

NLuc – мутантная форма люциферазы (171 аминокислота, ММ 19 кДа), обладает лучшими характеристиками по сравнению с белком дикого типа.

¹⁹ 2А-пептиды (англ. 2A self-cleaving peptides) – группа пептидов длиной от 18 до 22 аминокислот. Разделяют два белка, самовырезание из полипептидной цепи происходит после трансляции. Предполагается, что при вырезании 2А-пептидов происходит не настоящее протеолитическое расщепление, а «проскок» рибосомы, в результате которого пептидная связь между остатками глицина и пролина просто не формируется.

S. Rihn с соавт. [8] удалось добиться высвобождения из белка ORF7a формирующегося репортерного белка (рисунок 5).

Разработанная S. Rihn с соавт. [8] плазмидная система обратной генетики позволяет получать репликационно-компетентный SARS-CoV-2 непосредственно из супернатантов клеточных культур. После трансфекции плазмиды в клетки BHK-21 их помещали в шести-ячеечные планшеты и после трехсуточного подраствивания супернатант с вирусом переносили в флаконы T25, содержащие клетки Vero E6. Кроме того, эта конструкция SARS-CoV-2 легко поддается генетическим манипуляциям (для изучения вариантов вируса) и вставке репортеров, таких как флюоресцентные или биолуминесцентные белки, которые могут использоваться в различных исследованиях как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*, и обеспечивать прямое обнаружение и количественную оценку кинетики репликации вируса в клетке.

Изучение биологии химерных коронавируса. Исследователям необходимо было понять масштабы изменения S-белка и в какую сторону их менять для расширения специфичности коронавируса в органах и тканях традиционного хозяина, а также расширения диапазона его новых хозяев. Такие опыты велись с MHV. Диапазон хозяев и специфичность вируса пытались расширить путем его переключения с высокоспецифического рецептора (отдельные билиарные гликопротеины клеток печени мышей) на неспецифический – гепаринсульфат (линейный полисахарид, обнаруженный во всех тканях животных). Что из этого получилось, из статьи неясно. Но времена изменились. Смертоносная эпидемия SARS сместила интересы исследователей с вариаций S-белка модельных MHV и FIPV, к S-белку, обеспечивающему специфичность более опасных коронавирусов. Ключевой проблемой стал механизм, по которому они могут приобрести способность сменить «хозяина», т.е. передаваться от животного к человеку, а затем распространяться от человека к человеку²⁰ [18].

К.Е. Follis с соавт. [19] из University of Montana, (Missoula, USA) обратили внимание на отсутствие у S-белка SARS-CoV сайта расщепления фурином и фуриноподобными клеточными протеазами, что приводило к его неполному расщеплению при взаимодействии с рецептором, а, следовательно, к неиспользованию всего патогенного потенциала вируса. Эта находка противоречила существовавшим тогда представлениям об особой роли протеолитиче-

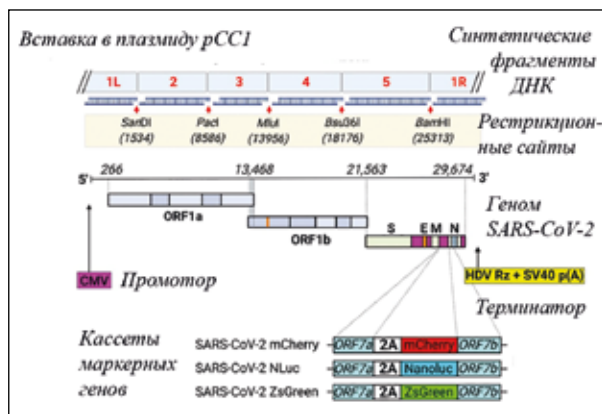


Рисунок 5 – Схема конструирования клона icDNA pCC1-4K-SARS-CoV-2-Wuhan-Hu-1. Синтетические фрагменты ДНК 1, 2 и 3 на основе последовательности SARS-CoV-2-Wuhan-Hu1 были клонированы в плазмиду pCC1 (производная от плазмиды pCC1BAC), а фрагменты 4 и 5 были клонированы в высококопийную плазмиду pUC57Kap компанией по синтезу генов (Genscript). Фрагменты были сконструированы так, чтобы они содержали специфические сайты рестрикционного клонирования *SanDI*, *PacI*, *MluI*, *Bsu36I* и *BamHI* для целей клонирования. Последовательности, кодирующие маркеры *mCherry*, *ZsGreen* и *NLuc*, клонировали в рамке считывания до С-конца белка ORF7a через линкер FMDV 2A. Значительная часть регуляторных последовательностей плазмиды pCC1 была удалена, чтобы получить плазмиду pCC1-4K (в которой отсутствует интактный фактор F). Система pCC1-4K поддерживается в количестве одной копии на клетку, что обеспечивает стабильность кДНК SARS-CoV-2. Для увеличения функциональности этой системы в геном icDNA вставлены кассеты различных репортерных молекул (например, *mCherry*, *ZsGreen* и *Nanoluciferase* (NLuc)). Сам вирусный геном был фланкирован эукариотическими промотором и терминатором. По S. Rihn с соавт. [8]

ского созревания в структуре и функции других гликопротеинов I класса, входящих в оболочки вирусов. Расщепление S-белка клеточными протеазами требуется для обеспечения потенциала слияния гликопротеинов оболочки ретровирусов, ортомиксовирусов, парамиксовирусов, филовирюсов, аренавирусов и многих коронавирусов (MHV, коронавирусы птиц, CoV OC43), так как исходно они синтезируются как неактивные предшественники. Протеолитическое расщепление им необходимо для созревания и полной функциональной активности. После последующей активации созревшего гли-

²⁰ Юрий Дейгин обратил внимание на то, что имя Ши Чжэнли появилось впервые в этой статье. Видимо, в 2005 г. она стажировалась под руководством Питера Роттиера в Утрехте (Faculty of Veterinary Medicine and Institute of Biomembranes, Utrecht University, The Netherlands). Этот институт был указан в качестве ее аффилиации.

копротеина оболочки класса I за счет связывания с рецептором и/или низкого эндосомального pH, эти комплексы претерпевают глубокую структурную реорганизацию с образованием в конечном итоге высокостабильных структур – шпилек, способствующих эффективному слиянию вирусной и клеточной мембран [20].

С помощью алгоритма MAXHOM, использованного для выравнивания последовательностей предполагаемой области соединения S1–S2 S-гликопротеина коронавируса, К.Е. Follis с соавт. [19] обнаружили остатки фуринового сайта в гликопротеинах SARS-CoV, CoV 229E и NL63, исчезнувшего в результате спонтанных делеций. О некогда существовавшем сайте, чувствительном к протеазе, сигнализировал единственный аргинин (R) в положении 667 S-гликопротеина SARS-CoV. Введение синтетической последовательности распознавания фурина SLLR в R667, т.е. в предполагаемую область соединения S1–S2, сделало возможным эффективное расщепление S-гликопротеина с образованием дискретных субъединиц S1 и S2, и заметно увеличило способность комплекса шпилек опосредовать слияние клеток, т.е. формировать синтиций.

Отсутствие фуринового сайта у SARS-CoV, и без него приводящего к летальному исходу почти каждого десятого, заболевшего атипичной пневмонией, вызвало интерес у японских исследователей – R. Watanabe с соавт. [21] из National Institute of Infectious Diseases (Tokyo, Japan). Они ввели фуриноподобную последовательность расщепления в S-белок в аминокислотах с 798 по 801 и обнаружили, что S-белок теперь расщеплялся при экспрессии на клеточной поверхности и индуцировал слияние клеток без обработки трипсином. Кроме того, ими было обнаружено, что псевдотипированный вирус, несущий расщепленный S-белок, заражает клетки в присутствии лизосомотропного агента, а также ингибитора протеазы, оба из которых обычно блокируют проникновение SARS-CoV в клетку через эндосомы. Результаты R. Watanabe с соавт. [21] показали, что вставка фуринового сайта в S-белок SARS-CoV позволяет вирусу проникать в клетку непосредственно с ее поверхности.

Обнаружение SARS-подобных CoV (SL-CoV), идентичных по геномной организации с SARS-CoV, но отличающихся по связыванию с

ACE2²¹, поставило перед исследователями вопрос о том, насколько непреодолим для таких вирусов межвидовой барьер между людьми и летучими мышами. Иными словами, могут ли SARS-подобные CoV животных в результате случайной рекомбинации с геномами других коронавирусов приобрести способность вызывать инфекционный процесс у людей.

Первую попытку ответить на этот вопрос предприняла группа Ши Чжэнли. Для этого на основе вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) ими была сконструирована псевдовиральная система с клеточными линиями, экспрессирующими молекулы ACE2 человека, циветты или подковообразной летучей мыши. Псевдовirus включали полноразмерный S-белок SL-CoV и SARS-CoV, и серию S-химер, включающих вставки различных последовательностей S-белка SARS-CoV в основную цепь S-белка SL-CoV. Они показали, что S-белок SL-CoV не может использовать ACE2 разных видов для входа в клетки. S-белок SARS-CoV также не может связывать молекулу ACE2 подковообразной летучей мыши *Rhinolophus pearsonii*. Однако, когда рецептор-связывающий домен (англ. receptor binding domain, RBD) S-белка SL-CoV заменяли на RBD S-белка из SARS-CoV, гибридный S-белок приобретал способность использовать человеческий ACE2 для входа в клетку (хотя и с разной эффективностью для разных конструкций), что означало структурное и функциональное сходство S-белка SL-CoV с S-белком SARS-CoV. Эти результаты предполагают, что хотя SL-CoV, обнаруженные у летучих мышей на момент проведения исследования, вряд ли заражат людей, еще предстоит выяснить, способны ли они использовать другие поверхностные молекулы определенных типов клеток человека. Также возможно, что эти вирусы могут стать инфекционными для человека, если они претерпевают вариацию N-концевой последовательности, например, путем рекомбинации с другими CoV, что, в свою очередь, может привести к продуктивному взаимодействию с ACE2 или другими поверхностными белками на клетках человека [3].

Группа Ральфа Баррика, в отличие от группы Ши Чжэнли, в исследованиях, посвященных взаимодействию «вирус-рецептор», не использовала псевдотипированные вирусы. Они считали эту систему безопасной, но слишком искусственной. Полученные на ее ос-

²¹ ACE2 (ангиотензинпревращающий фермент 2, АПФ2) – рецептор входа. Позволяет SARS-подобным вирусам связаться с клеткой и инициировать их проникновение в клетку. Обнаружен на поверхности многих клеток человека, включая клетки полости носа (обонятельный эпителий), легких (мерцательные клетки бронхального эпителия и пневмоциты), почек (клетки проксимальных канальцев почек), мочевого пузыря (уротелиальные клетки), поджелудочной железы (островки Лангерганса), кишечника (эпителиальные клетки подвздошной кишки и пищевода), мозга (нейроны и глиальные клетки), сердца (миокард), кровеносных сосудов (эндотелий).

нове результаты трудно экстраполировать на реальный инфекционный процесс, так как она в принципе не может обеспечить правильную структурную экспрессию S-белка на вирионах. Поэтому, используя методы синтетической биологии и систему обратной генетики (рассмотрены выше на примере конструирования TGEV и MHV), они получили серию изогенных штаммов, соответствующих штаммам, обнаруженным у пальмовых циветт и енотовидных собак, а также изолятов SARS-CoV, охватывающих раннюю, среднюю и позднюю фазы эпидемии атипичной пневмонии. Синтезированные ими в условиях *in vitro* рекомбинантные вирусы эффективно реплицировались в культуре клеток и демонстрировали различную чувствительность к нейтрализации антителами. Человеческие, но не зоонозные варианты вирусов, эффективно реплицировались в культурах эпителия дыхательных путей человека, подтверждая более ранние гипотезы о том, что зоонозные изоляты менее патогенны для человека, но могут развиваться в высокопатогенные штаммы. Все искусственные вирусы в перmissive линиях клеток размножались эффективно. Тяжелое поражение легких, проявляющееся диффузным альвеолярным повреждением, образованием гиалиновой мембраны, альвеолитом и смертью, было отмечено у 12-месячных мышей, зараженных интраназально штаммом пальмовой циветты HC/SZ/61/03 или вариантом SARS-CoV GZ02, выделенным во время ранней фазы эпидемии. Родственные линии штаммов SARS-CoV средней и поздней стадии эпидемии или енотовидных собак поражений легких не вызывали [22].

Этой же группой к 2008 г. был синтезирован SARS-подобный CoV размером 29,7 т.п.н. (Bat-SCoV) – вероятный, как они тогда считали, предшественник эпидемического SARS-CoV. К началу их исследования были идентифицированы четыре Bat-SCoV (HKU3-1, HKU3-2, HKU3-3 и RP3), но ни один из них не был выделен в культуре. Инфекционность этих вирусов была гипотетической, поскольку последовательности их геномной РНК получены путем ОТ-ПЦР секвенирования образцов генетического материала вирусов из фекалий или ректальных мазков летучих мышей. Для синтеза последовательности ранее не существовавшего вируса группой Ральфа Барика использовано консенсусное проектирование. Исследователи по четырём последовательностям Bat-SCoV, взя-

тым из базы GenBank (номер доступа FJ211859), спроектировали консенсусную последовательность коронавируса и «разбили» ее на фрагменты кДНК с точками соединения, точно согласованными с существующей системой обратной генетики SARS-CoV. У вируса была произведена замена домена связывания рецептора Bat-SCoV Spike (RBD) на SARS-CoV RBD (Bat-SRBD). Были использованы определенные и функциональные 5'-UTR SARS-CoV и регуляторные последовательности транскрипции, поскольку 5'-UTR Bat-SCoV оказались неполными. Синтезированные фрагменты геномной кДНК вставили в плазмидные векторы и собрали в полноразмерную кДНК. Ее транскрибировали в условиях *in vitro* с получением РНК коронавируса, получившего обозначение Bat-SRBD. Он приобрел способность инфицировать культуру клеток и мышей [23].

Видимо, пришло время для объединения усилий обеих групп. В их совместной работе, имеющей, по утверждению авторов, цель «предсказать и подготовиться к будущим вирусам», методом обратной генетики был создан ранее не существовавший вирус – SHC014-MA15, способный к репликации в дыхательных путях человека и животных [9]. Для этого в нуклеотидную последовательность субъединицы S1, циркулирующего среди летучих мышей коронавируса SHC014 – ближайшего «родственника» SARS-CoV, и не проявившего себя в качестве патогена для людей из-за различия по 14 аминокислотным остаткам в участке шипа, связывающегося с ACE2 человека, были внесены точечные изменения²². Исследователи заменили нуклеотидную последовательность гена, кодирующего субъединицу S1 у SHC014, на аналогичную от SARS-CoV. Остальные гены, т.е. те, которые определяют формирование транскрипционного комплекса вирусной репликации и сборку его частиц в клетке, изменениям не подвергались²³. Новый химерный SARS-подобный коронавирус получил обозначение SHC014-MA15. Подобно SARS для инфицирования клеток легочного эпителия человека, циветты и летучей мыши, он может использовать ACE2 в качестве рецептора-мишени и его ортологи, и реплицироваться в них до высоких титров, сравнимых с таковыми у природного штамма SARS-CoV Urbani, оставаясь по остальным генам прежним SHC014. Эксперименты в условиях *in vivo* продемонстрировали репликацию химерного

²² См. в работе Т. Sheahan с соавт. [24].

²³ Работы проводились в условиях уровня биобезопасности BSL3. Применяется для работы с микроорганизмами, которые могут вызвать потенциально смертельные заболевания при вдыхании аэрозоля. Более подробно об уровнях биобезопасности см. https://en.wikipedia.org/wiki/Biosafety_level#Biosafety_level_3 (дата обращения: 04.03.2020).

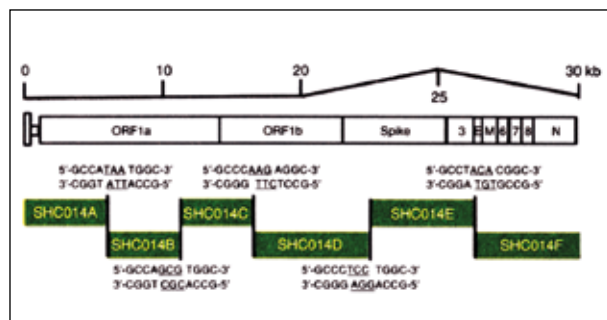


Рисунок 6 – Химерный вирус SHC014-MA15, способный к репликации в дыхательных путях человека и животных, имеющих рецептор ACE2 или его ортологи. Геномные последовательности и аминокислотные последовательности доменов S1 субъединицы шипа, репрезентативных CoV, были загружены из Genbank или Pathosystems Resource Integration Center (PATRIC). Вирусный геном синтезирован в виде шести смежных сегментов кДНК (обозначенных как SHC014A, SHC014B, SHC014C, SHC014D, SHC014E и SHC014F), фланкированных уникальными рестриктазными сайтами BglI, которые обеспечили направленную сборку полноразмерной кДНК. Новая химера оказалась более вирулентной в человеческих клетках, чем исходный вирус – SHC014 [9]

вируса в легких модельных мышей с выраженным патологическим процессом (рисунок 6)²⁴.

Но на общности способности субъединицы S1 узнавать ACE2-рецептор человека сходство обоих вирусов закончилось²⁵, проявился собственный патогенный потенциал вируса SHC014, о котором до этих экспериментов не подозревали – например, способность преодолевать искусственно созданный иммунитет. Исследователи попытались в условиях *in vitro* определить нейтрализующую эффективность в отношении SHC014-MA15 моноклональных антител (мАТ) широкого защитного спектра (109.8, SHC014-MA15, 230.15 и 227.14)²⁶, показавших хороший нейтрализующий эффект против SARS-CoV. Влияние этих антител на репликацию SHC014-MA15 оказалось незначительным, тогда как ре-

пликация SARS-CoV Urbani ими подавлялась при относительно низких концентрациях. Только использование высокой концентрации (10 мкг/мл) мАТ109.8 позволило в условиях *in vitro* достичь 50 % нейтрализации SHC014-MA15 [9].

Чтобы оценить эффективность существующих вакцин в отношении HC014-MA15, исследователи вакцинировали мышей (Balb/cAnNHsD) кандидатной двойной инактивированной цельной SARS-CoV (DIV)-вакциной. Предыдущая работа показала, что вакцина DIV может защитить мышей от заражения гомологичным вирусом [25].

Однако вакцинация от SARS-CoV не только не защищала животных от заражения HC014-MA15, но и утяжеляла течение вызванного им инфекционного процесса. Сыворотка крови, полученная от мышей, вакцинированных DIV, не смогла нейтрализовать SHC014-MA15 в условиях *in vitro* [9].

Попытка изготовить ослабленную живую вакцину на основе HC014-MA15 также оказалась неудачной. Ее использование давало незначительную перекрестную защиту от заражения SARS-CoV, что подтверждало наличие общих консервативных эпитопов, но возникли проблемы с безопасностью вакцинации. В тех дозах, которые обеспечивали некоторый защитный эффект от заражения SARS-CoV, вакцина сама вызывала патологический процесс у экспериментальных животных [9]. В целом эксперименты по получению из заражающего только летучих мышей коронавируса его генетически измененного варианта, представляющего опасность для людей, дали много для развития эпидемиологии коронавирусной инфекции. Они позволили понять существующий в природе механизм межвидового «прыжка» коронавирусов от летучих мышей к людям. Пришлось избавиться и от иллюзии, что распространение в человеческих популяциях новых видов коронавирусов, образующихся в результате рекомбинаций, может быть сдержано вакцинами, созданными в отношении видов, уже циркулирующих в природе²⁷.

²⁴ Работа в конце 2015 г. вызвала дебаты по поводу безопасности описанных экспериментов. Саймон Уэйн-Хобсон (Simon Wain-Hobson), вирусолог из Института Пастера в Париже (Pasteur Institute in Paris), отметил, что исследователи создали новый вирус, который «замечательно хорошо растет» в клетках человека. «Если вирус вырвется, никто не сможет предсказать траекторию». См. <https://www.nature.com/news/engineered-bat-virus-stirs-debate-over-risky-research-1.18787> (дата обращения: 01.03.2020). Еще менее надежно можно «предсказать траекторию», если не проводить такие эксперименты.

²⁵ Более подробно о структуре, функции и эволюции S-белка можно прочитать в работе F. Li [26].

²⁶ По уменьшению количества бляшек на клетках Vero E6 после совместного инкубирования мАТ и вируса.

²⁷ Интересен и состав исследовательских организаций: Departments of Epidemiology, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC (США); Microbiology and Immunology, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC (США); National Center for Toxicological Research, Food and Drug Administration, Jefferson, AR (США); Department of Cell Biology and Physiology, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC (США); Marsico Lung Institute/Cystic Fibrosis Center, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC (США); Institute for Research in Biomedicine, Bellinzona, Switzerland Institute of Microbiology,

Поиски подходов к конструированию синтетических CoV и изучению их биологических свойств все чаще выводили исследователей на вирусные химеры, не контролируемые вакцинацией. С таким явлением столкнулись исследователи Icahn School of Medicine at Mount Sinai (New York, NY), создавшие на основе адаптированного к мышам SARS-CoV Urbani и S-белка вируса WIV1-CoV китайских подковоносов химерный вирус WIV1-MA15, у которого S-белок SARS-CoV был заменен на аналогичный из WIV1-CoV. Оказалось, что вакцинация двумя разными инактивированными вакцинами на основе SARS-CoV не смогла обеспечить защиту иммунизированных мышей от WIV1-MA15 [27].

Биологические свойства искусственных SARS-CoV-2. Для платформ обратной генетики коронавирусов получение SARS-CoV-2 – не более, чем частный случай. Судя по заявлениям авторов опубликованных работ, обратные генетические системы, обеспечивающие быстрый синтез инфекционных штаммов SARS-CoV-2 дикого типа, его мутантных и репортерных штаммов, разрабатываются исключительно для изучения патогенеза вирусной инфекции, механизмов передачи, разработки методов терапии и создания вакцин [5, 6]. Используя такой клон, можно оценить эффект генетических изменений вируса, удалив определенные последовательности из SARS-CoV-2 и изучив их влияние на репликацию вируса, процессинг S-белка, его иммуногенные и токсические свойства. Рекомбинантные SARS-CoV-2 (rSARS-CoV-2) обычно сравнивают с их природными изолятами по всей линейке маркеров, используемых для характеристики вируса. Клоны синтетических SARS-CoV-2 сохраняли стабильность на уровне исходных штаммов при 15–17-кратном пассировании в культурах клеток при сохранении геномов [4]. Чтобы дополнительно охарактеризовать генетическую идентичность rSARS-CoV-2 исходному штамму, используют секвенирование и рестрикционный анализ. Кинетика роста, пиковые титры, цитопатический эффект обычно аналогичны исходному штамму, выход вируса трансфицированными клетками мог составлять от $3,4 \times 10^5$ БОЕ/мл [7] до $2,9 \times 10^6$ БОЕ/мл вируса [5]. Восстановление rSARS-CoV-2 также подтверждалось обнаружением вирусного антигена в клетках Vero E6, инфицированных супернатантами, собранных ранее из культур клеток Vero E6, трансфицированных rSARS-CoV-2 [7].

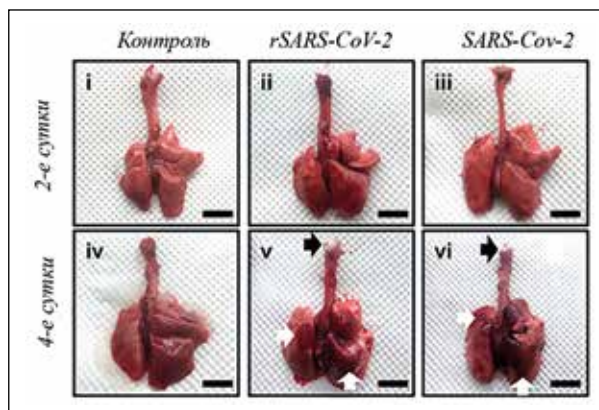


Рисунок 7 – Сравнение поражающей способности рекомбинантного и природного SARS-CoV-2. У животных, инфицированных rSARS-CoV-2 (ii) и SARS-CoV-2 (iii), на 2-е сут после инфицирования в легких наблюдалась умеренная мультифокальная гиперемия и уплотнение. Грубые патологические поражения в легких были выражены на 4-е сут после инфицирования, с тяжелым мультифокальным или локально обширным застоем и консолидацией (белые стрелки) на 40–50% поверхностей легких (v и vi). Эти поражения были широко распространены, охватывая как правую (краниальную, медиальную и каудальную доли), так и левую долю легких. В частности, наличие пенистого экссудата (черные стрелки) в трахее хомяков, инфицированных rSARS-CoV-2 или SARS-CoV-2, на 4-е сут постинфекции указывает на продолжающуюся бронхопневмонию. Значительных различий в патологических поражениях легких и титрах вирусов в оба дня после инфицирования между животными, инфицированными rSARS-CoV-2 или SARS-CoV-2, не наблюдалось [7]

Для сравнительных экспериментов по изучению свойств генетически измененных и природных вариантов rSARS-CoV-2 в условиях *in vivo* в настоящее время используют золотистых сирийских хомяков (*Mesocricetus auratus*) [28]. Ch. Ye с соавт. [7] для подтверждения того, что rSARS-CoV-2 проявляет ту же способность к репликации, вирулентность и патогенность, что и естественный изолят SARS-CoV-2, инфицировали обоими штаммами золотых сирийских хомяков интраназально в дозе 2×10^4 БОЕ. На 2-е и 4-е сут после инфицирования они извлекли верхние и нижние дыхательные пути у инфицированных животных, а также у контрольной группы животных и оценили общие патологические изменения

ETH Zurich, Zurich (Швейцария); Department of Cancer Immunology and AIDS, Dana-Farber Cancer Institute (США); Department of Medicine, Harvard Medical School, Boston Massachusetts (США); Key Laboratory of Special Pathogens and Biosafety, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences (Юхань, КНР). Клетки Vero E6, использованные для конструирования химерного вируса SHC014-CoV, получены из USAMRIID (U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases, Форт Детрик, штат Мэриленд, США). В конце списка авторов – Zhengli-Li Shi и Ralph S. Baric – основатели китайской и американской школ по созданию коронавирусных химер.

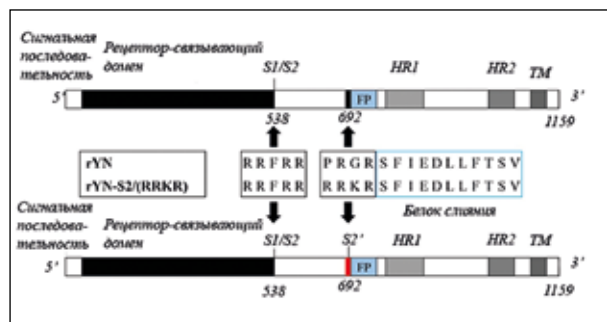


Рисунок 8 – Получение синтетического вируса бронхита кур rYN-S2/RRKR. Показано схематическое изображение S-белка. S-белок – слитый белок, опосредующий прикрепление к рецептору хозяина. Обычно он расщепляется фуриноподобной протеазой клетки-хозяина на два отдельных полипептида (субъединицы): S1 (слева) и S2 (справа). S1 – рецептор-связывающий домен белка S. S2-субъединица инициирует проникновение коронавируса в клетку. Она включает белок слияния (FP), центральную спираль (CH), связывающий домен (CD), домен гептадного повтора (HR1/2). Опосредует интеграцию между вирусной мембраной и мембраной клетки-хозяина. После связывания S-белка с рецептором он подвергается дальнейшим конформационным изменениям, позволяя протеазам клетки последовательно расщеплять его на двух сайтах: сначала на границе S1/S2 (т.е. на сайте S1/S2 – показано стрелками), что приводит к отщеплению S1 от S2 и его проникновению в кровь. В сайте S2' молекулярного клона штамма IBV-YN rYN-S2/RRKR последовательность PTKR (пролин–треонин–лизин–аргинин), расположенная перед FP, заменена на последовательность для расщепления фурином, состоящей также из четырех аминокислот – RRKR (аргинин–аргинин–лизин–аргинин). Штамм IBV-YN представляет собой инфекционный молекулярный клон штамма IBV-YN (номер доступа в GenBank: JF893452), является родительским по отношению к rYN-S2/RRKR, используется для контроля. FP – белок слияния S2; HR1/2 – гептадные повторы, TM – трансмембранный домен S2 [32]

(легкие) и степень вирусной инфекции (верхние дыхательные пути и легкие) – рисунок 7.

Полученные Ch. Ye с соавт. [7] результаты экспериментов по интраназальному заражению хомяков показали невозможность различить по клинике и патоморфологии поражения, вызванные природными изолятами SARS-CoV-2 и его синтетическими копиями.

Создание отслеживаемых штаммов вируса SARS-CoV-2. Такие штаммы создаются путем включения в рамку вспомогательного белка ORF7a вируса генной кассеты с геном-маркером.

Генная кассета обеспечивает гену маркера эффективную экспрессию при отсутствии вредного воздействия на реплицирующийся вирус. Наибольшим преимуществом у исследователей пользуются флуоресцентные и биoluminesцентные маркеры. Молекулярная масса используемых в настоящее время маркерных белков находится в пределах 26,7–19,0 кДа. Как правило, сконструированные методами обратной генетики отслеживаемые штаммы SARS-CoV-2 по своим культуральным свойствам не отличаются от природных изолятов [4–8, 29]. Используя нано-люциферазу в качестве маркера репликации вируса, A. Pickard с соавт. [29] идентифицировали 35 препаратов, подавляющих репликацию SARS-CoV-2 в клетках Vero и гепатоцитах человека (амодиаксин, атоваквон, бедаквиллин, эбастин, LY2835219, манидипин, панобинолат, витамин D3 и др.). Таким образом, данное направление конструирования синтетических SARS-CoV-2 перспективно для ускоренного отбора лекарственных средств, обладающих терапевтическим действием при COVID-19. Сам способ скрининга образцов с нужными свойствами по яркости свечения маркера легко автоматизировать.

Эксперименты с синтетическим коронавирусом сельскохозяйственных животных. В последние годы в конструирование коронавирусных химер стали вовлекаться коронавирусы сельскохозяйственных животных. Результаты отдельных экспериментов позволили не только показать возможность повышения вирулентности синтетических коронавирусов, но и обнаружить изменения в патогенезе вызванной ими болезни. Например, введением фуринового сайта в S-белок вируса бронхита кур (infectious bronchitis virus, IBV)²⁸, вызывающего у молодняка поражение органов дыхания, репродуктивных органов и нефрозонефритный синдром, была переключена его тропность с клеток дыхательных путей и мочеполовой системы на клетки ЦНС. Как это сделано, показано на рисунке 8.

Синтетический вирус rYN-S2/RRKR оказался более фатальным для куриных яиц с 10-суточным эмбрионом по сравнению с его родительским штаммом rYN. Инокуляция rYN-S2/RRKR приводила к гибели всех зародышевых яиц в течение 36 ч, тогда как для такого же результата штамму rYN требовалось более 96 ч. Кроме того, 50 % инфекционная доза для эмбриона (англ. embryo infectious dose, EID₅₀) rYN-S2/RRKR в яйцах была примерно в десять раз меньше, чем у rYN. При оценке патогенности rYN-S2/RRKR уставлено, что летальные ис-

²⁸ Относится к гамма-коронавирусам (γ-CoV).

Таблица 1 – Роль мутаций в неструктурных и вспомогательных белках SARS-CoV-2 в патогенезе и исходе COVID-19*

Тип белка	Мутация	Белок	Влияние на течение болезни
Неструктурный	L37F	NSP6	Легкое течение болезни
	F308Y	NSP4	То же
	A97V, P323L	NSP12	Тяжелое течение болезни
	S1197R, T1198K	NSP3	То же
	L71F	NSP7	Летальный исход
Вспомогательный	L84S	ORF8	Легкое течение болезни
	G196V	ORF3a	То же
	I33T	ORF6	Тяжелое течение болезни
	Q57H, G251V	ORF3a	То же
	S253P	ORF3a	Летальный исход

* По работе А. Nagy с соавт. [33].

ходы при инокуляции rYN у цыплят достигали 10 %, клиническая картина была типичной для бронхита кур; в то время как у цыплят в группе, инокулированной rYN-S2/RRKR, появились неврологические признаки, такие как тремор и паралич. Ранее о них никогда не сообщалось. Летальность зараженных цыплят составила 90 %. У погибших после заражения rYN цыплят были обнаружены явные поражения дыхательной и мочевыводящей систем, включая слизь и точечное кровоизлияние в гортань, значительные отложения уратов в гортани, набухание мочеточника и почек. Цыплята, зараженные штаммом rYN-S2/RRKR, имели слизь и точечные кровоизлияния в гортани и не имели явных повреждений в почках. В образцах головного мозга в группах rYN и отрицательном контроле поражений мозга не обнаружено. В группе rYN-S2/RRKR наблюдались поражения ЦНС: значительная гиперплазия микроглии, образование микроглиальных узелков и периваскулярные воспалительные инфильтраты²⁹ [32].

Данный пример показывает последствия изменения всего двух аминокислот в сайте расщепления протеазой фурином. В результате произошло настолько значительное увеличение вирулентности IBV, изменение патогенеза и симптоматики бронхита кур, что эту болезнь можно было бы принять за ранее неизвестную, если не знать генетическую историю вызвавшего ее штамма вируса. Кроме бронхита кур, большой ущерб животноводству приносят: коронавирус крупного рогатого скота (BCoV) – вызывает респираторную инфекцию и диарею у

крупного рогатого скота; вирус трансмиссивного гастроэнтерита (TGEV) и вирус эпидемической диареи свиней (PEDV) – вызывают диарею у свиней; вирус гемагглютинирующего энцефаломиелита (PHEV) – вызывает у свиней рвоту и истощение.

Исчерпание возможностей экспериментов S-белком коронавирусов. Рассматривая достигнутый уровень обратной генетики при конструировании коронавирусов, нельзя не заметить и то, что эксперименты с коронавирусами шипами к началу текущего десятилетия близки к пределу в своем развитии, они стали повторяться³⁰. И тому есть серьезные причины. У каждого типа вирусной архитектуры существуют свои структурные ограничения и предел вариации формы, размера или конфигурации вирусной частицы, которые могут быть реализованы с помощью определенного набора структурных белков и их модификаций. Когда этот допуск превышен, результат конструирования вирусной частицы становится неопределенным, процесс ее сборки начинает делать ошибки и тут уже вирусу не до «межвидового прыжка» при любых шипах. К тому же, все «химеры» создавались по известному шаблону, т.е. по нуклеотидным последовательностям реально существующих вирусов и их отдельных генов, пусть даже принадлежащих разным видам. Их просто меняли местами и подгоняли аминокислотные последовательности шипа под более плотный контакт с рецептором клетки-мишени (замена неполярных аминокислот полярными), увеличивали процессивность шиповидного белка

²⁹ Работа выполнена в Key Laboratory of Animal Epidemiology of the Ministry of Agriculture, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China.

³⁰ См. работы [9, 27].

(т.е. добавляли сайт для расщепления фурином или другой протеазой)³¹. В то же время роль мутаций в неструктурных и вспомогательных белках в патогенезе и исходе COVID-19 изучена меньше, однако даже те ограниченные данные, что имеются, свидетельствуют о том, что она существенна (таблица 1).

Видимо, следующим этапом обратной генетики при конструировании коронавирусов будет поднастройка *неструктурных и вспомогательных белков*, участвующих в проникновении вируса в эндосомы клетки, подавлении интерфероновой активности инфицированной клетки, усилении репликации вируса в конкретных клетках, проникновении в другие среды организма и др. В дальнейшем произойдет переход к полностью синтетическим коронавирусам, когда «шаблоны» и «консенсусное проектирование» для конструирования химер уже не потребуются, а вирус будет конструироваться компьютером с «нуля» с целью

получения новых вакцин и лекарственных препаратов.

Возможность создания вирусов с использованием подходов обратной генетики представляет собой мощный инструмент для ответа на важные вопросы биологии вирусных инфекций. Он позволяет понять механизмы вирусной инфекции, выявить вирусные факторы и факторы хозяина и взаимодействия, которые контролируют проникновение, репликацию, сборку и почкование вирусов в клетках. Кроме того, обратная генетика облегчает создание рекомбинантных вирусов, экспрессирующих репортерные гены, для их использования в клеточных скрининговых анализах или в моделях инфекции в условиях *in vivo* для быстрой и легкой идентификации в условиях профилактических и терапевтических подходов к лечению вирусных инфекций, а также для создания аттенуированных штаммов вирусов для их использования в качестве аттенуированных вакцин.

³¹ Возможность искусственного происхождения SARS-CoV-2 подробно обсуждалась в работе Y. Deigin с соавт. [34]. Как инструмент политического давления на КНР версия искусственного происхождения вируса подробно изложена в книге S. Markson [35].

Вклад автора/ Autor Contribution

Идея и концепция статьи, поиск и анализ литературы, написание статьи, цифровая обработка изображений / Idea and concept of an article, search and analysis of literature, writing an article, digital image processing.

Информация о конфликте интересов

Автор заявляет, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Список источников

1. Yount B., Curtis K., Baric R. Strategy for systematic assembly of large RNA and DNA genomes: transmissible gastroenteritis virus model // J. Virol. 2000. V. 74(22). P. 10600–10611. <https://doi.org/10.1128/JVI.74.22.10600-10611.2000>
2. Yount B., Denison M. Weiss S., Baric R. Systematic assembly of a full-length infectious cDNA of mouse hepatitis virus strain A59 // J. Virol. 2002. V. 76(21). P. 11065–11078. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.21.11065-11078.2002>
3. Ren W., QuX., Li W., Shil Z. et al. Difference in receptor usage between Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) coronavirus and SARS-Like coronavirus of bat origin // J. Virol. 2008. V. 82(4). P. 1899–1907. <https://doi.org/10.1128/JVI.01085-07>
4. Thao T.T.N., Labroussaa F., Thiel V. Rapid reconstruction of SARS-CoV-2 using a synthetic genomics platform // Nature. 2020. V. 582. P. 561–565. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2294-9>
5. Xie X., Muruato A., Lokugamage K.G. et al. An infectious cDNA clone of SARS-CoV-2 // Cell Host Microbe. 2020 May 13. V. 27(5). P. 841–848.e3. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.04.004>
6. Xie X., Lokugamage K.G., Zhang X. et al. Engineering SARS-CoV-2 using a reverse genetic system // Nat. Protoc. 2021. V. 16(3). P. 1761–1784. <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00491-8>
7. Ye Ch., Chiem K., Park J-G et al. Rescue of SARS-CoV-2 from a single bacterial artificial chromosome // mBio. 2020. 11(5): e02168-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.02168-20>
8. Rihn S., Merits A., Bakshi S. et al. A plasmid DNA-launched SARS-CoV-2 reverse genetics system and coronavirus toolkit for COVID-19 research // PLoS

Biol. 2021. V. 19(2). e3001091. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001091>

9. Menachery V.D., Yount B.L., Debbink K. et al. SARS-like cluster of circulating bat coronavirus pose threat for human emergence // *Nat. Med.* 2015. V. 21, № 12. P. 1508–1513. <https://doi.org/10.1038/nm.3985> (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4797993/>)

10. Lakota J. Today's Biothreats – Where the Past Predictions Meet the Future // *Journal of NBC Protection Corps.* 2020. V. 4. No 4. P. 421–440. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-4-421-430>

11. Lakota J. Synthetic Biology – Friend or Foe? What Kind of Threats Should We Expect? // *Journal of NBC Protection Corps.* 2021. V. 5. № 2. P. 103–122. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-2-103-122>

12. Godeke G.-J., de Haan C.A.M., Rossen J.W.A. et al. Assembly of spikes into coronavirus particles is mediated by the carboxy-terminal domain of the spike protein // *J. Virol.* 1999. V. 74. P. 1566–1571. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.3.1566-1571.2000>

13. Opstelten D.-J.E., Raamsman M.J.B., Wolfs K. et al. Envelope glycoprotein interactions in coronavirus assembly // *J. Cell Biol.* 1995. V. 131. P. 339–349. <https://doi.org/10.1083/jcb.131.2.339>

14. Kuo L., Godeke G.-J., Raamsman M.J. et al. Retargeting of coronavirus by substitution of the spike glycoprotein ectodomain: crossing the host cell species barrier // *J. Virol.* 2000. V. 74(3). P. 1393–1406. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.3.1393-1406.2000>

15. Perez D.R., Cockrell A.S., Beall A. et al. Efficient reverse genetic systems for rapid genetic manipulation of emergent and preemergent infectious coronaviruses // *Reverse Genetics of RNA Viruses.* 2017. V. 1602. P. 59–81. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6964-7_5

16. Yount B., Curtis K.M., Fritz E.A. et al. Reverse genetics with a full-length infectious cDNA of severe acute respiratory syndrome coronavirus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100(22). P. 12995–13000. <https://doi.org/10.1073/pnas.1735582100>

17. Kouprina N., Larionov V. Selective isolation of genomic loci from complex genomes by transformation-associated recombination cloning in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Nat. Protoc.* 2008. V. 3(3). P. 371–377. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.5>

18. de Haan C., Li Z., Lintelo E. et al. Murine coronavirus with an extended host range uses heparan sulfate as an entry receptor // *J. Virol.* 2005. V. 79(22). P. 14451–14456. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.22.14451-14456.2005>

19. Follis K.E., York J., Nunberg J.H. Furin cleavage of the SARS coronavirus spike glycoprotein enhances cell–cell fusion but does not affect virion entry // *Virology.* 2006. V. 350(2). P. 358–369. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.02.003>

20. Eckert D.M., Kim P.S. Mechanisms of viral membrane fusion and its inhibition // *Ann. Rev. Biochem.* 2001. V. 70. P. 777–810. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.70.1.777>

21. Watanabe R., Matsuyama S., Shirato K. et al. Entry from the cell surface of severe acute respiratory syndrome coronavirus with cleaved S protein as revealed by pseudotype virus bearing cleaved S protein // *J. Virol.* 2008. V. 82(23). P. 11985–11991. <https://doi.org/10.1128/JVI.01412-08>

22. Rockx B., Sheahan T., Donaldson E. et al. Synthetic reconstruction of zoonotic and early human severe acute respiratory syndrome coronavirus isolates that produce fatal disease in aged mice // *J. Virol.* 2007. V. 81. P. 7410–7423. <https://doi.org/10.1128/JVI.00505-07>

23. Becker M.M., Graham R.L., Donaldson F. et al. Synthetic recombinant bat SARS-like coronavirus is infectious in cultured cells and in mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105(50). P. 19944–19949. <https://doi.org/10.1073/pnas.0808116105>

24. Sheahan T., Rockx B., Donaldson E. et al. Mechanisms of zoonotic severe acute respiratory syndrome coronavirus host range expansion in human airway epithelium // *J. Virol.* 2008. V. 82. P. 2274–2285. <https://doi.org/10.1128/JVI.02041-07>

25. Bolles M., Deming D., Long K. et al. A double-inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine provides incomplete protection in mice and induces increased eosinophilic proinflammatory pulmonary response upon challenge // *J. Virol.* 2011. V. 85. P. 12201–12215. <https://doi.org/10.1128/JVI.06048-11>

26. Li F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins // *Ann. Rev. Virol.* 2016. V. 29. P. 237–261. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042301>

27. Menachery V., Yount B., Sims A. et al. SARS-like WIV1-CoV poised for human emergence // *PNAS.* 2016. V. 113 (11). P. 3048–3053. <https://doi.org/10.1073/pnas.1517719113>

28. Sia S.F., Yan L.-M., Chin A.W.H. et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters // *Nature.* 2020. V. 583. P. 834–838. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2342-5>

29. Pickard A., Calverley B., Chang J. et al. Discovery of re-purposed drugs that slow SARS-CoV-2 replication in human cells // *PLoS Pathog.* 2021. V. 17(9). e1009840. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009840>

30. Medical aspects of chemical and biological warfare / Ed. Sidell F.R., Tafuqi E.T., Franz D.R. Washington. 1997.

31. Jackson P.J., Ramsay A.J., Christensen C.D. et al. Expression of mouse interleukin-4 by a recombinant ectromelia virus suppresses cytolytic lymphocyte responses and overcomes genetic resistance to mousepox // *J. Virol.* 2001. V. 75(3). P. 1205–1210. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.3.1205-1210.2001>

32. Cheng J., Zhao Y., Xu G. et al. The S2 subunit of QX-type infectious bronchitis coronavirus spike protein is an essential determinant of neurotropism // *Viruses.* 2019. V. 11(10). 972. <https://doi.org/10.3390/v11100972>

33. Nagy A., Pongor S., Gyorffy B. Different mutations in SARS-CoV-2 associate with severe

and mild outcome // Int. J. Antimicrob. Agents. 2021. V. 57. P. 106272. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106272>

34. Segreto R., Deigin Y., McCairn K., Sousa A. et al. Should we discount the laboratory origin of COVID-19?

// Environ. Chem. Lett. 2021. Mar 25. P. 1–15. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01211-0>

35. Markson S. What really happened in Wuhan. Harper Collins Publishers Australia Pty Limited. ISBN 978 1 4607 6092 5. 2021.

Об авторе

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13.

Супотницкий Михаил Васильевич. Главный специалист, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

Контактная информация для всех авторов: 27nc_1@mil.ru

Контактное лицо: Супотницкий Михаил Васильевич; 27nc_1@mil.ru

Modern Approaches to Molecular Genetics of Viruses in the Study of the Members of the Family Coronaviridae

M.V. Supotnitskiy

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation

Received 1 September 2021. Accepted 23 September 2021.

The existence of certain suspicions about the artificial origin of the COVID-19 pandemic and about the possible use of reverse genetics technology to create the SARS-CoV-2 virus require an understanding of its capabilities in the design of new viruses. The *aim of this work* is to show how the use of reverse genetics allows the design of previously non-existent coronaviruses, technologies and the main achievements in their creation. Only the information in the public domain was used for the preparation of this article. The technology is called «reverse genetics» because when obtaining RNA viruses capable of replication, the process is going not from DNA to RNA, as usual, but on the contrary, from the RNA of the virus to its complementary DNA (cDNA), and from it with the help of T7 RNA polymerase – «back» to the infectious RNA. Since the resulting plus-RNA of the coronavirus genome mimics cellular messenger RNA (mRNA), it is immediately recognized by the cell's translation machine and triggers the formation of its own infectious viral particles. Two systems of reverse genetics have been developed, involving the production of an infectious plusRNA, *in vitro* and *in vivo*. The problem of obtaining a full-length cDNA of the giant genome of coronaviruses is solved by fragmentation and subsequent stitching of fragments using standard molecular biology approaches. The article provides the examples of how this technology makes it possible to obtain synthetic coronaviruses that are indistinguishable from those isolated from nature, to change the range of their hosts, to enhance virulence and resistance to specific antibodies, and to influence the pathogenesis of the disease. The article also shows the prospects for the use of recombinant viruses in cellular screening analyses and infection models *in vivo* for the identification of preventive and therapeutic approaches to the virus disease treatment.

Key words: atypical pneumonia; coronavirus; interspecies transmission; reserve genetics; pandemic; COVID-19; SARS-CoV-2

For citation: Supotnitskiy M.V. Modern Approaches to Molecular Genetics of Viruses in the Study of the Members of the Family Coronaviridae // Journal of NBC Protection Corps. 2021. V. 5. № 3. P. 217–235. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-3-217-235>



Conflict of interest statement

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

References

See P. 233–234.

Author

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

Mikhail Vasilyevich Supotnitskiy. Senior Researcher. Chief Specialist. Candidate of Biological Sciences.

Contact information for all authors: 27nc_1@mil.ru

Contact person: Supotnitskiy Mikhail Vasilyevich; 27nc_1@mil.ru

Современные подходы к решению задач по подготовке проб к анализу методом полимеразной цепной реакции

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

УДК 57.088.2

<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-3-236-246>

М.С. Тихвинский, А.А. Воробьев, Я.А. Кибирев,

Г.С. Усенко, А.И. Козлов, С.Г. Исупов

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения
«48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны
Российской Федерации (г. Киров), 610000, Российская Федерация, г. Киров,
Октябрьский проспект, д. 119

Поступила 03.08.2020 г. Принята к публикации 23.09.2021 г.

Чувствительность, специфичность и воспроизводимость молекулярно-генетических методов анализа во многом зависят от качества предварительной подготовки анализируемых образцов. В ходе пробоподготовки решаются задачи обеззараживания патогенного материала, лизирования клеточных мембран, удаления соединений, и примесей ингибирующих полимеразную цепную реакцию (ПЦР), а также концентрирования нуклеиновых кислот. Цель работы – выбор современных подходов к подготовке проб к анализу методом ПЦР. Среди многообразия различных способов подготовки проб наибольшее распространение получили методы, основанные на химическом лизисе клеточных мембран с применением хаотропных соединений, с последующей очисткой нуклеиновых кислот твердофазной экстракцией с применением магнитных частиц. Этот подход реализован как в коммерческих наборах реагентов для ручной пробоподготовки, так и в различных автоматизированных системах для выделения нуклеиновых кислот. Анализ серийно выпускаемых станций для выделения нуклеиновых кислот, показал, что их технические характеристики схожи: продолжительность одного цикла выделения 40–90 мин; Объем анализируемых проб – от 0,1 до 2,0 мл; количество одновременно обрабатываемых проб max – 96, min – 8. Метод выделения нуклеиновой кислоты – магнитные частицы. Основные различия заключаются по виду анализируемых образцов, и технологий лизиса исследуемого материала и экстракции ДНК. Наш опыт применения содержащих магнитные частицы наборов для выделения нуклеиновых кислот, как в стационарных лабораториях, так и в полевых условиях, в частности, при эксплуатации многофункционального мобильного модульного комплекса «Сыч», подтверждает эффективность и надежность этой технологии. Дальнейшее развитие и совершенствование аппаратного обеспечения таких работ будет, очевидно, направлено на миниатюризацию оборудования, разработку полевых портативных автоматических станций выделения нуклеиновых кислот, а также интеграцию процесса подготовки проб и их анализа методом ПЦР в одно устройство.

Ключевые слова: автоматизированные системы; идентификация; комплекс «Сыч», лизис; нуклеиновые кислоты; патогены; подготовка проб; полимеразная цепная реакция; экстракция.

Библиографическое описание: Тихвинский М.С., Воробьев А.А., Кибирев Я.А., Усенко Г.С., Козлов А.И., Исупов С.Г. Современные подходы к решению задач по подготовке проб к анализу методом полимеразной цепной реакции // Вестник войск РХБ защиты. 2021. Т. 5. № 3. С. 236–246. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-3-236-246>

За последние годы идентификация патогенов с использованием полимеразной цепной реакции с регистрацией в режиме реального времени (ПЦР-РВ) стала общепризнанным «золотым стандартом» среди многочисленных методов анализа [1–4]. В немалой степени это-

му способствовала высокая чувствительность ПЦР: теоретически, для получения положительного результата достаточно, чтобы в реакционную смесь попал хотя бы один фрагмент молекулы нуклеиновой кислоты, содержащий последовательность, специфичную для иско-

мого возбудителя. Для большинства серийно выпускаемых ПЦР-тест-систем чувствительность анализа, как правило, составляет 100-1000 ген-эквивалентов в 1 мл, что значительно превосходит показатели диагностических наборов, основанных на других методах. Но такая высокая чувствительность метода может быть достигнута только при анализе высокоочищенных препаратов нуклеиновой кислоты. В то же время большая часть образцов, исследуемых в ПЦР специалистами подразделений войск РХБ защиты, представляет собой пробы сложного компонентного состава, содержащие значительное количество мешающих анализу примесей (вода, почва, смывы с поверхностей различных объектов и т.п.). Более того, даже чистые культуры возбудителей инфекционных заболеваний не пригодны для непосредственного анализа: необходимо разрушить все мембранные структуры клеток, инактивировать внутриклеточные нуклеазы, удалить ингибирующие полимеразу компоненты питательной среды и т.д. [5, 6].

Соответственно, обязательным предварительным этапом при постановке ПЦР, от которого в значительной степени зависит результат исследований, является пробоподготовка, основными задачами которой являются обеззараживание исследуемого материала, лизирование мембранных структур, удаление «балластных» соединений (белки, жиры, углеводы, органические и неорганические вещества) и концентрирование пробы.

Цель работы – выбор современных подходы к подготовке проб к анализу методом ПЦР.

Большинство известных протоколов ПЦР имеет определенную стадийность и выполняется в виде ряда последовательных этапов, первым из которых является лизирование мембран бактериальных клеток с высвобождением нуклеиновых кислот. Разрушение мембран обеспечивается за счет химического, физического и/или ферментативного воздействия на исследуемый образец. При этом лизис, помимо высвобождения нуклеиновых кислот, способствует также и обеззараживанию пробы [7].

Наиболее распространенными в настоящее время являются методы химического лизиса, основанные на применении различных поверхностно-активных веществ и хаотропных соединений, обеспечивающих как разрушение мембран, так и инактивацию ферментов с целью максимального сохранения нуклеиновых кислот в пробе. Одна из первых описанных методик разрушения клеток – выделение «нуклеина» Фридрихом Мишером в 1869 г. щелочным

лизисом – относится именно к химической деструкции мембран [8].

К числу наиболее часто применяемых на первом этапе подготовки проб к анализу химических веществ, относится гуанидина тиоцианат. Воздействие данного соединения на бактериальные клетки приводит к быстрому лизированию клеточных мембранных структур и денатурации клеточных белков, включая эндонуклеазы. Высокая эффективность применения данного соединения при проведении пробоподготовки нашла свое отражение и в нормативных документах: для обеззараживания большинства видов проб, содержащих микроорганизмы I-II групп патогенности, действующие Санитарные правила требуют применения лизирующих растворов, содержащих именно это соединение¹.

Физические методы лизиса включают в себя механическое разрушение клеток (перетирание в ступке, измельчение на специальных мельницах, компрессионная гомогенизация и т.д.), ультразвуковую дезинтеграцию, многократные циклы замораживания-оттаивания и некоторые другие способы [9]. Необходимо отметить, что данный способ лизирования редко применяется самостоятельно в силу ряда недостатков. Так, например, механическое воздействие практически не влияет на активность эндонуклеаз, которые приводят к быстрой деградации нуклеиновых кислот. В то же время, как дополнение к химическому методу, механическая обработка значительно повышает эффективность высвобождения нуклеиновых кислот, особенно при анализе проб, содержащих крупные нерастворимые включения (образцы почвы, продукты питания, биоптаты и т.п.).

Ферментативный лизис использует лизоцим, в отношении которого показана высокая эффективность разрушения бактериальных клеточных стенок. В силу ряда причин (меньшая в сравнении с другими методами эффективность, дороговизна) область применения ферментативного лизиса ограничена преимущественно научно-исследовательской работой.

На следующем этапе подготовки проб к анализу молекулярно-генетическими методами осуществляют экстракцию нуклеиновых кислот из полученного лизата и максимально возможное удаление ингибирующих ПЦР примесей. При этом такие ингибиторы могут быть как из состава анализируемого образца (органические соединения большинства известных классов), так и входить в состав реагентов, используемых при лизисе и выделении (этанол, изопропанол и другие спирты, фенол, этилен-

¹ Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

диаминтетрауксусная кислота, додецилсульфат натрия и другие поверхностно-активные соединения и т.д.). Влияние на полимеразную цепную реакцию способны оказывать также и неорганические соединения, попавшие реакционную смесь, даже такие «безобидные», как, например, соли натрия, калия или магния [10-13].

Основные методы очистки нуклеиновых кислот по своим физическим и биохимическим особенностям подразделяются на две большие группы: жидкофазные и твердофазные [8, 14]².

Одним из первых и, вероятно, наиболее распространенных вариантов очистки нуклеиновых кислот в системах «жидкость-жидкость» является классический способ фенол-хлороформной экстракции. При объединении лизата со смесью фенола и хлороформа образуется нуклеиновые кислоты концентрируются в водной фазе, а большая часть «балластных» компонентов – белки, липиды, углеводы, а также клеточный дебрис – переходят в органическую фазу. Позднее были разработаны и другие варианты и модификации метода жидко-жидкостной экстракции, в частности, для снижения пенообразования и улучшения разделения водной и органической фаз было предложено включать в состав экстрагирующего реагента изоамиловый спирт. Положительный эффект был показан и при использовании хаотропных агентов, например, тиоцианата гуанидина [15–18].

В то же время, необходимо отметить, что, несмотря на кажущуюся простоту, жидкофазная экстракция является достаточно трудоемким и времязатратным методом, требовательным к квалификации персонала для получения воспроизводимых результатов, а большинство используемых реактивы относятся к высокотоксичным. В связи с этим, в последние годы такие способы выделения нуклеиновых кислот вне научных лабораторий используются все реже, уступая позиции твердофазной экстракции.

Данный метод основан на связывании растворенных аналитов с твердой фазой за счет различных видов межмолекулярного взаимодействия (водородные связи с гидрофильной матрицей, ионные, аффинные), с последующим удалением (отмывкой) остальных компонентов пробы [9, 16]. Наборы реагентов, реализующих твердофазный принцип экстракции, выпускаются в различных вариантах, таких как шприцевые фильтры, картриджи, колонки, планшеты с сорбентом, а также в виде суспензии частиц, предполагающей самостоятельный выбор емкости с учетом имеющегося оборудования и масштабов исследований.

Наибольшее распространение получили твердые фазы, представляющие собой материалы на основе диоксида кремния, такие как стеклянные (кварцевые) шарики, диатомовая земля, измельченный силикагель, стекловолокно и т.д.; количество коммерчески доступных наборов с сорбентом на основе диоксида кремния исчисляется сотнями [19].

Такая популярность твердофазного метода связана с тем, что отрицательно заряженные в водных растворах молекулы нуклеиновых кислот, как ДНК, так и РНК, обладают способностью обратимо связываться с положительно заряженной поверхностью таких матриц. Для облегчения связывания в состав используемых для экстракции реагентов включают нарушающие ассоциацию нуклеиновых кислот с водой хаотропные соединения (гуанидина тиоцианат, мочевины, иодид натрия и т.д.). Специфичность и сила связывания обеспечивают получение препаратов нуклеиновых кислот очень высокой чистоты.

Наиболее распространенным форматом наборов для твердофазной экстракции на таких матрицах был колоночный вариант. Примечательно, за последние несколько лет он был практически полностью вытеснен из лабораторной практики в пользу магнитных частиц, что стало результатом освоения их массового производства и значительного снижения себестоимости. Еще одним достоинством наборов для «магнитной экстракции» стало меньшее число операций и используемых компонентов, а также минимальные требования к приборному оснащению [20].

В настоящее время серийно выпускаются магнитные частицы не только на основе диоксида кремния. В качестве материала может использоваться также целлюлоза, полистирол, окись железа с модифицированной поверхностью, а также различные полимерные соединения, в том числе с иммобилизованными аффинными лигандами [16, 19, 21].

Большинство наборов для экстракции нуклеиновых кислот с использованием магнитных частиц предполагают достаточно небольшое число относительно простых операций. После предварительного обеззараживания и лизиса пробы к ней добавляется суспензия магнитных частиц, связывающих нуклеиновые кислоты. Далее с помощью постоянного магнита, который прижимают к внешней стороне пробирок с пробой, удерживают частицы на стенке, после чего обычной пипеткой удаляют из пробирок содержащий «балластные» веще-

² В рамках данной статьи не рассматриваются некоторые способы выделения и очистки нуклеиновых кислот, например, центрифугирование в градиенте плотности, имеющие в настоящее время сугубо научное и/или историческое значение.

ства лизат и выполняют необходимые промывки и элюирование. Общая продолжительность всех стадий данного этапа обычно составляет всего несколько десятков минут [22–24].

Более того, некоторые варианты магнитных частиц, например, набор «Dynabeads DNA DIRECT», выпускаемый компанией «Invitrogen», не требует обязательного этапа элюции перед проведением ПЦР, что позволило сократить продолжительность этапа экстракции до 10 мин³.

Вышеописанные методы предполагают сорбцию нуклеиновых кислот и удаление примесей. В то же время известны подходы, при которых целевой анализ остается в свободной растворенной форме. К числу таких сорбентов относятся, в частности, хелатообразующие смолы, например «Chelex 100» производства компании «Bio-Rad Laboratories, Inc.». Этот сорбент, представляющий собой частицы сополимера стирола и дивинилбензола, содержащие иминодиацетатные группы, обладает способностью связывать ионы магния и кальция, что приводит к инактивации эндонуклеаз. Смола добавляется непосредственно к анализируемой пробе, после лизирования кипячением большинство «балластных» примесей сорбируется на поверхности частиц; нуклеиновые кислоты остаются в супернатанте и могут быть отделены простым центрифугированием [24, 26].

Многие методы, описанные выше, нашли свою реализацию в составе полуавтоматических и автоматических устройств для выделения и очистки нуклеиновых кислот. Возможность минимизировать участие оператора в процессе подготовки проб к анализу и, соответственно, уменьшить риск ошибок, связанных с «человеческим фактором», стала основной причиной того, что в последние годы наметилась устойчивая тенденция к расширению номенклатуры такого оборудования.

К настоящему времени на рынке представлены большое количество серийно выпускаемых станций для выделения нуклеиновых кислот, различающихся по виду анализируемых образцов, а также применяемым методикам лизиса и экстракции. Существуют решения с различным уровнем участия оператора, от полуавтоматических систем до полных автоматов и роботизированных установок [23, 24, 27]. Описание наиболее интересных образцов представлено далее.

Японская компания «Kurabo» выпускает серию приборов для очистки нуклеиновых кислот, различающихся как производительностью,



Рисунок 1 – Система для выделения нуклеиновых кислот «QuickGene-810»



Рисунок 1 – Прибор для автоматического выделения нуклеиновых кислот «QIACube»¹

¹ URL: <https://www.helicon.ru/upload/iblock/1a8/1a89d6de609085ef1761268960a9e059.jpg> (дата обращения: 08.07.2021)

так и степенью автоматизации⁴. Общим для всех установок является использование разработанных компанией картриджей с ультратонкой полимерной гидрофильной мембраной, селективно сорбирующей ДНК и РНК. Одна из выпускаемых моделей, «QuickGene-810» (рисунок 1), способна в автоматическом режиме произвести очистку до 8 образцов в течение 15 мин (рисунок 1).

Анализ образцов с использованием станций серии «QuickGene» требует предварительной ручной гомогенизации и лизирования. В отличие от них, установки серии «Gene Prep Star», выпускаемые этим же производителем, характеризуются большим уровнем автоматизации и производительности (старшая модель, «Gene Prep Star PI-1200A», способна обрабатывать до 384 образцов за один запуск).

Фирма «QIAGEN» предлагает несколько станций для автоматического выделения нук-

³ Dynabeads™ DNA DIRECT™ Universal Kit URL: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/63006#/63006> (дата обращения: 05.07.2020).

⁴ Nucleic acid extraction system URL: <https://www.kurabo.co.jp/bio/English/product/products.php?M=L&A=P&CID=1> (дата обращения: 05.07.2020).



Рисунок 3 – Установка «EZ1 Advanced XL»



Рисунок 4 – Автоматизированная станция выделения нуклеиновых кислот «QIAAsymphony»¹

¹ URL: <https://www.helicon.ru/upload/iblock/0bc/0bc35fb2b9aceb390c18c87df3725ce2.jpg> (дата обращения: 05.07.2021)



Рисунок 5 – Система для выделения нуклеиновых кислот «HK Chemagic MSM I Instrument»¹

¹ PerkinElmer URL: <https://chemagen.com/wp-content/uploads/2018/10/chemagic-MSM-I-content01-650x420.jpg> (дата обращения: 05.07.2020)

кислот; примечательно, что разные приборы используют различные методические подходы. Так, в установке «QIAcube», представленной на рисунке 2, применяются специализированные колонки с сорбирующей мембраной на основе кремния. Лизирование образцов осу-

ществляется химическим методом. Производительность станции составляет до 12 образцов, продолжительность обработки – 45–60 минут в зависимости от протокола⁵.

Другой подход – использование магнитных частиц – применяется в таких выпускаемых компанией автоматических станциях, как «EZ1 Advanced XL» (рисунок 3) и «QIAAsymphony» (рисунок 4).

Производительность «EZ1 Advanced XL» достигает 14 образцов в течение 20 мин. Система «QIAAsymphony» рассчитана на большее количество анализируемых проб – до 96 образцов, при этом разделение на 4 отдельных блока позволяет использовать различные протоколы выделения одновременно. Особенности модульной конструкции «QIAAsymphony» позволяют дооснастить систему блоком, обеспечивающим автоматическую передачу очищенных нуклеиновых кислот для анализа на совместимом амплификаторе. Оба прибора оснащены программным обеспечением с установленными протоколами выделения и используют предварительно заполненные герметичные картриджи с реагентами, что максимально снижает риски кросс-контаминации и ошибок оператора.

На использовании магнитных частиц основана работа и автоматизированной системы «Chemagic MSM I Instrument» производства «PerkinElmer» (рисунок 5).

Компания утверждает, что созданные по собственной технологии «M-PVA» микросферы, содержащие мелкие магнитные частицы в оболочке на основе поливинилового спирта, модифицированной аффинными группами, обладают значительно большей силой и специфичностью связывания с нуклеиновыми кислотами, чем аналогичные решения других производителей⁶.

Процесс выделения нуклеиновых кислот с использованием системы «Chemagic MSM I Instrument» достаточно стандартен и включает стадии, аналогичные таковым подобных установок других производителей. На начальном этапе происходит химическое лизирование образцов, нуклеиновые кислоты сорбируются на магнитных частицах, которые, удерживаясь электромагнитом в пробирке, несколько раз отмываются от примесей, после чего выполняется элюция нуклеиновых кислот с сорбента.

В зависимости от варианта установленного диспенсера, производительность прибора может варьировать, достигая 96 одновременно анализируемых образцов. Время анализа, в

⁵ QIAGEN. URL: <http://www.qiagen.com/us/instruments-and-automation/nucleic-acid-purification/sample-preparation/qiacube-connect/#orderinginformation> (дата обращения: 5.07.2020).

⁶ PerkinElmer URL: <http://www.chemagen.com/products/automated-tools-for-nucleic-acid-isolation/chemagen-technology/> (дата обращения: 05.07.2020).



Рисунок 6 – Оборудование серии «GeneXpert»¹

¹ URL: https://www.cepheid.com/Site%20Images/Systems/product_GXsuite%20%28%29.png (дата обращения: 05.07.2020)

зависимости от объема обрабатываемых проб, составляет от 15 до 55 мин.

Описанные выше системы обеспечивают высокий уровень автоматизации процесса выделения нуклеиновых кислот из образцов различного происхождения. По своей эффективности, в частности, по степени очистки, такие установки примерно соответствуют традиционным ручным методам выделения, однако значительно упрощают работу персонала, исключают возможность случайных ошибок и кросс-контаминации [28, 29]. За исключением старшей модели системы «QIAasymphony», эксплуатация такого оборудования предусматривает участие персонала для постановки ПЦР.

В то же время существует оборудование, изначально спроектированное для полного цикла исследований без привлечения оператора. К его числу, в частности, относятся выпускаемая американской компанией «Cepheid» приборы серии «GeneXpert», успешно применяемые в диагностике ряда инфекционных заболеваний (рисунок 6) [30, 31].

Для своей работы данная система использует одноразовые проприетарные картриджи, которые содержат все необходимые химические реагенты как для подготовки образцов проб, так и для постановки ПЦР. Конструкция картриджей позволяет исключить возможность как контаминации реагентов, так и случайного разбрызгивания содержимого в окружающую среду. Лизис осуществляется ультразвуковым методом. Реакционная смесь перемещается по камерам картриджа, в которых происходят очистка и концентрирование нуклеиновых кислот, с помощью системы микротрубочек и насосов. На завершающем этапе в реакционной камере выполняется ПЦР-РВ. Многоканальная оптика и система светофильтров обеспечивает возможность мультиплексирования. Производительность составляет от 30 минут до 2 часов в зависимости от анализируемой пробы.



Рисунок 7 – Станция «BioFire FilmArray» (8 блоков)¹

¹ URL: https://docs.biofiredx.com/wp-content/uploads/2016/03/FilmArray_8units_.png (дата обращения: 05.07.2020).

Интересные технические решения использованы компанией «bioMérieux» в ее станциях серии «BioFire FilmArray» (рисунок 7).

Вместо картриджей в данной системе используются специальные одноразовые пакеты, состоящие из листов полипропиленовой пленки сложной формы, соединенных друг с другом таким образом, что внутри пакета образуется система каналов и резервуаров для реагентов [32]. Общий вид такого пакета, а также функциональное предназначение его отдельных элементов представлено на рисунке 8.

Непосредственно перед использованием растворяют лиофилизированные реагенты, на-



Рисунок 8 – Общий вид и схема функционального предназначения отдельных элементов реакционного пакета «FilmArray» [40]

Таблица 1 – Характеристики выпускаемых автоматизированных систем выделения

Наименование прибора (фирма-производитель)	Метод выделения нуклеиновой кислоты	Объем анализируемых проб, мл	Количество одновременно обрабатываемых проб	Продолжительность одного цикла выделения, мин
«NucliSENS easyMag» («bioMérieux»)	Магнитные частицы	0,01-1	24	40-60
«MagNA Pure Systems» («Roche»)	Магнитные частицы	0,2-4	8, 32, 96	20-180
«Maxwell» («Promega»)	Магнитные частицы	0,05-0,3	16	30-45
«GenoXtract» («Hain Lifescience»)	Магнитные частицы	0,01-1	12, 96	40-120
«MagCore» («RBC Bioscience»)	Магнитные частицы	0,2-4	16	30-90
«InnuPure» («Analytik Jena»)	Магнитные частицы	До 2	16	40
«QIAcube» («Qiagen»)	Магнитные частицы	0,05-1	12	45-60
EZ1 advanced («Qiagen»)	Магнитные частицы	До 1	14	20
«QIASymphony» («Qiagen»)	Магнитные частицы	0,1-2	96	35-60
«QuickGene» («Kurabo», Япония)	Магнитные частицы	0,2	8	6-20
«KingFisher» («Thermo Scientific»)	Магнитные частицы	0,2-5	24, 96	40-120
«Chemagic MSM I Instrument» («PerkinElmer»)	Магнитные частицы	До 1	1, 2, 4, 8	60

ходящиеся отдельных ячейках пакета. Исследуемый образец смешивают со специальным де-натурирующим буфером, после чего вводится в пакет через отдельный порт. Далее подготовленный пакет загружается в прибор, все последующие операции выполняются в автоматическом режиме.

Все перемещения реакционной смеси по каналам пакета осуществляется за счет воздействия на его гибкие стенки пневматических поршней, которые в определенном порядке оказывают давление на наружную поверхность резервуаров.

В первом резервуаре анализируемый образец подвергается механическому лизису с помощью керамических микрошариков. Далее лизат направляется в следующие резервуары, где происходит выделение нуклеиновых кислот сорбцией на магнитных частицах с последующей отмывкой от примесей, а также ее очистка. На заключительном этапе осуществляется постановка двухстадийной мультиплексной ПЦР-РВ [32].

Представленная система выгодно отличается своей компактностью, возможностью сократить трудоемкость процесса, позволяет исключить ошибки оператора, а благодаря герметичным реакционным пакетам удается значительно снизить риск заражения персонала и контаминации окружающей среды при работе с патогенным материалом.

Основные характеристики основных представленных на рынке систем для автоматизированного выделения нуклеиновых кислот, включая описанные, представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице, характеристики большинства станций для выделения нуклеиновых кислот близки друг к другу, многие используют метод сепарации на магнитных частицах как один из наиболее простых и эффективных. Это подтверждается и имеющимся опытом применения содержащих магнитные частицы наборов для выделения нуклеиновых кислот, как в стационарных лабораториях, так и в полевых условиях, в частности, при эксплуатации многофункционального мобильного модульного комплекса «Сыч».

В то же время, для максимально полной реализации всех возможностей современных молекулярно-генетических методов идентификации патогенных микроорганизмов, по нашему мнению, целесообразно внедрение в практику использование автоматизированных рабочих станций. Это позволит сократить время исследований при сохранении основных аналитических показателей, а также значительно снизить риски поражения персонала и контаминации окружающей среды. Перспективными являются направления миниатюризации используемого оборудования, разработки полевых пор-

тативных автоматических станций выделения нуклеиновых кислот, а также интеграции про-

цесса подготовки проб и их анализа методом ПЦР в одном устройстве.

Благодарности

Авторы выражают свою признательность Владимиру Ефимовичу Курочкину, директору федерального государственного бюджетного учреждения «Институт аналитического приборостроения» Российской Академии наук (ИАП РАН), доктору технических наук, профессору, за предоставленные обзорные материалы в области современных методов и приборов, предназначенных для выделения, очистки и концентрирования нуклеиновых кислот.

Вклад авторов/ Autor Contribution

Все авторы внесли свой вклад в концепцию рукописи, участвовали в обсуждении и написании этой рукописи, одобрили окончательную версию. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи / All authors contributed to the conception of the manuscript, the discussion, and writing of this manuscript, approved the final version. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Список источников

1. Bloomfield M., Balm M., Blackmore T. Molecular testing for viral and bacterial enteric pathogens: gold standard for viruses, but don't let culture go just yet? // Pathology. 2015. V. 47. P. 227-233. <https://doi.org/10.1097/PAT.0000000000000233>
2. Abayasekara L., Perera J., Chandrasekharan V. et al. Detection of bacterial pathogens from clinical specimens using conventional microbial culture and 16S metagenomics: a comparative study // BMC Infect. Dis. 2017. V. 17. P. 631. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2727-8>
3. Murphy J., Bustin S. Reliability of real-time reverse-transcription PCR in clinical diagnostics: gold standard or substandard? // Expert Rev. Mol. Diagn. 2009. V. 9. P. 187-197. <https://doi.org/10.1586/14737159.9.2.187>
4. Киби́рев Я.А., Бурлачу́к С.Е., Грудцы́на А.С. и др. Методы идентификации возбудителей опасных и особо опасных инфекционных заболеваний, основанные на анализе нуклеиновых кислот // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 4. С. 22–35.
5. Kibirev Ya.A., Burlachuk S.E., Grudcina A.S. et al. Methods for identification of causative agents of dangerous and particularly dangerous infections based on the analysis of nucleic acids // Journal of NBC Protection Corps. 2018. V. 2 № 4. P. 22–35. (in Russian).
6. Demeke T., Jenkins R. Influence of DNA extraction methods, PCR inhibitors and quantification methods on real-time PCR assay of biotechnology-derived traits // Anal. Bioanal. Chem. 2010. V. 396. P. 1977-1990. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3150-9>
7. Maja Sidstedt M., Rådström P., Hedman J. PCR inhibition in qPCR, dPCR and MPS—mechanisms and solutions // Anal. Bioanal. Chem. 2020. V. 412. P. 2009–2023. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02490-2>
8. Шапхаев Э.Г., Цыренов В.Ж., Чебунина Е.И. Основы биотехнологии. Издательство ВСГТУ. 2005. 94 с.
9. Shaphaev A.G., Tsirenov V., Chebuniba E.I. Fundamentals of Biotechnology. Publishing office VSGTU. 2005. 94 pp. (in Russian).
10. Wink M. An introduction to molecular biotechnology: molecular fundamentals, methods and application in modern biotechnology. Wiley-VCH. Weinheim. Germany. 2006.
11. Ali N., de Rampazzo R., Costa A. et al. Current nucleic acid extraction methods and their implications to point-of-care diagnostics // BioMed Res. Int. 2017. V. 2017. 9306564. <https://doi.org/10.1155/2017/9306564>
12. Hedman J., Rådström P. Overcoming inhibition in realtime diagnostic PCR // Meth. Mol. Biol. 2013. V. 943. P. 17–48. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-353-4_2
13. Sidstedt M., Hedman J., Romsos E.L. et al. Inhibition mechanisms of hemoglobin, immunoglobulin G, and whole blood in digital and real-time PCR // Anal. Bioanal. Chem. 2018. V. 410. P. 2569–2583. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0931-z>
14. Wilson I. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification // Appl. Environ. Microbiol. 1997. V. 63. P. 3741–3751.
15. Rådström P., Knutsson R., Wolffs P., et al. Pre-PCR processing: Strategies to generate PCR-compatible

samples // Mol. Biotechnol. 2004. V. 26. P. 133–146. <https://doi.org/10.1385/MB:26:2:13>

14. Антонова О.С., Корнева Н.А., Белов Ю.В. и др. Эффективные методы выделения нуклеиновых кислот для проведения анализов в молекулярной биологии (Обзор) // Научное Приборостроение. 2010. Т. 20. № 1. С. 3–9.

Antonova O.S., Korneva N.A., Belov Yu.V. et al. Methods of nucleic acids purification and separation in molecular biology (Review) // Nauchnoe Priborostroyeniye. 2010. V. 20. P. 3–9. (in Russian).

15. Eslami G., Khalatbari-Limaki S., Ehrampoush M.H. et al. Comparison of three different DNA extraction methods for *Linguatula serrata* as a food born pathogen // Iranian J. Parasitol. 2017. V. 12. P. 236–242.

16. Tan S.C., Yip B.C. DNA, RNA, and protein extraction: the past and the present // J. Biomed. Biotechnol. 2009. V. 2009. 574398. <https://doi.org/10.1155/2009/574398>.

17. Oskam C.L., Haile J., McLay E. et al. Fossil avian eggshell preserves ancient DNA // Proc. R. Soc. B. 2010. V. 277. P. 1991–2000. <http://doi.org/10.1098/rspb.2009.2019>

18. Грачев М.А., Кузнецова С.Ю., Щербакowa Т.А. Метод выделения высокоочищенной ДНК для использования в полимеразной цепной реакции // Молекулярная биология. 2006. Т. 40. № 1. С. 180–183.

Grachev M.A., Kuznetsova S.Yu., Sherbakova T.A. A method for the isolation of pure DNA for PCR // Molecular Biology. 2006. V. 40. P. 159–161. (in Russian).

19. Zähringer H. Don't lose the thread. Product survey: Manual DNA extraction kits // Lab Times. 2012. V. 6, P. 52–56. URL: <https://docplayer.net/53735876-Pure-dnadevoid-of-impurities-from.htm>.

20. Doeblner R.W., Erwin B., Hickerson A. et al. Continuous-flow, rapid lysis devices for biodefense nucleic acid diagnostic systems // JALA. 2009. V. 14. P. 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.jala.2009.02.010>

2.1 Chacon-Cortes D., Griffiths L. Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives // J. Biorepository Science for Applied Medicine, 2014. V. 2. P. 1–9. <https://doi.org/10.2147/BSAM.S46573>

22. Archer M. J., Lin B., Wang Z. et al. Magnetic bead-based solid phase for selective extraction of genomic DNA // Anal. Biochem. 2006. V. 355. P. 285–297.

<https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.05.005>

23. Thatcher S.A. DNA/RNA preparation for molecular detection // Clin. Chem. 2015. V. 61. P. 89–99. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.221374>

24. Berensmeier S. Magnetic particles for the separation and purification of nucleic acids // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2006. V. 73. P. 495–504. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0675-0>

25. Phillips K., McCallum N., Welch L. A comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100® and the QIAGEN DNA Investigator Kit // Forensic Sci. Int. Genet. 2012. V. 6. P. 282–285. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.04.018>

26. Schrader C., Schielke A., Ellerbroek L. et al. PCR inhibitors—occurrence, properties and removal // J. App. Microb. 2012. V. 113. P. 1014–1026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x>

27. de Boer R, Peters R, Gierveld S. et al. Improved detection of microbial DNA after bead-beating before DNA isolation // J. Microbiol. Methods. 2010. V. 80. P. 209–211. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.11.009>

28. Verheyen J., Kaiser R., Bozic M. et al. Extraction of viral nucleic acids: comparison of 5 automated nucleic acid extraction platforms // J. Clin. Virol. 2012. V. 54. P. 255–259. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2012.03.008>

29. Shipley M., Koehler J., Kulesh D. et al. Comparison of nucleic acid extraction platforms for detection of select biothreat agents for use in clinical resource limited settings // J. Microbiol. Methods. 2012. V. 91. P. 179–183. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.06.008>

30. Mauk M., Liu C., Sadik M. et al. Microfluidic devices for nucleic acid (NA) isolation, isothermal NA amplification, and real-time detection // Methods Mol. Biol. 2015. V. 1256. P. 15–40. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2172-0_2

31. Saeed M., Ahmad M., Iram S. et al. GeneXpert technology. A breakthrough for the diagnosis of tuberculous pericarditis and pleuritis in less than 2 hours // Saudi Med. J. 2017. V. 38. No. 7. P. 699–705. <https://doi.org/10.15537/smj.2017.7.17694>

32. Poritz M., Blaschke A., Byington C. et al. FilmArray, an automated nested multiplex PCR system for multi-pathogen detection: development and application to respiratory tract infection // PLoS One. 2011. V. 6. e26047. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026047>

Об авторах

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров), 610000, Российская Федерация, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 119.

Тихвинский Михаил Сергеевич. Начальник группы научно-исследовательского отдела, канд. биол. наук.
Воробьев Алексей Анатольевич. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, д-р. биол. наук.

Кибирев Ярослав Александрович. Начальник научно-исследовательского отдела, канд. биол. наук.

Усенко Геннадий Сергеевич. Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Козлов Артем Игоревич. Младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. биол. наук.

Исупов Сергей Геннадьевич. Заместитель начальника научно-исследовательского отдела – начальник группы, канд. мед. наук.

Контактная информация для всех авторов: 23527@mil.ru
Контактное лицо: Тихвинский Михаил Сергеевич; 23527@mil.ru

Current State of Method Development for PCR Sample Preparations

M.S. Tikhvinskiy, A.A. Vorobiov, Ya.A. Kibirev,

G.S. Usenko, A.I. Kozlov, S.G. Isupov

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation (Kirov), Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation

Received 3 August 2021. Accepted 23 September 2021.

The sensitivity, specificity and reproducibility of molecular genetic methods of analysis largely depend on the quality of the preliminary preparation of the analyzed samples. During the sample preparation, the tasks of disinfecting pathogenic material, lysing cell membranes, removing compounds and impurities that inhibit the polymerase chain reaction (PCR), as well as concentrating nucleic acids are solved. *The purpose of this work* is to select modern approaches to sample preparation for the PCR. Among the variety of different methods of sample preparation, the most widespread are the methods based on chemical lysis of cell membranes using chaotropic compounds, followed by purification of nucleic acids by solid-phase extraction using magnetic particles. This approach is implemented both in commercial kits for manual sample preparation and in various automated systems for the isolation of nucleic acids. The analysis of commercially available stations for the isolation of nucleic acids shows that their technical characteristics are similar: the duration of one isolation cycle is 40–90 minutes; the volume of the analyzed samples is from 0.1 to 2.0 ml; the number of simultaneously processed samples max – 96, min – 8. The method of the nucleic acid isolation is the magnetic particles. The main differences are in the type of analyzed samples, and technologies for lysis of the test material and DNA extraction. Our experience in the use of magnetic particle kits for the isolation of nucleic acids, both in stationary and in field laboratories confirms the effectiveness and reliability of this technology. Further development and improvement of the hardware for such work will, obviously, be aimed at miniaturizing the equipment, developing field portable automatic nucleic acid extraction stations, as well as integrating the process of sample preparation and analysis by PCR in one device.

Keywords: *automated systems; identification; lysis; nucleic acids; pathogens; sample preparation; polymerase chain reaction; extraction.*

For citation: Tikhvinskiy M.S., Vorobiov A.A., Kibirev Ya.A., Usenko G.S., Kozlov A.I., Isupov S.G. *Current State of Method Development for PCR Sample Preparations // Journal of NBC Protection Corps.* 2021. V. 5. № 3. P. 236–246. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-3-236-246>

Acknowledgements

The authors would like to express their gratitude to Vladimir Eufimovich Kurochkin, Director of the Federal State Budget Institution – Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences (IAI RAS), Professor, Doctor of Technical Sciences, for providing materials on the methods and devices for PCR sample preparations.

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

See P. 243–244.

Authors

Branch Office of the Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation (Kirov), Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation.

Mikhail Sergeevich Tikhvinskiy. Chief Group of the Scientific and Research Department. Candidate of Biological Sciences.

Aleksey Anatolievich Vorobiov. Leading Researcher of the Scientific and Research Department. Doctor of Biological Sciences.

Yaroslav Aleksandrovich Kibirev. Chief of the Scientific and Research Department. Candidate of Biological Sciences.

Gennadii Sergeevich Usenko. Senior Researcher of the Scientific and Research Department.

Artem Igorevich Kozlov. Junior researcher of the Scientific and Research Department. Candidate of Biological Sciences.

Sergey Gennadevich Isupov. Deputy Chief of the Scientific and Research Department. Candidate of Medical Sciences.

Contact information for all authors: 23527@mil.ru

Contact person: Mikhail Sergeevich Tikhvinskiy; 23527@mil.ru

Технологии химической утилизации имитационных рецептур и компонентов специальных средств на химической основе

М.В. Воробьев¹, А.А. Цветков¹, О.В. Лапшинов²

¹Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» Министерства обороны Российской Федерации, 156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13

Поступила 07.09.2021 г. Принята к публикации 23.09.2021 г.

Существуют проблемы уничтожения учебно-имитационных рецептур и компонентов специальных средств на химической основе и дегазирующих рецептур на основе органических растворителей. Их решение требует поиска экономически выгодных и экологически безопасных решений и подходов к их утилизации, особенно обращая внимание на то, что составные части изделий практически невозможно до конца освободить от токсичных химикатов. В свою очередь необходимо максимально снизить токсичные и неприятно пахнущие выбросы в атмосферу при нейтрализации и уничтожении. *Цель работы* – предложить химические методы нейтрализации и утилизации токсичных веществ и неприятно пахнущих составов (одоранты, малодоранты) при утилизации учебно-имитационных рецептур и специальных средств. Показано, что для нейтрализации составов на основе веществ одорантов целесообразно использовать соединения окислительно-хлорирующего действия, четвертичные аммониевые основания и сокатализатор. Установлена роль каждого из используемых компонентов рецептуры. Гипохлорит натрия является окислителем, «Катамин АБ» – катализатор межфазного переноса, обеспечивающий перенос аниона из водной фазы в органическую, метансульфокислота – сокатализатор, обеспечивающий протекание реакции как в водной, так и в органической фазах. Обоснован оптимальный количественный и качественный состав дегазирующей рецептуры для нейтрализации одорантов. В состав рецептуры должны входить следующие компоненты, выраженные в % масс.: водный раствор гипохлорита натрия (5 %) «Белизна» – 99,0; диметилалкил(C₈-C₁₈)бензиламмония хлорид «Катамин АБ» – 0,5; метансульфокислота – 0,5.

Ключевые слова: гипохлорит натрия; дегазирующая рецептура; малодорант; одорант, катализаторы межфазного переноса; Катамин АБ; метансульфокислота; сокатализатор; учебно-имитационная рецептура.

Библиографическое описание: Воробьев М.В., Цветков А.А., Лапшинов О.В. Технологии химической утилизации имитационных рецептур и компонентов специальных средств на химической основе // Вестник войск РХБ защиты. 2021. Т. 5. № 3. С. 247–259. [s://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-5-3-247-259](https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-5-3-247-259)

По состоянию на 27 сентября 2017 г. в Российской Федерации уничтожены все запасы химического оружия – это 39 967 т отравляю-

щих веществ (ОВ) или 100 % имевшихся запасов. Россия завершила работу по уничтожению химического оружия с опережением графика:

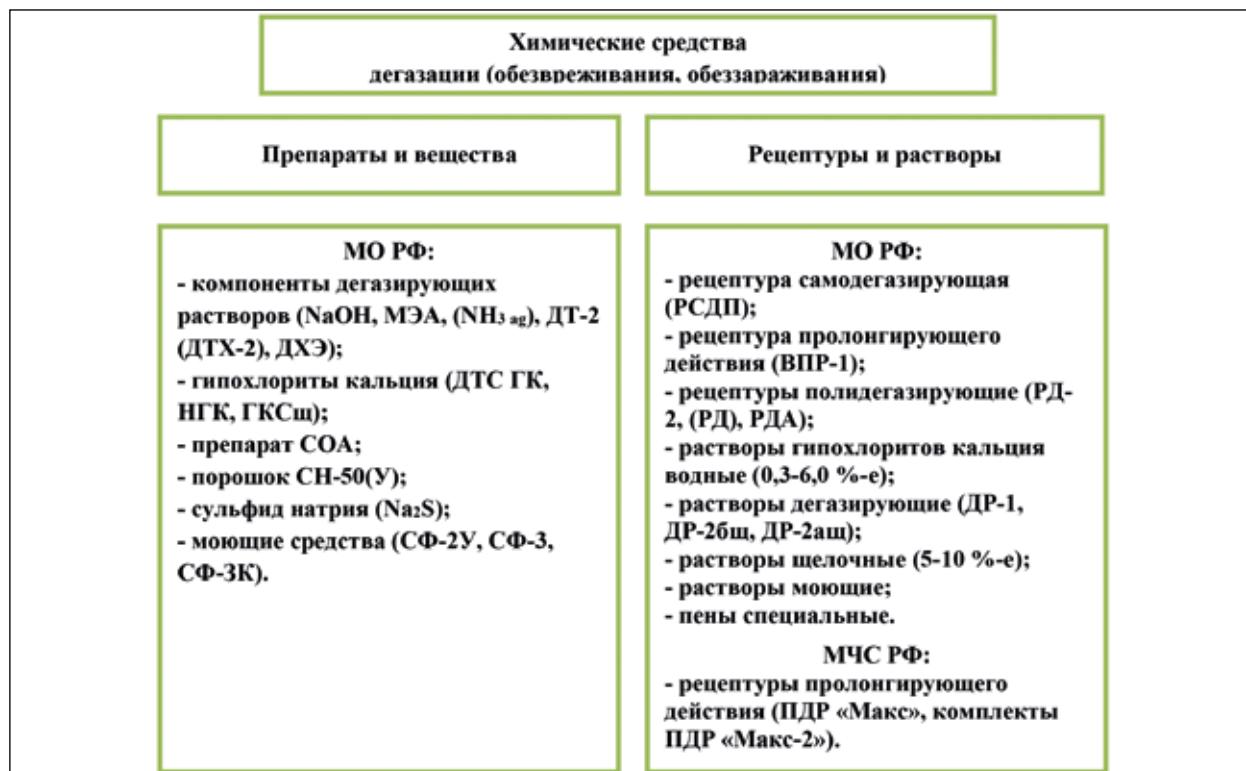


Рисунок 1 – Химические средства дегазации (обеззараживания) отравляющих веществ [5]

вместо 2020 г. – в 2017 г.¹ Однако в данное время на складах Министерства обороны Российской Федерации хранится значительное количество учебно-имитационных рецептур, содержащих смесь: хлорацетофенона и дизельного топлива; изделий для имитации химического оружия с включением в состав ортохлорбензеденмалондинитрила и хлорацетофенона. Существующие способы утилизации имитационных рецептур [1, 2] не эффективны для утилизации неприятно пахнущих веществ (одорантов, малодорантов) и допускают возможность попадания в окружающую среду вредных компонентов, способных на длительный срок заражать объекты и местность[3], что вызывает необходимость проводить специальную обработку.

Цель работы – предложить химические методы нейтрализации и утилизации токсичных веществ и неприятно пахнущих составов при утилизации учебно-имитационных рецептур и специальных средств.

Задачами исследований являлись:

- определение возможного состава создаваемой водной дегазирующей рецептуры для нейтрализации одорантов;
- оценка роли каждого из используемых компонентов дегазирующей рецептуры в процессах нейтрализации одорантов;

- анализ количественного и качественного состава дегазирующей рецептуры для нейтрализации одорантов.

Для решения поставленных задач использовался опыт создания дегазирующих рецептур для нейтрализации ОВ. Универсального состава для дегазации ОВ не существует. Концепция разработки средств специальной обработки была направлена на создание селективно действующих рецептур, обеспечивающих эффективную деконтаминацию ОВ, что обеспечивалось протеканием необратимых химических реакций между компонентами рецептуры и конкретным ОВ. Поскольку практически все ОВ представляют собой липофильные соединения, то для их дегазации применяют растворы на основе органических веществ (хлорбензол, 1,2-дихлорэтан, N-метилпирролидон, моноэтанолламин, целлозольвы, бензин или керосин) [4]. Использование подобных составов требует хранения и транспортировки к месту проведения специальной обработки больших объемов растворителей и активных веществ.

Краткая характеристика рецептур для специальной обработки

На момент развертывания работ по химическому разоружению в России на снабжении в

¹ В Российской Федерации уничтожили последний химический боеприпас // Интерфакс: URL: <https://www.interfax.ru/russia/580801=20> (дата обращения: 16.08.2021).

МО РФ и МЧС РФ находились в соответствии с классификацией *по функциональной принадлежности и принципу действия* (рисунок 1) [5]:

- монодегазирующие рецептуры (ДР-1, ДР-2бщ, ДР-2аш, щелочные растворы (NaOH, Na₂S) и др.);

- полидегазирующие рецептуры (РСДП, ВПР-1, ПДР «Макс», комплекты ПДР «Макс-2», РД-2 (РД), РДЛ, водные растворы гипохлоритов кальция, водные моющие растворы, растворители и др.);

- бифункциональные композиции (ВПР-1, ПДР «Макс», комплекты ПДР «Макс-2», водные растворы гипохлоритов кальция и др.);

- полифункциональные композиции (водные растворы препаратов СОА, СН-50, СН-50У, СФ-2У и др.).

По характеру среды дегазирующие рецептуры (растворы) подразделяются на водные, водно-органические и неводные (сольвентные). Монодегазирующими рецептурами считаются системы на основе воды или органического растворителя для результативной дегазации ОВ одного типа (или фосфорорганических ОВ, или кожно-нарывных ОВ) или же ОВ одного наименования.

Полидегазирующими рецептурами называются водные или неводные (сольвентные) рецептуры, которые одновременно с высокой результативностью дегазируют все классические (унитарные) ОВ и большинство аварийно химически опасных веществ (АХОВ). Бифункциональные композиции (БФР) – многокомпонентные системы, растворимые в воде или водно-органической среде для одновременной и результативной дегазации (обезвреживания) ОВ (АХОВ) и дезинфекции микроорганизмов в неспоровой и споровой формах существования (данное определение принято у специалистов войск радиационной, химической и биологической (РХБ) защиты).

Являясь одновременно и ПДР и БФР, водные растворы гипохлоритов кальция (гипохлоритные системы окислительно-хлорирующего действия с «активным» хлором) в зависимости от выполняемой задачи имеют уникальное свойство менять свою реакционную способность в отношении ОВ (ви-экс, зарина, зомана, иприта) при изменении pH среды, то есть реакционной способностью гипохлоритной системы можно управлять, меняя значения pH.

Для сравнения, проблема дезактивации вооружения и военной техники (далее – ВВТ) в вооруженных силах решена с помощью применения водных растворов поверхностно-активных веществ. Так, для проведения дезактивации используют 0,15 % водный раствор СФ-2У. В данном случае для получения 1,0 т дезактивирующего раствора к месту проведения меро-

приятия по дезактивации ВВТ необходимо доставить лишь 1,5 кг СФ-2У [4].

Опыт применения дегазаторов на водной основе прослеживается со времен Первой мировой войны. Были разработаны такие рецептуры на водной основе, как дегазирующий раствор № 2-аш, дегазирующий раствор № 2-бщ и водная суспензия ДТС ГК (дегазация протекает в условиях гетерофазы) [4]. Для нейтрализации ОВ может быть также использован порошок СФ-2У, а при его отсутствии – другие коммерческие поверхностно-активные вещества (дегазация протекает в условиях мицеллообразования). Таким образом, наиболее рациональным при дегазации больших площадей является использование водных растворов дегазаторов, так как к месту проведения специальной обработки будет необходимо осуществить доставку небольших объемов реагентов и уже на месте готовить дегазирующую рецептуру.

Другие методы утилизации одорантов и дурнопахнущих веществ

Анализ доступных зарубежных источников по вопросам дегазации и утилизации одорантов и малодорантов показал, что данная проблема решается различными путями. Это связано с технологиями снижения вредных выбросов на производстве и в коммунальном хозяйстве, а также при добыче нефти и газа.

Дегазация сероводорода остается важным компонентом системы при получении кристаллической серы. Процесс осуществляется продувкой реакционной массы сжатым воздухом в различных приспособлениях. В последующем воздух, загрязненный парами серы, сероводорода и оксида серы подвергаются сжиганию и очистке в замкнутой системе [6].

Снижение количества меркаптанов и сероводорода в нефти определяет ее качество и безопасность для окружающей среды. При этом применяющиеся способы для дегазации дурнопахнущих веществ могут использоваться и для снижения их количества в других целях. Для этого широко используется нейтрализатор меркаптанов и сероводорода «Десульфон-SNPCН-1200». При использовании этого дегазирующего компонента происходит химическое взаимодействие, в результате которого образуются инертные малотоксичные соединения [7–12].

Для десульфуризации нефтяных продуктов применяется также метод воздействия на реакционную массу ультразвуком в присутствии уксусной кислоты и активированного угля [13].

Во всем мире рост городов приводит к уплотнению застройки и строительству жилых, социальных и коммерческих объектов даже в

непосредственной близости от очистных сооружений канализации. Новые здания могут размещаться и на территориях, ранее отведенных под санитарно-защитную зону. Например, в пригороде Сиднея (Австралия) в лесу на побережье расположена станция очистки сточных вод Cronulla, а с другой стороны леса, в 500 м от границы станции был построен элитный коттеджный поселок с яхт-клубом. После заселения поселка начались жалобы жителей на неприятный запах. В результате руководству канализационной станции пришлось принимать меры по снижению выброса неприятно пахнущих веществ – установить дорогостоящие системы газоочистки на основе биофильтров [14].

Высокая эффективность адсорбции пахучих веществ на активированном угле часто делает его оптимальным решением для финишной очистки или доочистки воздуха (с концентрациями сероводорода до нескольких мг/м³) или для работы при небольших расходах воздуха (менее 300–1000 м³/ч). Однако при больших концентрациях дурнопахнущих веществ традиционно используются более дешевые технологии грубой предварительной очистки воздуха. Классическим решением данной задачи являются химические скрубберы. Вариантом реализации химических скрубберов являются перекисные скрубберы для удаления сероводорода. В этом случае в щелочной скруббер добавляется перекись водорода, что позволяет увеличить скорость реакции и уменьшить размеры реактора. Кроме того, продуктом реакции в данном случае становится сульфат натрия, который проще утилизировать, нежели традиционный сульфид натрия. Такие установки, например, испытывались в Австрии [15]. Скрубберы эффективно работали, однако расходы на их содержание (реагенты) оказались достаточно высоки, поэтому технология не получила широкого распространения. Кроме того, используемая перекись водорода пожароопасна и требует специальных условий хранения (температура окружающего воздуха не выше 30 °С, что требует дополнительных мер предосторожности в летний период). Поэтому данный метод не получил широкого распространения.

Накопление выведенных из эксплуатации емкостей хранения одоранта – одна из проблем, остро стоящих в газораспределительной системе Российской Федерации. Абсолютное большинство газораспределительных станций применяют в своей работе одорант СПМ – смесь низших природных меркаптанов. В настоящее время разработан экологически безопасный метод утилизации выведенных из эксплуатации емкостей хранения одоранта. Обезвреживание емкостей производится путем окисления остатка одоранта природного газа в процессе обра-

ботки озоном в водном растворе. В результате обезвреживания класс опасности отхода (емкости хранения одоранта) понижается со второго до четвертого [16].

Таким образом, все вышеописанные методы только подтверждают факт необходимости разработки надежных способов утилизации неприятно пахнущих веществ.

Технологии утилизации одорантов и малодорантов

Водные дегазирующие рецептуры имеют свои недостатки – они малоэффективны для дегазации многих ОВ, которые либо плохо растворимы в воде, либо устойчивы к воздействию активных водорастворимых компонентов дегазирующих составов. Поэтому предпочтительным направлением является использование водно-органических двухфазных систем «жидкость–жидкость», которые, с одной стороны, позволяют эффективно проводить деконтаминацию липофильных ОВ, с другой стороны – минимизируют количество органических растворителей, доставляемых к месту специальной обработки.

В арсенале органической химии давно существуют методические приемы, способствующие эффективному протеканию химических реакций в системах с активными компонентами, находящимися в несмешивающихся жидких фазах. Для этого используют катализаторы межфазного переноса (далее – КМП).

Механизм действия КМП зависит от того, в какой фазе протекает реакция с субстратом и образование продукта. При простом, даже интенсивном перемешивании между реагентами в органической и водной фазах, как правило, не происходит никакой реакции. При введении в систему КМП наблюдается перемещение активных компонентов из фазы в фазу с использованием транспортных возможностей катализатора. Так, при нуклеофильном замещении неорганическим анионом последний переносится из водной фазы в органическую, где реагирует с субстратом. Анион, переведенный катализатором в органическую фазу, малосольватирован («голый» анион), что резко повышает его реакционную способность. Образование органических анионов протекает, как правило, на поверхности раздела фаз, а их реакции с субстратом – на поверхности раздела фаз или в органической фазе. Липофильный катион катализатора межфазного переноса выполняет транспортную функцию, обеспечивая «челночные рейсы» ионных пар из фазы в фазу, регенерируясь в ходе межфазного процесса. Применительно к реакциям нейтрализации одорантов по данному алгоритму возможно разрушение липофильного одоранта водорастворимым

нейтрализующим компонентом. Исследования в направлении межфазного катализа ведутся более 50 лет [17], что позволяет прогнозировать возможность создания высокоэффективных нейтрализующих рецептур на водной основе, обладающих свойствами составов на основе органических растворителей.

Значительное число реакций, протекающих по механизму межфазного катализа, осуществляется на поверхности раздела фаз; в этом случае объемы органической и водной фаз не задействованы в химическом взаимодействии активных компонентов. Это обусловлено неспособностью большинства известных катализаторов межфазного переноса эффективно экстрагировать высоко гидрофильные анионы в объем органической фазы. Для решения проблемы плохой экстракции анионов и обеспечения возможности протекания химической стадии процесса в объеме органической фазы представляет интерес использование добавок сокатализаторов кислотно-основной природы. В настоящее время представления о механизме синергического действия КМП и сокатализаторов, а также способах разработки их наиболее оптимальных композиций не выходят за рамки

предположений и гипотез. Тем не менее, представляется целесообразным задействовать это направление в разработке универсальной дегазирующей рецептуры.

Таким образом, концептуально задача разработки дегазирующей рецептуры для деконтаминации одорантов заключается в создании композиции, содержащей активный нейтрализующий компонент, катализатор межфазного переноса, позволяющий использовать в качестве растворителя водно-органические системы, и сокатализатор, расширяющий зону проведения химической реакции. Рассмотрим более подробно каждый элемент этой композиции.

Реакционной средой процесса нейтрализации разрабатываемой рецептуры должна быть водно-органическая система. Для формирования гетерофазы были рассмотрены различные неполярные апротонные растворители. В них должны хорошо растворяться вещества, подлежащие нейтрализации. Важным условием также является дешевизна и доступность. В наибольшей степени этим требованиям отвечает бензин. Сульфиды, меркаптаны, амины и замещенные ароматические углеводороды образуют в нем истинные растворы, что является

Таблица 1 – Примеры изменений в структуре замещенных ароматических углеводородов, приводящие к снижению интенсивности запаха, либо к его потере [18]

Первичная структура молекулы (наличие запаха)	Измененная структура молекулы (отсутствие запаха)	Первичная структура молекулы (наличие запаха)	Измененная структура молекулы (отсутствие запаха)
Увеличение длины алкильного радикала		Отсутствие алкильного радикала	
Изменение положения алкильного радикала		Изменение положения алкильного радикала	
Метоксилирование		Окисление	

Таблица 2 – Примеры изменений в структуре молекул (окисление), приводящие к потере запаха одорантов в ряду производных сульфидов, меркаптанов, аминов и карбоновых кислот [18]

Первичная структура молекулы (наличие запаха)	Измененная структура молекулы (отсутствие запаха)
$R-S-R$	
$R-SH$	
$R-NH_2$	
$R-NH-R$	
$R-N(R)-R$	
$R-CH_2-COOH$	

значимым фактором эффективности дегазации одорантов.

Нейтрализация рецептур на основе одорантов осложняется тем, что это многокомпонентные смеси переменного состава, содержащие сульфиды, меркаптаны, амины, карбоновые кислоты и замещенные ароматические углеводороды, обладающие различными физико-химическими свойствами. В связи с этим, весьма широк спектр химических реакций, приводящих к структурным изменениям одорантов, которые сопровождаются либо потерей интенсивного неприятного запаха, либо значительным снижением их концентраций.

Анализ данных литературы показывает, что потеря функциональной активности одорантов, обусловлены изменением первичной структуры соединений, затрагивающим группы, ответственные за наличие у одорантов интенсивного неприятного запаха.

В таблицах 1 и 2 показано как изменение структуры одорантов приводит к снижению интенсивности запаха, либо к его полной потере.

Анализ данных, приведенных в таблицах 1 и 2, показывает, что потеря запаха для замещенных ароматических углеводородов наблюдается при изменении положения группы, отвечающей за проявление запаха, либо изменении ее природы; для производных сульфидов, меркаптанов, аминов и карбоновых кислот – при образовании окисленных аналогов рассматриваемых соединений. Подобные трансформации структур происходят при протекании реакций алкилирования (ацилирования) или (и) окисления.

Реализация реакций алкилирования и (или) ацилирования в процессах нейтрализации одорантов маловероятна ввиду технологической сложности процессов и неприемлемости в процедурах спецобработки.

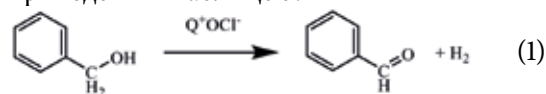
Использование окислительных процессов предполагает применение рецептурных композиций на основе солей перекиси водорода или других окислителей (перманганата калия, перхромата калия). Соли перекисей практически нерастворимы в неполярной среде, что ограничивает их использование в неполярных органических растворителях. Несколько лучше они растворимы в протонных средах, однако именно в этих средах они крайне неустойчивы [19]. Известны варианты применения перекисных солей в условиях межфазного переноса (далее – МФП), в качестве катализаторов рассматриваются краун-эфиры. Было показано, что краун-эфиры образуют комплексы и растворяют перекись калия в таких растворителях, как диметилсульфоксид, бензол, тетрагидрофуран, N,N-диметилформамид, диметоксиэтан и диэтиловый эфир [20]. Однако, указанные составы работают исключительно в системе твердое тело–органический растворитель, что не позволяет их рассматривать в качестве нейтрализаторов одорантов.

При оценке возможности применения нейтрализующих составов окислительно-хлорирующего действия для одорантов следует отметить, что гипохлориты в качестве дегазаторов широко используются и находятся на снабжении ВС РФ (водная суспензия ДТС ГК). Гипохлориты являются коммерческим продуктом, производятся промышленностью в больших количествах, могут храниться в сухом виде длительный период [21].

Рабочей формой гипохлоритов являются водные растворы, что ограничивало их использование для нейтрализации ОВ, плохо растворимых или нерастворимых в воде. Как уже было отмечено выше, для расширения возможностей применения водорастворимых активных компонентов в органических системах могут быть использованы КМП.

Известно, что гипохлорит-ион является эффективным окислителем для различных соединений при проведении реакции в условиях межфазного переноса [22]. Так, например, реакция гипохлорита натрия с бензиловыми спир-

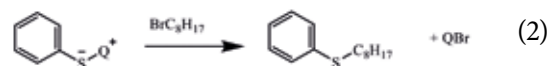
тами в хлористом метиле, катализируемая ионом тетрабутиламмония, приводит к образованию для первичных спиртов – альдегидов, а для вторичных – кетонов (уравнение 1), результаты приведены в таблице 3:



где Q – четвертичное аммониевое основание.

Известно, что в качестве межфазных катализаторов, главным образом, используют четвертичные аммониевые и фосфониевые или другие ониевые соли². Однако на практике наибольшее распространение, вследствие простоты изготовления, дешевизны, доступности и наличия удовлетворительных эксплуатационных характеристик, получили соли тетралкиламмония.

Эффективность четвертичных аммониевых оснований рассмотрим на примере реакции тиофенолят-иона с бромистым октаном (уравнение 2):



где Q – четвертичное аммониевое основание.

Активность четвертичных аммониевых оснований для данного типа реакций в системе бензол–вода приведена в таблице 4.

Приведенные результаты оценки относительной эффективности катализаторов подтверждают эмпирические правила, касающиеся соотношения активности и структуры липофильного катиона Q⁺: большие четвертичные катионы эффективнее ионов меньшего размера, каталитическая активность повышается с увеличением размера наиболее длинной цепи. Перечисленным требованиям соответствует диметилалкил(C₈–C₁₈) бензиламмоний хлорид (коммерческое название «Катамин»). «Катамин» является наиболее дешевым КМП, нашедшим широкое распространение в качестве дезинфицирующего средства и КМП. Его годовое про-

Таблица 3 – Выходы альдегидов и кетонов в реакциях окисления бензиловых спиртов гипохлоритом натрия [22]

Исходный компонент	Продукт реакции	Выход, %
C ₆ H ₅ CH ₂ OH	C ₆ H ₅ CHO	76
4-ClC ₆ H ₄ CH ₂ OH	4-ClC ₆ H ₄ CHO	82
4-CH ₃ C ₆ H ₄ CH ₂ OH	4-CH ₃ C ₆ H ₄ CHO	78
4-CH ₃ OC ₆ H ₄ CH ₂ OH	4-CH ₃ OC ₆ H ₄ CHO	79
2-CH ₃ OC ₆ H ₄ CH ₂ OH	2-CH ₃ OC ₆ H ₄ CHO	79
(C ₆ H ₅) ₂ CHOH	(C ₆ H ₅) ₂ CO	82

² ГОСТ 11086-76. Гипохлорит натрия. Технические условия. Введ. 1977-07-01. Изд-во стандартов, 1976.

Таблица 4 – Активность галогенидов четвертичных аммониевых оснований в системе бензол–вода²

Химическое название	Структурная формула	Относительная скорость реакции, моль-мин-л ⁻¹
Тетраметиламмония бромид	$(\text{CH}_3)_4\text{NBr}$	$< 2,2 \cdot 10^{-4}$
Тетрапропиламмония бромид	$(\text{C}_3\text{H}_7)_4\text{NBr}$	$7,6 \cdot 10^{-4}$
Тетрабутиламмония бромид	$(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NBr}$	0,70
Тетрабутиламмония йодид	$(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NI}$	1,00
Триоктилметиламмония хлорид	$(\text{C}_8\text{H}_{17})_3\text{NCH}_3\text{Cl}$	4,20
Бензилтриэтиламмония бромид	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Br}$	$< 2,2 \cdot 10^{-4}$
Бутилпиридиния бромид	$\text{C}_5\text{H}_5\text{NC}_4\text{H}_9\text{Br}$	$< 2,2 \cdot 10^{-4}$
Гептилпиридиния бромид	$\text{C}_5\text{H}_5\text{NC}_7\text{H}_{15}\text{Br}$	$3,1 \cdot 10^{-3}$
Додецилпиридиния бромид	$\text{C}_5\text{H}_5\text{NC}_{12}\text{H}_{25}\text{Br}$	$1,2 \cdot 10^{-2}$
Гептилтриэтиламмония бромид	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Br}$	$2,0 \cdot 10^{-3}$
Октилтриэтиламмония бромид	$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Br}$	$2,2 \cdot 10^{-2}$
Децилтриэтиламмония бромид	$\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Br}$	$3,2 \cdot 10^{-2}$
Додецилтриэтиламмония бромид	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Br}$	$3,9 \cdot 10^{-2}$
Гексадецилтриэтиламмония бромид	$\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Br}$	$6,5 \cdot 10^{-2}$
Гексадецилтриметиламмония бромид	$\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Br}$	$2,0 \cdot 10^{-2}$

изводство в мире оценивается десятками тысяч тонн [23].

Для увеличения эффективности создаваемой дегазирующей рецептуры были предложены добавки сокатализаторов³. На основе рассмотренных химических процессов нейтрализации одорантов и малодорантов специалистами войск РХБ защиты было разработано и запатентовано «Средство для нейтрализации малодорантов при авариях на химически опасных объектах» (Д.П. Колесников, О.В. Лапшинов, М.С. Логинов и др.) [25].

Данное изобретение относится к дегазирующим составам и может быть использовано для нейтрализации малодорантов на поверхностях, в объемах воздуха и замкнутых пространствах. Для этого используют состав для нейтрализации на основе 5 % водного раствора гипохлорита натрия, катализатора межфазного переноса «Катамин АБ», сокатализатора – метансульфоокислота в следующих соотношениях компонентов, мас. %: катализатор межфазного переноса «Катамин АБ» – 0,5; сокатализатор – метансульфоокислота – 0,5; 5 % водный раствор гипохлорит натрия – остальное. Введение сокатализатора позволило расширить границы взаимодействия одорантов с компонентами нейтрализующей рецептуры и проводить реакцию во всем объеме реагирующих компонен-

тов. Данное техническое решение обеспечивает нейтрализацию малодорантов при возникновении чрезвычайных ситуаций и ликвидации аварий на химически опасных объектах, обработке рабочих площадок, площадок временного хранения производственных [25].

В качестве модельных одорантов были использованы коммерческие соединения: амины, замещенные ароматические углеводороды (3-метилиндола) и серусодержащие вещества (дипропилсульфид).

Работа по определению эффективности разрабатываемых составов была построена на поэтапном выборе качественного и количественного состава компонентов для эффективной нейтрализации запаха одорантов. Калибровку и анализ содержания одорантов в реакционной системе проводили на газовом хроматографе Agilent Technologies 7820 A с масс-селективным детектором 5977 E MSD. Остаточную концентрацию одорантов определяли по калибровочной кривой, построенной по методу внешнего стандарта [25].

Оптимизации количественного и качественного состава дегазирующей рецептуры для нейтрализации одорантов заключалась в проведении исследований с использованием термостатируемого реактора объемом 50 мл. Работы проводили при 25 °С. В реактор загру-

³ Сокатализаторы – это вещества, усиливающие действие катализатора, многократно участвующие в химическом превращении реагентов в продукты реакции и регенерирующиеся в исходной форме после каждого акта превращений. В качестве сокатализаторов исследуются низкомолекулярные вещества, хорошо растворимые как в воде, так и органических растворителях, используемых для нейтрализации одорантов. Сокатализатор должен иметь значение lg P, равное » 7,0, и быть активной СН-кислотой [24].

Таблица 5 – Результаты экспериментальных исследований по оптимизации количественного и качественного состава компонентов рецептуры для нейтрализации одорантов водным раствором гипохлорита натрия «Белизна» [25]

№ опыта	«Катамин АБ», мл	Метансульфо-кислота, мл	Дипропилсульфид, мг/мл		3-Метилиндол, мг/мл	
			С _{нач}	С _{конеч}	С _{нач}	С _{конеч}
1.	*	*	5,0	1,5	-	-
2.	0,2	*	5,0	0,06	-	-
3.	0,2	0,1	5,0	НПО	-	-
4.	*	*	-	-	5,0	1,6
5.	0,2	*	-	-	5,0	0,03
6.	0,2	0,1	-	-	5,0	НПО
7.	*	*	5,0	4,8	5,0	5,0
8.	0,2	*	5,0	0,09	5,0	0,14
9.	0,2	0,1	5,0	НПО	5,0	НПО
10.	0,02	0,02	5,0	1,1	5,0	0,4
11.	0,01	0,02	5,0	1,0	5,0	0,2
12.	0,01	0,01	5,0	2,2	5,0	0,6
13.	0,2	0,2	5,0	НПО	5,0	НПО
14.	0,1	0,05	5,0	НПО	5,0	НПО
15.	0,05	0,1	5,0	НПО	5,0	НПО
16.	0,05	0,05	5,0	НПО	5,0	НПО

Примечание.
НПО – ниже предела обнаружения.
* Компонент не использовался в реакции.

жали: гексановый раствор одоранта с концентрацией 5 мг/мл, водный раствор гипохлорита натрия «Белизна» с содержанием активного хлора ~ 5 %, водный раствор «Катамина АБ» с содержанием основного вещества 49,0–51,0 %, метансульфокислоту. Реакционную массу интенсивно перемешивали в течение 1 мин, отбирали органический слой на анализ. В органическом слое определяли остаточное содержание одорантов. Результаты исследований приведены в таблице 5.

Анализ материалов, приведенных в таблице 5, свидетельствует (опыт № 13–16), что в состав средства нейтрализации одорантов должны входить следующие компоненты, выраженные в % масс.:

- водный раствор гипохлорита натрия (5 %) «Белизна» – 99,0;
- диметилалкил(C₈-C₁₈)бензиламмония хлорид «Катамин АБ» – 0,5;
- метансульфокислота – 0,5.

Гипохлорит натрия является окислителем, «Катамин АБ» – катализатор межфазного переноса, обеспечивающий перенос аниона из водной фазы в органическую, метансульфокислота – сокатализатор, обеспечивающий протекание реакции как в водной, так и органической фазах.

Учитывая актуальность проблемы нейтрализации или удаления учебно-имитационных рецептур с зараженной местности, техники, зданий и сооружений необходимо дальнейшее совершенствование способов и применяемых веществ для дегазации территорий и помещений. Перспективным направлением в этом вопросе может быть применение дегазирующей пенной рецептуры. Исходя из предыдущих разработок, было определено, что в состав рецептуры пенной дегазирующей должны входить 5 компонентов: технический дихлорамин, гидроокись натрия, катализатор межфазного перехода (триэтилбензиламмоний хлорид), глицерин и пенообразователь [26].

Дальнейшие исследования пенных рецептур получили свое развитие в изобретении В.А. Ковтуна с соавт. «Пенный состав для нейтрализации малоодорантов в условиях межфазного катализа» [27]. Изобретение относится к области пенных составов, применяемых для нейтрализации малоодорантов на поверхностях и в растворах. Поставленная задача решается созданием пенного состава на основе водного раствора гипохлорита натрия «Белизна», катализатора межфазного переноса – диметилалкил(C₈-C₁₈)бензиламмония хлорида «Катамин АБ», сокатализатора – метансульфокислоты и

пенообразователя, поверхностно-активного вещества – продукта обработки смеси моно- и диалкилфенолов окисью этилена («ОП-10»).

Состав и свойства рассмотренных рецептур [23, 25, 27] позволяют их использовать для нейтрализации одорантов при возникновении чрезвычайных ситуаций и ликвидации аварий, обработке рабочих площадок временного хранения производственных отходов, а также мест разлива одорантов и т.д. Особенностью данных составов является возможность создания эффективных рецептур из доступного, дешевого сырья, ассимилированного в российской экономике.

Заключение

1. Анализ данных научно-технической литературы по главным направлениям исследований химических процессов, проводимых с использованием катализатора межфазного переноса в разнообразных системах, показал, что для дегазирующей рецептуры для нейтрализации составов на основе одорантов рационально применять соединения окислительно-хлорирующего действия, четвертичные аммониевые основания и сокатализатор.

2. Определено, что в состав разрабатываемой дегазирующей рецептуры на водной

основе должны входить гипохлорит натрия, катализатор межфазного переноса – диметилалкил(C_8-C_{18})бензиламмония хлорид «Катамин АБ» и сокатализатор – метансульфокислота.

3. Выявлен оптимальный количественный и качественный состав дегазирующей рецептуры для нейтрализации одорантов. В состав рецептуры должны входить следующие компоненты, выраженные в % масс.:

- водный раствор гипохлорита натрия (5 %) «Белизна» – 99,0;
- диметилалкил(C_8-C_{18})бензиламмония хлорид «Катамин АБ» – 0,5;
- метансульфокислота – 0,5.

4. Определена роль каждого из применяемых компонентов рецептуры. Гипохлорит натрия является окислителем, «Катамин АБ» – катализатор межфазного переноса, обеспечивающий перенос аниона из водной фазы в органическую, метансульфокислота – сокатализатор, обеспечивающий протекание реакции как в водной, так и в органической фазах.

5. Для увеличения эффективности рассматриваемых рецептур, возможно, использовать пенообразователи при проведении нейтрализации одорантов в условиях межфазного катализа.

Вклад авторов

Все авторы внесли свой вклад в концепцию рукописи, участвовали в обсуждении и написании этой рукописи, одобрили окончательную версию. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи. / All authors contributed to the conception of the manuscript, the discussion, and writing of this manuscript, approved the final version. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Список источников/References

1. Патент РФ № 2178719С2 (2002). Patent RF No. 2178719С2 (2002).
2. Алимов Н.И., Медвецкий И.В., Мигачёв Ю.С., Мигачёв А.С. Разработка методов утилизации запахов имитационных рецептур // Экологические системы и приборы. 2005. № 11. С. 22–26.
Alimov N.I., Medvetzkiy I.V., Migachev Yu.S., Migachev A.S. Development of methods for disposal of stocks of imitation formulations // Ecological systems and devices. 2005. No. 11. P. 22–26 (in Russian).
3. Селиванов В.В., Левин Д.П. Оружие нелетального действия. М.: Из-во МГТУ им. Н.Э. Баумана. 2017. 356 с.
Selivanov V.V., Levin D.P. Weapons of Non-lethal action (textbook for higher educational institutions). Moscow: MGTU named N.E. Bauman, 2017. 356 p. (in Russian).
4. Кутяшов В.Б., Хантов В.П., Капустин И.В. Дегазирующие рецептуры Российской армии. Кострома: ВА РХБЗ ИВ, 2010. 131 с.
Kutyashov V.B., Khantov V.P., Kapustin I.V. Degassing formulations of the Russian Army. Kostroma: VA RHBZ IV, 2010. 131 p. (in Russian).
5. Кармишин А.Ю., Воробьёв Т.В., Лякин А.С. и др. Универсальная рецептура для обезвреживания в ходе ликвидации последствий деятельности объектов по хранению и уничтожению химического оружия // Теоретическая и прикладная экология.

2015. № 3. С. 100–109.

Karmishin A.Yu., Vorobyev T.V., Lyakin A.S. et al. Universal formulation for neutralization during the liquidation of the consequences of the activities of facilities for the storage and destruction of chemical weapons // *Theoretical and Applied Ecology*. 2015. No. 3 P. 100–109 (in Russian).

6 Clark P.D., Shields M.A., Huang M., Dowling N.I. Liquid sulphur degassing: fundamentals and new technology development in sulphur recovery // Department of Chemistry, University of Calgary and Alberta Sulphur Research Ltd. 2012. P. 1–20.

7. Baskar G., Kalavathy G., Aiswarya R., Sclvakumari A. Advances in bio-oil extraction from nondible oil seed and algal biomass. // *Advances in Eco-Fuels for a Sustainable Environment*. 2019. P. 187–210. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102728-8.00007-3>

8. Ehsaninejad A., Hajilary N., Tahmasbian S., Tohidi B. Identification and solutions for flow assurance problems in dew pointing and mercaptan removal unit in phase 2 & 3 // *Proceedings of the 7th International Conference on Gas Hydrates (ICGH 2011)*, Edinburgh, Scotland, United Kingdom, July 17-21. 2011. P. 1200.

9. Seyedeyn-Azad F., Ghandy. A., Aghamiri. S., Khaleghian-Moghadam R. Removal of mercaptans from light oil cuts using Cu(II)-Y type Zeolite // *Fuel Processing Technology*. 2019. 90. No 12. P. 1459–1463. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.06.028>

10. Luis P. Hybrid processes based on membrane technology // *Fundamental Modeling of Membrane Systems*. 2018. P. 301–343. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813483-2.00008-3>

11. Ganguly S., Das. G., Kumar G. et al. Catalytic oxidation of mercaptans in lightoil sweetening // *Kinetics and reactor design. Chemical Engineering Transactions*. 2018. No 32. P. 661–666. <https://doi.org/10.3303/CET1332111>

12. De Jong J., Dowling N., Sargent M., Etheridge A. et al. Effect of mercaptans and other organic sulfur species on high temperature corrosion in crude and condensate distillation units // *NACE – International Corrosion Conference Series*. 2007. P. 075651–075657. ISSN: 03614409.

13. Khlaif T.H., Bded A.S. Decreasing the sulfur content of crude oil by ultra-sound and activated carbon assisted oxidative method // 1st International conference on Petroleum Technology and Petrochemicals IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering. 2019. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/579/1/0120121>

14. Richard S. Challenges in sampling and measuring odours and odorants // 8th IWA Conference on Odours & Air Emissions, October 14–17, 2019, Hangzhou, China.

15. Miltner M., Makaruk A., Krischan J., Harasek M. Chemical-oxidative scrubbing for the removal of hydrogen sulphide from raw biogas: potentials and economics // *Water Science & Technology*.

2012. 66 p.

16. Неретин Д.А., Шабанов К.Ю., Субботин В.А. и др. Экологически безопасный метод утилизации емкостей хранения одоранта природного газа // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2012. Т. 14. № 5(3). С. 823–828.

Neretin D.A., Shabanov K.Y., Subbotin V.A. et al. Environmentally safe method of utilization of storage tanks of natural gas odorant // *Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2012. V. 14. № 5(3). P. 823–828 (in Russian).

17. Вебер В., Гокель Г. Межфазный катализ в органическом синтезе. М.: Из-во «Мир», 1980. 327 с. Weber V., Gokel G. Phase-phase catalysis in organic synthesis. Moscow: "Mir". 1980. 327 p. (in Russian).

18. Органическая химия Марча. Реакции, механизмы, строение: в 4 т. Т. 2. М.: Смит; пер. с англ. 2-е изд. М.: Лаборатория знаний, 2020. 539 с. ISBN 978-5-906828-14-9.

March's organic chemistry. Reactions, mechanisms, structure: in 4 Vol. V. 2. Moscow: Smith; trans. from English. 2nd ed. Moscow: Laboratory of Knowledge, 2020. 539 p. ISBN 978-5-906828-14-9 (in Russian).

19. Шулов Л.М., Хейфиц Л.А. Душистые вещества с мускусным запахом. М. 1964. 43 с.

Shulov L.M., Kheifitz L.A. Fragrances with musky smell. Moscow. 1964. 43 p. (in Russian).

20. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.

Vladimirov Yu.A., Archakov A.I. Lipid peroxidation in biological membranes. Moscow: Science, 1972. 252 p. (in Russian).

21. Herriott A.W., Picker D. Purple benzene: permanganate oxidations using quaternary ammonium ions // *Tetr. Lett.* 1974. No 16. P. 1511–1514.

22. Herriott A.W., Picker D. Phase transfer catalysis. An evaluation of catalysts // *J. Am. Chem. Soc.* 1975. V. 97. P. 2345–2349.

23. Lee G.A., Freedman H.H. Phase transfer catalyzed oxidations of alcohols and amines by aqueous hypochlorite // *Tetr. Lett.* 1976. No 20. P. 1641–1644.

24. Лебедев Н.Н., Манаков М.Н., Швец В.Ф. Теория химических процессов основного органического и нефтехимического синтеза (издание второе, переработанное). // М.: Химия, 1984. 375 с.

Lebedev N.N., Manakov M.N., Shvets V.F. The theory of chemical processes of basic organic and petrochemical synthesis (second edition, revised). Moscow: Chemistry, 1984. 375 p. (in Russian).

25. Патент РФ RU2720112C2 (2020). Patent RF No. 2720112C2 (2020).

26. Решетников В.М., Аржанухин И.О. Поиск оптимального соотношения между компонентами для получения пенной дегазирующей рецептуры // *Научные и образовательные проблемы гражданской защиты*. 2015. № 3 С. 59–63.

Reshetnikov V.M., Arzhanukhin I.O. The search

for the optimal ratio between the components for obtaining a foam degassing formulation // Scientific and Educational Problems of Civil Protection. 2015. No. 3.

P. 59–63 (in Russian).

27. Патент РФ № 2748420C1 (2021).

Patent RF No. 2748420C1 (2021).

Об авторах

Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» Министерства обороны Российской Федерации, 156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16.

Воробьев Михаил Васильевич. Докторант, канд. хим. наук, доцент.

Цветков Алексей Александрович. Начальник кафедры отравляющих веществ иностранных армий и токсикологии, канд. хим. наук, доцент.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13.

Лапшинов Олег Валентинович. Начальник управления, канд. техн. наук.

Контактная информация для всех авторов: varhbx@mil.ru

Контактное лицо: Воробьев Михаил Васильевич: varhbx@mil.ru

Technologies for Chemical Utilization of Imitation Recipes and Components of Special Products on a Chemical Basis

M.V. Vorobiev¹, A.A. Tsvetkov¹, O.V. Lapshinov²

¹ *The Federal State Official Military Educational Establishment of Higher Education «Military Academy of Radiological, Chemical and Biological Defence named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko», Gorky Street 16, Kostroma 156013, Russian Federation*

² *Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation*

Received 7 September 2021. Accepted 23 September 2021.

There are problems of destruction of educational and simulation formulations and components of special chemical-based products and degassing formulations based on organic solvents. Their solution requires the search for cost-effective and environmentally friendly solutions and approaches to their disposal, especially paying attention to the fact that it is practically impossible to completely free the components of products from toxic chemicals. In turn, it is necessary to minimize toxic and unpleasant-smelling emissions into the atmosphere during neutralization and destruction. The *purpose of the work* is to propose chemical methods for neutralizing and disposing of toxic substances and foul-smelling compounds during the disposal of educational and simulation formulations and special tools. To neutralize compositions based on odorant substances, it is advisable to use compounds of oxidizing-chlorinating action, quaternary ammonium bases and a co-catalyst. The role of each of the used components of the formulation is established. Sodium hypochlorite is an oxidizer, «Katamin AB» is an interphase transfer catalyst that ensures the transfer of anion from the aqueous phase to the organic one, methanesulfonic acid is a co-catalyst that ensures the reaction in both the aqueous and organic phases. The optimal quantitative and qualitative composition of the degassing formulation for neutralizing odorants is considered. The composition of the formulation should include the following components, expressed in % by weight: an aqueous solution of sodium hypochlorite (5%) «Whiteness» – 99.0; dimethylalkyl(C₈-C₁₈) benzylammonium chloride «Katamin AB» – 0.5; methanesulfonic acid – 0.5.

Keywords: *catalysts of interphase transfer; co-catalyst; degassing formulation; educational and simulation formulation; Katamin AB; malodorants; methanesulfonic acid; odorant; sodium hypochlorite.*

For citation: Vorobiev M.V., Tsvetkov A.A., Lapshinov O.V. *Technologies for Chemical Utilization of Imitation Recipes and Components of Special Products on a Chemical Basis* // Journal of NBC Protection Corps. 2021. V. 5. № 3. P. 247–259. 

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

References

See P. 247–259.

Authors

The Federal State Official Military Educational Establishment of Higher Education «Military Academy of Radiological, Chemical and Biological Defence named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko», Gorky Street 16, Kostroma 156013, Russian Federation.

Mikhail Vasilievich Vorobiev. Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor.

Alexey Alexandrovich Tsvetkov. Head of the Department of Toxic Substances of Foreign Armies and Toxicology. Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor.

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Brigadirskii Lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

Oleg Valentinovich Lapshinov. Head of the Department. Candidate of Technical Sciences.

Contact information for all authors: varhbz@mil.ru

Contact person: Mikhail Vorobiev; varhbz@mil.ru

Влияние дисперсности аэрозоля на его маскирующую способность

Д.П. Колесников, В.Н. Пенязь, М.А. Голышев, Д.Н. Буряк, И.В. Артамонов

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005,
Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13

Поступила 14.04.2021 г. Исправленный вариант 20.07.2021 г. Принята к публикации 23.09.2021 г.

Совершенствование маскировки войск и объектов необходимо во всех видах военных действий, как масштабных по величине участвующих группировок войск (сил), так и в ходе борьбы с террористическими группировками. Маскировка аэрозолями является составной частью этого мероприятия. Создание помех для визуального обнаружения целей и ведения прицельного огня обеспечивает снижение вероятности поражений от оружия противника подразделений (их вооружения и военной техники) и военнослужащих. Цель работы – изучение влияния дисперсности аэрозоля на его маскирующую способность. Определение доли экранируемой аэрозолями площади относительно электромагнитного излучения оптического диапазона проводилось на основе случайного, равномерного распределения частиц аэрозоля в пространстве. Установлено, что при теоретической оценке эффективности маскировки (по длине не просматриваемой завесы или по площади маскировки) необходимо рассчитывать не только интегральную концентрацию аэрозоля по линии визирования объекта (в горизонтальной и вертикальных плоскостях, G , $\text{см}^3/\text{м}^2$ или $\text{г}/\text{м}^2$), но и учитывать дисперсность аэрозоля, поскольку при эквивалентных концентрациях аэрозоля она оказывает значительное влияние на эффективность маскировки при прочих равных условиях. Дисперсность аэрозоля, формируемая средствами дымопуска (шашки, ТДА и т. д.), является необходимой составляющей тактико-технических характеристик изделий, а также одним из требований к перспективным разработкам и разработкам средств аэрозольного противодействия. В статье представлены результаты моделирования на ПЭВМ случайного распределения частиц аэрозоля в пространстве для оценки его экранирующей способности относительно электромагнитного излучения оптического диапазона.

Ключевые слова: дисперсность маскирующих аэрозолей (частиц дымов); маскировка аэрозолями (применение маскирующих дымов); средства маскировки аэрозолями; эффективность маскировки аэрозолями.

Библиографическое описание: Колесников Д.П., Пенязь В.Н., Голышев М.А., Буряк Д.Н., Артамонов И.В. Влияние дисперсности аэрозоля на его маскирующую способность // Вестник войск РХБ защиты. 2021. Т. 5. № 3. С. 260–268.  [s://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-3-260-268](https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-3-260-268)

Маскировка аэрозолями для снижения потерь широко использовалась в Первую мировую войну [1–5], во время Второй мировой войны [6–10], в ходе военных действий ограниченного контингента Советских войск в Афганистане, а также при осуществлении контртеррористиче-

ской операции в Чеченской республике. В Афганистане¹ и Чеченской республике² аэрозольная маскировка преимущественно использовалась для снижения поражений от огня противника по воздушным целям (авиации при взлете и посадке на аэродромах, площадках), при маневрах

¹ Афганская кампания: невостребованный опыт. URL: <http://www.vko.ru/voyny-i-konflikty/afganskaya-kampaniya-nevostrebovannyi-opyt-10> (дата обращения: 14.04.2021).

² Первая мобильная бригада РХБЗ на второй чеченской войне. URL: <https://www.warhechnya.ru/pervaya-mobilnaya-brigada-rhbz-na-vtoroj-chechenskoj-vojne/> (дата обращения: 14.04.2021).

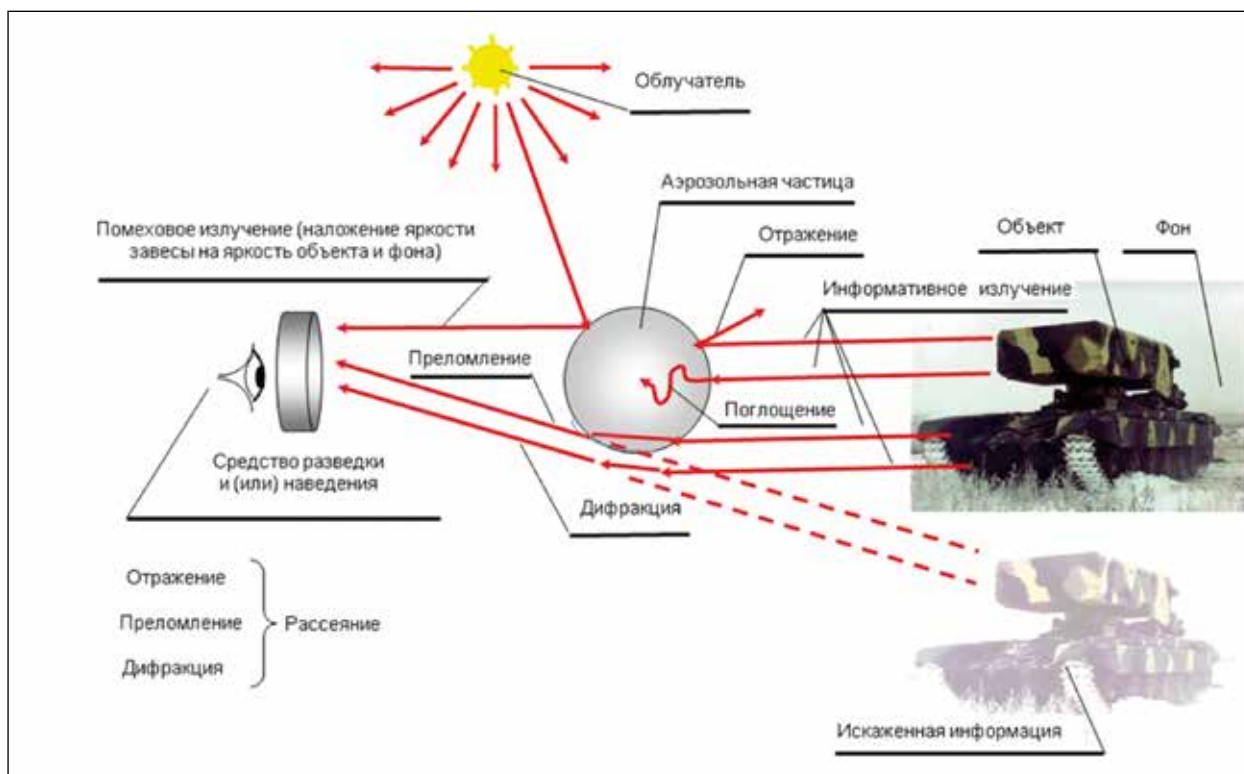


Рисунок 1 – Физика противодействия аэрозоля видимому спектру электромагнитного излучения [12]

подразделений и отдельных военнослужащих в пределах визуальной видимости (смена позиций, при выходе из техники на местность и т. д.) [11].

Цель работы – разработка способа учета влияния дисперсности аэрозоля на его маскирующую способность.

Эффективность маскировки при применении аэрозолей зависит от следующих факторов: метеоусловий, средств применения и их количества. В основе маскировки аэрозолями всеми известными способами лежит единое физическое явление, когда частицы аэрозоля создают преграду для прохождения в пространстве лучей в оптическом диапазоне (рисунок 1).

Это явление обуславливается тремя возможными эффектами: поглощением, отражением и преломлением, что скрывает или искажает изображение объекта маскировки. Чем больше частиц аэрозоля, и чем они больше по диаметру, тем лучше маскировка объекта. Увеличение количества частиц аэрозоля требует большего расхода аэрозолеобразующего состава (АОС). Исходя из этого возникает необходимость определения размера частицы при равных расходах АОС, которые обеспечат наилучшую маскировку.

Площадь сечения сферической частицы АОС пропорциональна квадрату ее радиуса. Чем крупнее частицы, тем большее экранирующее действие они оказывают для солнечных лучей в оптическом диапазоне. Если ввести ограничение

по массе АОС (G , г или $см^3$), то возможное количество частиц, которое можно получить из этого количества, обратно пропорционально кубу радиуса частицы. Следовательно, надо уменьшить АОС в процессе его возгонки или частичного испарения для последующей конденсации термодымовой аппаратурой (ТДА) до максимально малого размера. В процессе случайного хаотического распределения частиц в пространстве (при перемешивании слоев воздуха) они взаимно экранируются относительно проекции световых лучей на некоторую плоскость объекта. Из-за присутствия в большом количестве таких частиц, возникает необходимость определения значимости экранирования как для малых, так и для больших частиц АОС.

Логическое моделирование данного процесса можно осуществить при помощи эксперимента с бумагой формата А4. В пустом помещении небольшой площади ($\sim 10 м^2$), поворачиваясь на 360° с закрытыми глазами, необходимо разбросать листы бумаги в хаотичном порядке с разными усилиями. Если при этом через 5–10 бросков фиксировать долю накрытой площади пола, то можно отметить, что вначале эта доля увеличивается почти прямо пропорционально количеству брошенных листов (N), а затем (при возрастании N), скорость приращения закрытой площади будет монотонно замедляться за счет взаимного наложения листов бумаги друг на друга.

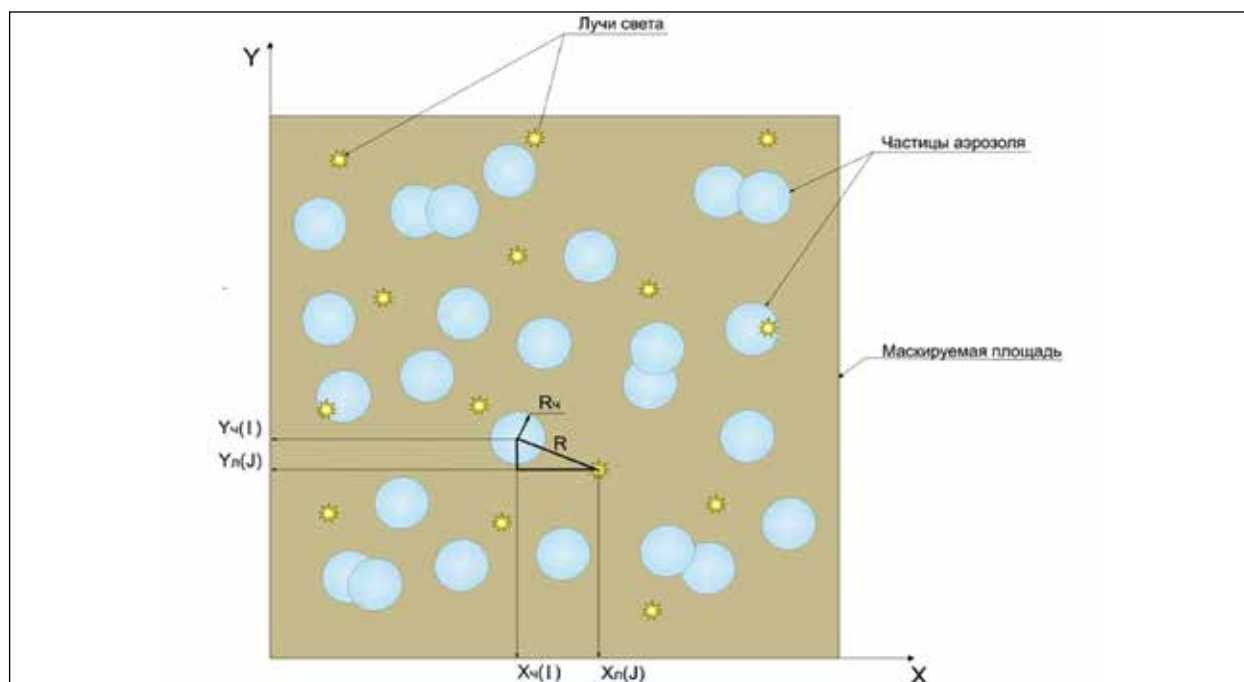


Рисунок 2 – Схема расчетов маскировки единичной площади частицами заданного радиуса (R_c) (предложена авторами)

Поскольку проведение эксперимента при помощи бумаги в достаточной степени затруднительно, то в дальнейшем использовали ПЭВМ [13].

Теоретические расчеты для маскировки 1 м^2 (10^4 см^2).

Исходное количество непрозрачного АОС – 1 см^3 . Для маскировки 1 м^2 (10^4 см^2) необходимо 1 см^3 разделить на 10^4 слоев с толщиной слоя – 1 мкм . Если эти слои вплотную разместить на 1 м^2 , то маскировка будет полной. Этот эффект не изменится, если каждый слой разделить на равные части с ребром 1 мкм . Из одного слоя таким образом можно получить 10^8 частей. А всего из 1 см^3 – 10^{12} частей, которые идеально равномерно соединенные друг с другом в одной плоскости замаскируют 1 м^2 . Количество шариков с диаметром 1 мкм из 1 см^3 АОС будет вдвое больше указанного количества частей.

Алгоритм расчетов и исходные данные проведения расчетов на ПЭВМ.

Начальное количество АОС (V , см^3) и диаметр частиц ($2 \times R_c$, мкм).

Определяем N , которое образуется из данного объема АОС, используемого для маскировки 1 м^2 через объем одной частицы заданного диаметра. При помощи датчика случайных и равномерных чисел (ДСЧР) центры этих частиц случайно и равномерно распределяются на условно маскируемой площади 1 м^2 : в пределах квадрата со сторонами $(100 \times 100) \text{ см}^2$, представленного на рисунке 2. Поскольку исходный раз-

мер частицы задается в микрометрах, то размерность сторон квадрата будет равна 10^6 мкм , а исходный объем АОС (V , см^3) будет равен $V \times 10^{12} \text{ мкм}^3$. Сущность распределения заключается в задании координат частиц по оси абсцисс (X) и ординат (Y), направленных по сторонам маскируемой площади (1 м^2) посредством использования ДСЧР при генерировании им значений от 0 до 1 в первом цикле по переменной I ($I = 1, N$) получим выражения (1) и (2):

$$X_c(I) = \text{ДСЧР} \times 10^6 \quad (1)$$

$$Y_c(I) = \text{ДСЧР} \times 10^6 \quad (2)$$

Поскольку реальное распределение частиц происходит в трехмерном пространстве (ось Z) и при маскировке осуществляется проекция света на объект, то третьей координатой частицы, перпендикулярной плоскости наблюдения объекта (линия визирования вдоль оси Z) можно пренебречь.

Во втором цикле по переменной J ($J = 1, 100$) таким же образом распределяем координаты световых лучей, попадающих под прямым углом на маскируемую площадь (по оси Z количество лучей – 100). (3) и (4):

$$X_n(J) = \text{ДСЧР} \times 10^6 \quad (3)$$

$$Y_n(J) = \text{ДСЧР} \times 10^6 \quad (4)$$

В третьем расчетном двойном цикле (внутренний по переменной I – частицы, внешний по лучам света – J) определяется эффективность маскировки по усло-

вию: если расстояние между частицей и лучом (R) меньше радиуса частицы (R_q), то имеет место поглощение (отражение, рассеивание) луча (см. рисунок 1).

Расчет R (определение длины гипотенузы через сумму квадратов катетов) производится посредством (5):

$$R = ((X_q(I) - X_n(J))^2 + (Y_q(I) - Y_n(J))^2)^{0.5} \quad (5)$$

Отношение суммы поглощенных лучей к их общему количеству (100) принимается за эффективность маскировки. Отметим, что маскировка зависит от освещенности, подвижности объекта, его размеров, контрастности фона и т. д. При прочих равных условиях, чем выше доля поглощенных световых лучей, тем эффективнее маскировка. В реальности количество фотонов видимого спектра, проникающих в моделируемую площадь при любой освещенности местности, намного больше выбранных условных 100 лучей света. Поэтому выбор для моделирования 100 лучей может вызвать сомнение.

Однако, для набора статистики, доля поглощенных лучей (прошедших беспрепятственно через массу аэрозоля), которая соответствует доле закрытой (открытой) для света площади, достаточна. Использование указанного количества лучей на площади маскировки. В корректности данного предположения можно убедиться, если в предложенном алгоритме продолжить счет за счет нового цикла, например, по 1000 условных лучей (без изменения первоначально заданных координат частиц аэрозоля). Полученные результаты эффективности маскировки (при 100 лучах и 1000) будут отличаться не более чем на несколько процентов.

Используемый ДСЧР должен генерировать расчеты с точностью, как минимум, на два знака после запятой больше N , для корректности получаемого результата.

При удельном расходе АОС в 1 см^3 и размере радиуса частиц на уровне 1 мкм , количество итераций приближается к 10^{14} и занимает продолжительное время. Для со-

кращения времени можно расчетную площадь уменьшить в 1000 раз ($3,33 \times 3,33 \text{ см}^2$). Но при этом, сохраняя прежний удельный расход АОС ($\text{см}^3/\text{м}^2$), необходимо исходное количество вещества уменьшить также в 1000 раз. Во столько же раз снизится количество частиц и расчетных итераций, а значит и время решения задачи.

Корректность этой замены проверяется при помощи распределения частицы аэрозоля на площади 1 м^2 , а затем разделения этой площади на 10 полос по 10 см. В цикле проверки количества частиц, попавших в каждую полосу, необходимо разделить их на N для того, чтобы убедиться, что доля попавших частиц в каждую полосу различается незначительно. Аналогичные расчеты можно провести и для 5–7 окружностей (10 см^2 , радиус рассчитать из площади), распределенных произвольно в разных местах на площади 1 м^2 . Использование ДСЧР для распределения окружностей на площади может привести к ситуации, когда часть площади сечения круга выйдет за моделируемый квадрат маскировки, что приведет к некорректным результатам. Для избегания получения некорректных результатов необходимо вводить проверку условия «невыхода» или задать координаты центра «вручную», как исходные данные. В результате расчетов сравниваются доли частиц, попавших в эти круги (заданного радиуса). Значение разницы долей должно быть незначительным (не более доли процентов). Эти расчеты позволяют оценить корректность используемого ДСЧР (который должен относительно равномерно распределять частицы аэрозоля по площади, а не преимущественно в одну область) и подтвердить возможность моделировать маскировку, используя небольшие по площади квадраты, но при сохранении удельного расхода АОС ($\text{см}^3/\text{м}^2$ или $\text{г}/\text{м}^2$ с учетом плотности АОС – $\text{г}/\text{см}^3$).

Результаты расчетов по предложенному алгоритму приведены в таблицах 1 и 2, а также на рисунке 2.

Как следует из данных, представленных в таблице 1, приращение удельного расхода АОС

Таблица 1 – Вероятность маскировки объекта частицами с диаметром 3 мкм при изменении удельного расхода АОС

Номер итерации	Удельный расход АОС, $\text{см}^3/\text{м}^2$		
	0,72	1,44	2,16
1	32%	45%	61%
2	29%	53%	61%
3	39%	49%	72%
4	27%	49%	71%
5	-	46%	-
Средняя вероятность	31,75%	48,4%	66,25%

Таблица 2 – Вероятность маскировки объекта частицами с диаметром 8 мкм при изменении удельного расхода АОС

Номер итерации	Удельный расход АОС, см ³ /м ²						
	0,72	1,44	2,16	2,88	3,6	4,32	5,04
1	10%	25%	32%	44%	48%	58%	61%
2	20%	20%	33%	40%	48%	54%	54%
3	16%	30%	31%	42%	57%	53%	69%
4	10%	17%	30%	36%	50%	61%	60%
5	18%	26%	-	-	-	-	-
Средняя вероятность	14,8%	23,6%	31,5%	40,5%	50,75%	56,5%	60%

вдвое (от 0,72 до 1,44 см³/м²) увеличивает вероятность маскировки частицами дыма 3 мкм – только в 1,5 раза (от 32 до 48 %).

Аналогичное повышение расхода АОС для частиц 8 мкм обуславливает более значительный прирост маскировки (от 15 до 24 %), что выше на 0,65 от начального значения. Этот эффект объясним следующим: при увеличении радиуса почти в три раза, исходное количество частиц при равном удельном расходе АОС снижается почти в 20 раз, поэтому меньшее количество крупных частиц взаимно экранируются в меньшей степени. Повышение расхода АОС в семь раз (8 мкм) увеличивает эффективность маскировки только в 4 раза (таблица 2).

Большой практический интерес представляет диаграмма на рисунке 3.

Эффективность маскировки объекта частицами с радиусом 3 мкм почти в 2 раза выше, чем частицами 8 мкм при равных расходах АОС в диапазоне от 0,72 до 2,16 см³/м². А при расходе АОС (2,16 см³/м²) эффективность маскировки частицами 8 мкм (32 %) равна частицами 3 мкм при расходе втрое меньшем – 0,72 см³/м² (32 %).

При проверке корректности используемого датчика случайных чисел выяснилось, что изменение количества частиц, попадающих в заданные области, с размерами 10 см² на исследуемой площади (100×100) см² составляет от 0,0084 % (при 100 млн. частиц) до 0,233 % (при 100 тыс. частиц). Аналогично, изменение долей частиц, попадающих в заданные области, с размерами (1×1) см² моделируемой площади маскировки (100×100) см² составляет от 0,0046 % (при 100 млн. частиц) до 0,17 % (при 100 тыс. частиц). При проверке корректности ДСЧР переводить сантиметры в микрометры не обязательно.

В целом, отличия общего количества частиц, попадающих в малые площадки, не превышают 0,24 % (относительно средней величины количества частиц в них), что говорит о достаточной корректности работы используемого ДСЧР. Но при этом сохраняется случайный характер распределения частиц во всех локальных областях

моделируемой площади маскировки, что следует из результатов анализа изменения вероятности при каждой итерации, которая в среднем варьируется в пределах 10–20 % от их математического ожидания (таблицы 1 и 2).

Приведенные расчеты пока недостаточны относительно полноты статистики, но иллюстрируют работоспособность способа, который может быть проверен при сопоставлении практических измерений ослабления фотопотока на испытательных стендах при строго фиксированных (калиброванных) размерах частиц и величины интегральной концентрации этих частиц (см³/м² или г/м²).

Исходя из полученных результатов следует, что необходимо в максимальной степени добиваться от средств маскировки рациональных режимов аэрозолеобразования, обуславливающих формирование частиц, близких по диаметру к 2 мкм для скрытия объектов в оптическом диапазоне.

Например, снижение диаметра частиц в 2 раза эффективнее, чем увеличение расхода АОС в 2 раза (в ТДА или генераторах) или его объема в шашке при прочих равных условиях. При маскировке объекта частицами 3 мкм при расходе АОС 0,72 см³/м² вероятность маскировки равна 32 %, а частицами с радиусом 6 мкм и удвоенном расходе 1,44 см³/м² – 30,5 % соответственно. При сравнении маскировки частицами 4 и 8 мкм и аналогичных расходах вероятности маскировки равны 28 и 25 % соответственно (см. рисунок 3).

Таким образом, если шашки или ТДА генерируют размеры частиц с диаметром более 2 мкм, то необходимо оптимизировать режимы аэрозолеобразования, даже за счет уменьшения в них количества АОС (увеличение горючего состава), изменения расхода АОС в единицу времени и т. д. Увеличение эффективности маскировки при этом можно доказать расчетами по приведенному способу. Поэтому предложения по изменению режима дымопуска (два сопла у ТДА или вращающиеся устройства на горловине шашек для расширения начального разме-

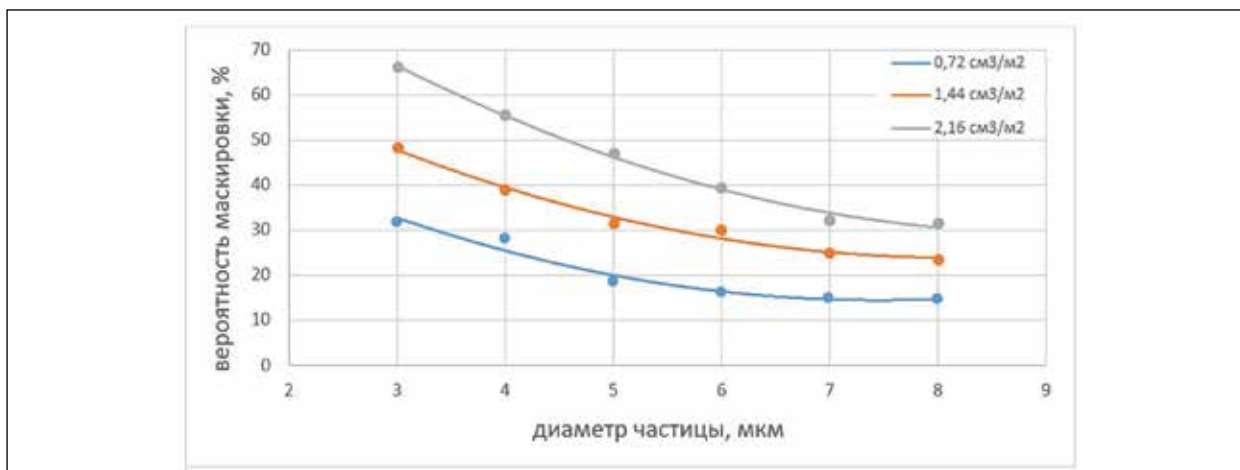


Рисунок 3 – Зависимость эффективности маскировки от размеров частиц и удельного расхода АОС (предложена авторами)

ра струи), оправданы лишь тогда, если они не повышают размер образуемых частиц. Но при оптимизации размера частиц возникает другая проблема в корректности определения их среднего размера. Прямые измерения этого параметра, наверное, затруднены, поэтому разработка непрямых (косвенных) методов и соответствующих устройств определения этого параметра является актуальной задачей.

Выводы

1. Разработан способ учета дисперсности аэрозоля на его маскирующую способность на основе случайного, равномерного распределения частиц аэрозоля в пространстве для определения доли экранируемой ими площади относительно электромагнитного излучения оптического диапазона.

2. При теоретической оценке эффективности маскировки (по длине не просматриваемой завесы или по площади маскировки) необходимо рассчитывать не только интегральную концентрацию аэрозоля по линии визирования объекта (в горизонтальной и вертикальных плоскостях, G , $\text{см}^3/\text{м}^2$ или $\text{г}/\text{м}^2$), но и учитывать дисперсность аэрозоля, поскольку при эквивалентных концентрациях аэрозоля она оказывает значительное влияние на эффективность маскировки при прочих равных условиях.

3. Дисперсность аэрозоля, формируемая средствами дымопуска (шашки, ТДА и т. д.), является необходимой составляющей ТТХ изделий, а также одним из требований к перспективным разработкам и разработкам средств аэрозольного противодействия.

Вклад авторов/Authors Contribution

К.Д.П. Постановка задачи на написание статьи, приведение терминологии к требованиям руководящих документов / Setting the task for writing an article, bringing the terminology to the requirements of guidance documents

П.В.Н. Постановка задачи эксперимента, замысел эксперимента на ПЭВМ, разработка алгоритма расчета показателя эффективности маскировки объектов аэрозолями, написание текста статьи / Statement of the experimental problem, the concept of the experiment on a PC, development of an algorithm for calculating the efficiency indicator for masking objects with aerosols, writing an article

Г.М.А. Корректировка аннотации статьи, разработка иллюстративного материала, формулировка выводов / Annotation of the article, development of illustrative material, formulation of conclusions

Б.Д.Н. Участие в отладке расчетной программы на ЭВМ. Логистическая проверка результатов расчетов, их обобщение и представление в виде таблиц и рисунков / Participation in the debugging of the calculation program on the computer. Logistic verification of calculation results, their generalization and presentation in the form of tables and figures.

А.И.В. Разработка программы на языке PYTHON (Версия 3.7.3), выполнение всех расчетов, нахождение способов и приемов сокращения машинного времени решения задачи. Проверка корректности используемого датчика случайных равномерных чисел для моделирования процесса хаотичного распределения частиц аэрозоля в пространстве / Developing a program in the PYTHON language (Version 3.7.3), performing all calculations, finding ways and techniques to reduce the computer time for solving the problem. Checking the correctness of the used generator of random uniform numbers for modeling the process of chaotic distribution of aerosol particles in space.

Все авторы внесли существенный вклад в осуществление поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до ее публикации / All authors made a significant contribution to the implementation of search and analytical work and preparation of the article, read and approved the final version before its publication.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Список источников/References

1. Fries A., West C. Chemical Warfare. N.Y.: 1921.
2. Ванин И.В. Боевые дымы. ONTI. М.: 1935.
Vanin I.V. Battle smokes. Moscow. 1935 (in Russian).
3. Simon J., Hook R. World war I gas warfare tactics and equipment. Oxford: Osprey Publ., 2007.
4. Wictor Th. German assault troops of World War I. Organisation. Tactics. Weapons. Equipment. Orders of battle. Uniforms. Schiffer Military History, Atglen, PA.: 2012.
5. Глазков В.В. Оружие Великой войны. Гранаты, химическое оружие и огнеметы Российской армии. М. 2018.
Glazkov V.V. Weapons of the Great War. Grenades, chemical weapons and flamethrowers of the Russian army. Moscow. 2018 (in Russian).
6. Малинка А.Н., Анисимов А.В., Карташов А.К. Химическое обеспечение войск в годы Великой Отечественной войны // Вестник Костромского государственного университета. 2020. Т. 26, № 2. С. 77–82.
Malinka A. N., Anisimov A.V., Kartashov A.K. Chemical support of troops during the Great Patriotic War // Bulletin of the Kostroma State University. 2020. V. 26. No 2. P. 77–82 (in Russian).
7. Дмитриев Д.М., Якубов В.Е. Боевой опыт химических войск и химической службы в Великой Отечественной войне 1941–1945 гг. Сборник примеров. М.: Воениздат, 1989. 232 с.
Dmitriev D.M., Yakubov V.E. Combat experience of chemical troops and chemical service in the Great Patriotic War of 1941–1945. Collection of examples. Moscow: Voenizdat, 1989. 232 p. (in Russian).
8. Скибинский Н.П., Осипенко В.Е. Развитие вооружения и организации химических войск в годы второй мировой войны. Учебное пособие. М.: ВАХЗ, 1994. 101 с.
Skibinsky N. P., Osipenko V. E. Development armaments and the organization of chemical troops in the years of the Second World War. Training manual. Moscow: VAKHZ. 1994. 101 p. (in Russian).
9. Красильников М.В., Петров Г.И. История химической службы и войск химической защиты Советской Армии. М.: ВАХЗ, 1958. 135 с.
Krasilnikov M.V., Petrov G.I. History of the chemical service and the chemical defense troops of the Soviet Army. Moscow: VAKHZ, 1958. 135 p. (in Russian).
10. Петров Г.И. Химическая служба Советской Армии в Великой отечественной войне. М.: ВАХЗ, 1948. 132 с.
Petrov G.I. Chemical service of the Soviet Army in the Great Patriotic War. Moscow: VAKHZ, 1948. 132 p. (in Russian).
11. Усиков А.В., Бурутин Г.А., Гаврилов В.А., Ташлыков С.Л. Военное искусство в локальных войнах и вооруженных конфликтах. М. 2008.
Usikov A.V., Burutin G.A., Gavrilov V.A., Tashlykov S.L. Military art in local wars and armed conflicts. Moscow. 2008 (in Russian).
12. Хурса В.Н., Егоров Т.Т. Совершенствование теории, практики и развития войск РХБ защиты. Сборник статей и докладов научно-практической конференции «Совершенствование теории и практики развития войск РХБ защиты». Кострома: ВАРХБЗ, 2019. С. 358–364.
Khursa V.N., Egorov T.T. Improving the theory, practice and development of the NBC protection troops. Collection of articles and reports of the scientific-practical conference «Improving the theory and practice of the development of the NBC protection troops». Kostroma: VARKhBZ, 2019, pp. 358–364.
13. Гребенникова И.В. Методы математической обработки экспериментальных данных. Учебно-методическое пособие. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2015. 124 с.
Grebennikova I.V. Methods of mathematical processing of experimental data. Educational and methodical manual. Yekaterinburg: Ural State University Press, 2015. 124 p. (in Russian).

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13.

Колесников Дмитрий Петрович. Заместитель начальника центра по научно-исследовательской работе, канд. техн. наук, доцент.

Пенязь Владимир Николаевич. Старший научный сотрудник, канд. техн. наук, почетный работник науки и техники РФ.

Голышев Максим Алексеевич. Заместитель начальника отдела, канд. хим. наук.

Буряк Дмитрий Николаевич. Начальник службы.

Артамонов Илья Валерьевич. Научный сотрудник.

Контактная информация для всех авторов: 27nc_1@mil.ru

Контактное лицо: Пенязь Владимир Николаевич, 27nc_1@mil.ru

Effect of Aerosol Dispersion on Its Masking Ability

D.P. Kolesnikov, V.N. Penyaz, M.A. Golyshev, D.N. Buryak, I.V. Artamonov

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Brigadirsky lane 13, Moscow 105005, Russian Federation

Received 14 April 2021. Corrected version 20 July 2021. Accepted 23 September 2021

The improvement of camouflage of troops and objects is necessary in all types of military operations. Aerosol masking is an integral part of this task. The special jamming systems decrease the likelihood of the hit and the destruction of military units (their weapons and equipment) and personnel from enemy weapons. The *aim of this work* is to study the effect of aerosol dispersion on its masking ability. The fraction of the area screened by aerosols relative to the electromagnetic radiation of the optical range was determined on the basis of a random, equal distribution of aerosol particles in space. It has been established that when theoretically evaluating the effectiveness of camouflage (by the length of the blind area or by the area of camouflage), it is necessary to calculate not only the integral concentration of aerosol along the sightline of the object (in the horizontal and vertical planes, G , cm^3/m^2 or g/m^2), but also take into account the dispersion of the aerosol, since at equivalent aerosol concentrations it has a significant effect on the camouflage efficiency. The dispersion of the aerosol formed by means of smoke release (checkers, TDA, etc.) is a necessary component of the tactical and technical characteristics of products, as well as one of the requirements for promising developments and developments of aerosol countermeasures. The article presents the results of computer simulation of the random distribution of aerosol particles in space to assess its screening capacity relative to electromagnetic radiation in the optical range.

Keywords: dispersion of masking aerosols (smoke particles); aerosol camouflage (use of camouflage smoke); means of aerosol camouflage; aerosol camouflage efficiency.

For citation: Kolesnikov D.P., Penyaz V.N., Golyshev M.A., Buryak D.N., Artamonov I.V. Effect of Aerosol Dispersion on Its Masking Ability // *Journal of NBC Protection Corps*. 2021. V. 5. No 3. P. 260–268.  [s://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-3-260-268](https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-3-260-268)

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

References

See P. 266.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Brigadirsky lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

Kolesnikov Dmitry Petrovich. Deputy Head of the Centre. Candidate of Technical Sciences, Associate Professor.

Vladimir Nikolayevich Penyaz. Senior Researcher. Candidate of Technical Sciences. Honoured Science and Technology Worker of the Russian Federation.

Maksim Alekseyevich Golyshev. Deputy Head of the Department. Candidate of Chemical Science.

Dmitrij Nikolaevich Burjak. Head of Service.

Il'ja Valer'evich Artamonov. Researcher.

Contact information for all authors: 27nc_1@mil.ru

Contact person: Vladimir Nikolayevich Penyaz; 27nc_1@mil.ru

Разработка модели выбора базовых изобретений для оценки значимости объектов интеллектуальной собственности при совершенствовании и развитии средств защиты от оружия массового поражения

О.Н. Никонова, Д.В. Фролов, А.И. Сорокин,

Е.Д. Клещенко, Ю.П. Злобина, О.Н. Тяжин

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт»
Министерства обороны Российской Федерации (33 ЦНИИИ МО РФ),
412918, Российская Федерация, г. Вольск-18, Краснознаменная, д. 1

Поступила 17.08.2021 г. Принята к публикации 23.09.2021 г.

Актуальность темы обусловлена необходимостью формирования научно-методического обеспечения процесса выявления перспективных технических решений, осуществляемого в ходе научно-технической экспертизы инновационных проектов военного и двойного назначения в интересах ВС РФ. *Цель работы* – разработать модель выбора базовых изобретений для оценки значимости объектов интеллектуальной собственности, а именно изобретений и полезных моделей, направленных на совершенствование средств защиты от оружия массового поражения. Работа основывается на методах системного анализа и экспертного опроса. В ходе проведенных исследований разработана модель выбора базового изобретения, включающая предварительный отбор изобретений по критерию прогнозной перспективности, оценку формальной, научно-технической и технико-экономической значимости изобретений, расчет показателя интегральной значимости. Для оценки прогнозной перспективности разработаны универсальные формы отбора изобретений, которые представляют собой оценочные таблицы матричного типа, учитывающие различные характеристики изобретений, ранжированные по степени важности; универсальные формы отбора разработаны для каждого вида изобретений («устройство», «способ», «вещество», «применение по новому назначению»), а также групп изобретений («вещество + способ», «устройство + способ»). Для оценки формальной значимости, устанавливаемой по патентно-правовым показателям охранного документа, предложен новый критерий – правовой статус изобретения. В формулу расчета технико-экономической значимости введен коэффициент морального старения, позволяющий повысить точность расчетов. Также обоснован временной интервал, в рамках которого проводится поиск патентных документов для выявления базового изобретения, равный в среднем десяти годам.

Ключевые слова: модель выбора базового изобретения; моральное старение изобретения; научно-техническая значимость изобретения; объект интеллектуальной собственности; патентные исследования; прогнозная перспективность изобретения; средства защиты от оружия массового поражения; технико-экономическая значимость изобретения.

Библиографическое описание: Никонова О.Н., Фролов Д.В., Сорокин А.И., Клещенко Е.Д., Злобина Ю.П., Тяжин О.Н. Разработка модели выбора базовых изобретений для оценки значимости объектов интеллектуальной собственности при совершенствовании и развитии средств защиты от оружия массового поражения // Вестник войск РХБ защиты. 2021. Т. 5. № 3. С. 269–282. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-5-3-269-282>

Разработке научно-методического инструментария по оценке значимости изобретений и других объектов интеллектуальной собственности (ОИС)¹ в настоящее время уделяется большое внимание, поскольку с его помощью возможно решать многие задачи инновационной деятельности, требующие выработки обоснованных управленческих решений, в частности [1]:

- отбор наиболее значимых изобретений для представления на координационные научно-технические советы органов военного управления (с целью определения возможности использования в инновационном проекте);
- обоснование целесообразности приобретения лицензии;
- стоимостная оценка изобретения для установления цены лицензии;
- обоснование целесообразности патентования изобретения за рубежом;
- оценка эффективности инновационной деятельности военных научных организаций;
- определение размера авторского вознаграждения при использовании изобретения;
- стоимостная оценка изобретения для постановки патента на бухгалтер в качестве нематериальных активов.

Следовательно, разработка модели выбора базовых изобретений (БИ)² для оценки их значимости при совершенствовании и развитии средств защиты от оружия массового поражения (ОМП) является важной научно-практической задачей.

Под значимостью изобретения в литературе понимается некая характеристика его ценности, которая определяется следующими факторами [2]:

- влиянием изобретения на технико-экономические показатели продукции, в которой оно используется или намечается к использованию;
- соответствием изобретения требованиям потребителей к продукции, в которой оно используется;
- широтой правовой охраны (количеством стран патентования);
- степенью разработанности изобретения (его готовности к промышленному освоению);
- соответствием изобретения тенденциям развития рынка продукции;

- влиянием изобретения на затраты, связанные с производством соответствующей продукции;

- объемом использования изобретения;
- сложностью решаемой с помощью изобретения технической задачи;
- степенью новизны изобретения и др.

Такое множество факторов объясняет наличие большого количества методов оценки значимости изобретений. Так, Э.П. Скорняковым предложено выделять следующие виды значимости изобретений: на основе формальных патентно-правовых показателей, научно-техническую, технико-экономическую и коммерческую [2].

Также известны многоуровневые классификации изобретений, предложенные Г.С. Альтшуллером [3], В. Поляковым [4], А.Д. Корчагиным [5], А.Д. Московченко [6]. В.И. Авдзейко с соавт. [7] предложили выявлять перспективные и прорывные технологии развития конкретных технологических направлений по динамике изменения количества выдаваемых патентов в анализируемых тематиках.

В зарубежной практике широко используется система предварительной оценки инноваций на основе многокритериального подхода и двухступенчатой системы отбора перспективных изобретений. Основными критериями для отбора перспективных инноваций являются рыночные параметры: динамика спроса на определенный продукт, оценка рыночного риска, состояние конкуренции, требуемые инвестиции, обеспеченность ресурсами и др.³ [8].

В любом случае оценка значимости строится на сопоставительном анализе оцениваемого изобретения с базой сравнения, в качестве которой выступает лучшее (наиболее эффективное и ценное в коммерческом отношении) изобретение ведущей отечественной или зарубежной фирмы того же назначения – БИ. В России в настоящее время официально признан и используется единственный метод выбора БИ, разработанный Э.П. Скорняковым 10 лет назад и имеющий некоторые недостатки, снижающие его научно-практическую ценность [1].

Во-первых, при определении значимости на основе формальных патентно-правовых показателей не учитывается правовой статус патентного документа. Во-вторых, временной

¹ В соответствии со ст. 128 Гражданского кодекса Российской Федерации (ГК РФ), к объектам интеллектуальной собственности относятся охраняемые результаты интеллектуальной деятельности (РИД) и приравненные к ним средства индивидуализации. Ст. 1225 ГК РФ содержит перечень охраняемых РИД и средств индивидуализации, в том числе изобретения, полезные модели, промышленные образцы, программы для ЭВМ, товарные знаки и др.

² Базовое изобретение – наиболее эффективное и ценное в коммерческом отношении изобретение ведущей отечественной или зарубежной фирмы. Используется в качестве базы сравнения.

³ С обзором таких методов и состоянием патентного анализа на Западе можно ознакомиться по работе А. Abbas с соавт. [9].

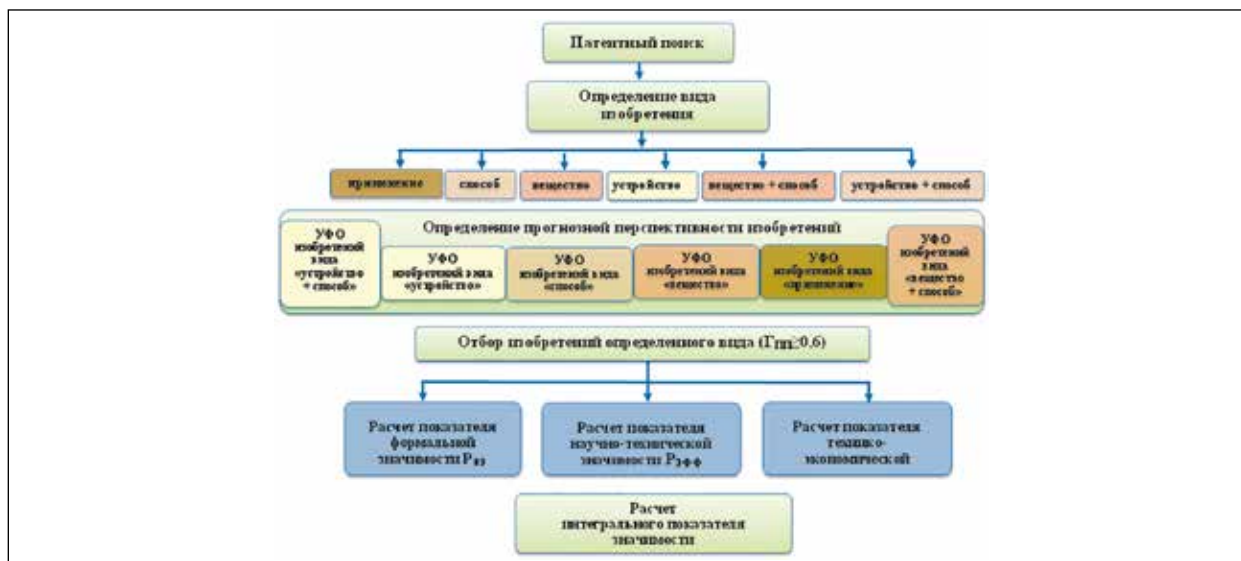


Рисунок 1 – Схема алгоритма выбора базовых изобретений (составлена авторами статьи) [10, 11]

интервал поиска БИ не учитывает специфику разработки объектов вооружения и военной техники и ограничивался пятью–семью годами. В-третьих, оценка технико-экономической значимости БИ осуществляется без учета степени его морального старения.

Цель работы – разработать модель выбора базовых изобретений⁴ для оценки значимости объектов интеллектуальной собственности, используемых при совершенствовании средств защиты от ОМП. Поставленная цель обусловила логику изложения и определила следующие задачи:

- разработать универсальные формы отбора (УФО) изобретений для определения их прогнозной перспективности;
- разработать методический подход по оценке значимости изобретений на основе интегрального показателя, включающего отбор изобретений по показателю прогнозной перспективности, оценку формальной, научно-технической и технико-экономической значимости отобранных изобретений.

Объектом исследования являются изобретения и полезные модели в области средств защиты от ОМП. Структурная схема алгоритма исследований по выбору БИ представлена на рисунке 1.

В соответствии с алгоритмом, приведенным на рисунке 1, на начальном этапе выбора БИ проводится патентный поиск. Для патент-

ных исследований⁵, проводимых с целью отбора наиболее значимых изобретений, география патентного поиска, как правило, включает страны, занимающие ведущее место в мире, временная глубина поиска ограничена 5–7 годами. Считается, что дата подачи заявки на оцениваемое изобретение не должна отличаться от даты подачи БИ на временной интервал, превышающий средние сроки обновления продукции в соответствующей области [1]. Применительно к средствам защиты от ОМП такой подход представляется не совсем корректным, так как средние сроки совершенствования образцов иногда могут существенно отличаться от сроков обновления и находиться в интервале от 8 до 11 лет.

Для примера на рисунках 2 и 3 представлена общая картина динамики развития и совершенствования фильтрующих противогазов (ФП), из которых следует, что средний показатель времени совершенствования образцов средств индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД) в Российской Федерации и США – 8,5 и 10,2 лет соответственно.

В качестве общего периода, в котором могут рассматриваться изобретения с целью их дальнейшего анализа и оценки, целесообразно принять период совершенствования образца (t_c) исследуемого изделия (в среднем – 10 лет), с отхождением от года приоритета оцениваемого изобретения ($t_{он}$) на пять лет как в сторону уменьшения, так и в

⁴ Учитывая, что полезная модель отличается от изобретения тем, что относится исключительно к устройству и не обладает изобретательским уровнем (достаточной сложностью решения изобретательской задачи), имеет смысл использовать слово «изобретение», подразумевая при этом и полезные модели в случае оценки технических решений, относящихся к устройству.

⁵ ГОСТ Р 15.011-96 Система разработки и постановки продукции на производство. Патентные исследования. Содержание и порядок проведения. М.: Изд-во стандартов, 1996.



Рисунок 2 – Динамика развития отечественных фильтрующих противогазов (данные и рисунок авторов)

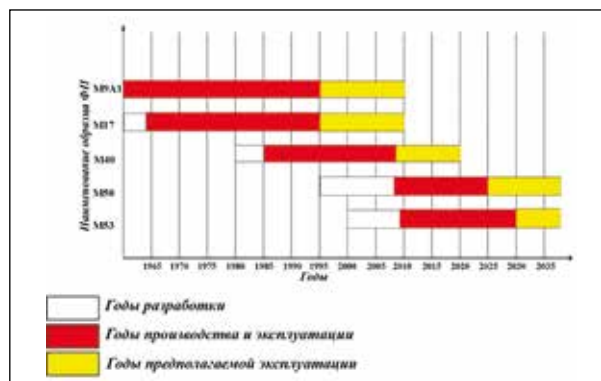


Рисунок 3 – Динамика развития фильтрующих противогазов США (данные и рисунок авторов)

сторону увеличения. Схема определения временного интервала при выборе базового изобретения представлена на рисунке 4.

Предложенный подход может использоваться при выборе базы сравнения изобретения для любого вида средств защиты от ОМП.

Универсальные формы отбора изобретений

Для отбора наиболее ценного в плане дальнейшей реализации изобретения следует отсеять неперспективные изобретения, применив инструмент, выполняющий роль «инновационного фильтра». С этой целью в 33 ЦНИИИ МО РФ разработана универсальная форма отбора изобретений, построенная на основе генеральной определительной таблицы матричного типа В.Г. Гмошинского, которая включает в себя восемь безразмерных характеристик изобретения ($i_1, i_2, \dots, i_8$), каждая из которых, в свою очередь, разбивается на позиции, формулирующиеся в нарастающем смысловом отражении так, что

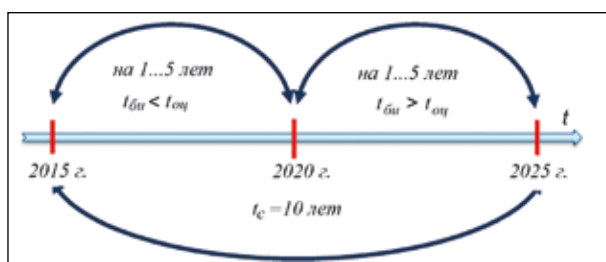


Рисунок 4 – Схема определения временного интервала для выбора базового изобретения (составлена авторами статьи)

последующая позиция включает смысл предыдущей или имеет преимущество по значимости. Оценочные характеристики УФО (g_{okp}, g_{oj}) и их ранжированная последовательность получены в результате экспертного опроса⁶. Оценка технического решения, скорректированная по весу характеристики, получается в результате умножения базисного значения оценок на функцию, нормирующую вес характеристик [12].

УФО изобретений для совершенствования и развития средств защиты от ОМП включает следующие характеристики:

- степень воздействия изобретения на ТТХ (i_1);
- степень оригинальности технического решения (i_2);
- степень воздействия изобретения на надежность (i_3);
- конъюнктурно-лицензионный фактор (i_4);
- технико-экономический фактор (i_5);
- степень воздействия изобретения на живучесть или стойкость к внешним воздействиям (i_6);
- степень соответствия изобретения требованиям по стандартизации и унификации (i_7);
- степень воздействия изобретения на эргономические и технико-эстетические характеристики (i_8).

Фрагмент УФО изобретений представлен на рисунке 5.

В ходе апробации УФО изобретений⁷ было установлено, что она позволяет проводить оценку перспективности изобретений, относящихся только к устройству. Между тем,

⁶ Порядок формирования экспертной группы включает определение компетентности эксперта, учитывающей аргументированность и осведомленность каждого эксперта, после чего делается вывод о репрезентативности экспертной группы. После проведения опроса по проблеме с помощью коэффициента конкордации Кендалла оценивается согласованность экспертов [13]. По результатам проведенных исследований мнение экспертов о влиянии выявленных характеристик на значимость изобретения можно считать компетентным и согласованным, группу экспертов следует признать репрезентативной.

⁷ Апробация разработанных УФО изобретений проводилась в рамках патентных исследований по ряду плановых НИР.

Характеристика	Вес характеристики V_i	Наименование позиции	Оценки	
			базисная g_{0i}	окончательная g_{okj}
Степень воздействия изобретения на ТТХ (i)	1	1. Изобретение направлено на улучшение технических характеристик, не являющихся определяющими для конкретного вида изделия	1	1
		2. Улучшение основных технических характеристик, являющихся определяющими для конкретного вида изделия	2	2
		3. Улучшение отдельных (одной-трех) ТТХ для конкретного вида изделия в соответствии с его тактическим предназначением	3	3
		4. Улучшение комплекса (свыше трех) ТТХ для конкретного вида изделия в соответствии с его тактическим предназначением	4	4
		5. Достижение качественно новых ТТХ в известном виде изделия	5	5
		6. Достижение качественно новых ТТХ во вновь проектируемом изделии	6	6
Степень оригинальности технического решения (j)	0,835	1. Применение известных признаков, прямо предназначенных для достижения поставленной цели	1	0,835
		2. Применение известных средств по новому назначению	2	1,670
		3. Усовершенствование технического решения, содержащего новые признаки	3	2,505
		4. Значительное усовершенствование технического решения, содержащего новые признаки предыдущей позиции (отдельно или в сочетании)	4	3,340
		5. Новое техническое решение, коренным образом совершенствующее традиционный принцип технического решения задачи	5	4,175
		6. Принципиально новое техническое решение, имеющее смысл открытия в данной области науки	6	5,010

Рисунок 5 – Фрагмент универсальной формы отбора изобретений (составлена авторами статьи)

для инновационного развития средств защиты от ОМП имеют значение следующие виды изобретений: устройство, способ, вещество, применение по новому назначению, а также группы изобретений⁸; для каждого вида изобретений характерен свой набор оценочных критериев, учитывающий особенности объекта патентования и характер решения изобретательской задачи. Позднее, по мере проведения исследований в данном направлении, были разработаны специальные оценочные таблицы для каждой категории изобретений. Работа строилась на выявлении признаков, характеризующих отдельные виды изобретений, ранжировании их в соответствии со значением в порядке убывания и присвоении каждому признаку весовой характеристики; все оценочные характеристики и весовые коэффициенты определялись методом экспертных оценок [11].

Разработка методического подхода по оценке значимости изобретений на основе интегрального показателя

Оценка значимости изобретений на основе интегрального показателя предполагает проведение оценочных исследований по следующим характеристикам:

- прогнозная перспективность;
- формальная значимость;
- научно-техническая значимость;
- технико-экономическая значимость.

Прогнозная перспективность. Для определения прогнозной перспективности предложено использовать универсальные формы отбора изобретений, выбирая для каждого вида изобретений соответствующую УФО. Оценка изобретений производится по формуле [12]

$$g_{okj} = V_i \times g_{0j} \quad (1)$$

где V_i – «вес» i -й характеристики;
 g_{0j} – базисная оценка i -й характеристики.

Коэффициент прогнозной перспективности технических решений ГПП вычисляется по формуле

$$\Gamma_{\text{ПП}} = \sum g_{okj} / \sum g_{okj \max} \quad (2)$$

где $\sum g_{okj}$ – сумма окончательных оценок всех характеристик;

$\sum g_{okj \max}$ – сумма максимальных окончательных оценок всех характеристик.

Коэффициент прогнозной перспективности может колебаться в пределах от 0,20 до 1,0. В соответствии с шкалой категорий перспективных прогнозов, представленной в таблице 1, технические решения с коэффициентами $\Gamma_{\text{ПП}}$ от 0,60 до 0,79 («перспективно») и от 0,80 до 1,0 («весьма перспективно») отбираются для последующего анализа [12]. Технические решения с коэффициентом $\Gamma_{\text{ПП}} < 0,60$ не принимаются к

⁸ Изобретения с несколькими пунктами формулы, которые образуют единый изобретательский замысел. В 33 ЦНИИИ МО РФ патентуются изобретения видов «вещество+способ» и «устройство + способ».

Таблица 1 – Шкала категорий перспективных прогнозов

Ранг значимости, R	Прогнозируемая перспективность изобретения
1,0–0,80	Весьма перспективные
0,79–0,60	Перспективные
0,59–0,40	Малоперспективные
0,39–0,20	Неперспективные

Таблица 2 – Количественные показатели формальной значимости

Наименование показателя	Что характеризует
Количество независимых пунктов формулы изобретения	Объем правовой охраны. Чем больше объем правовой охраны, тем большее влияние может оказать данное изобретение на технический уровень соответствующих образцов
Количество стран патентования (для заявок ВОИС и ЕПВ)	Характеризует широту правовой охраны изобретения и его коммерческую значимость
Количество чертежей	Определяет степень разработанности изобретения
Количество ссылок на источники информации, учтенные в процессе экспертизы	Характеризует уровень информационной обеспеченности процесса создания и правовой охраны изобретения, что сводит к минимуму риски, связанные с возможностью аннулирования патента
Количество классификационных рубрик МПК	Характеризует то обстоятельство, что теоретические основы создания изобретения базируются на знаниях из различных областей науки и техники

дальнейшему рассмотрению как малоперспективные.

Все последующие расчеты проводятся в отношении изобретений с $\Gamma_{\text{ипп}} \geq 0,6$.

Формальная значимость изобретения оценивается на основании патентно-правовых показателей, извлекаемых из реферативно-библиографических данных патентов, а также из содержания описания, чертежей и формулы изобретения [1]. Количественные показатели формальной значимости $P_{\text{фз}}$ представлены в таблице 2.

Данный перечень предложено дополнить еще одним критерием формальной значимости, характеризующим правовой статус изобре-

тения, численные значения которого определялись методом экспертных оценок (таблица 3).

Все указанные показатели формальной значимости изобретений имеют количественное выражение и допускают сравнение, что обеспечивает возможность расчета обобщенного показателя формальной значимости $P_{\text{фз}}$, для чего используют метод перевода значений в баллы, в соответствии с которым первоначальные значения ранжируют в порядке их убывания, а затем переводят в баллы, при этом первому рангу присваивают максимальное количество баллов, равное числу оцениваемых изобретений [1]. В таблице 4 показан пример оценки формальной значимости изобретений на материале фильтрующе-поглощающих коро-

Таблица 4 – Значения показателя «правовой статус изобретения»

Правовой статус изобретения		Значение, ед.
Заявка подана		1
Решение о выдаче патента		2
Решение об отказе в выдаче патента		-
Патент получен:	действует в течение 3 лет	2
	действует свыше 3 лет (поддерживается в силе)	3
	досрочно прекратил действие из-за неуплаты патентной пошлины	1,5

Таблица 5 – Профиль требований к перспективному образцу фильтрующе-поглощающей коробки

Наименование технического показателя	Коэффициент весомости K_i
Повышение надежности	0,27
Увеличение времени защитного действия	0,22
Сорбционная емкость	0,16
Снижение массо-габаритных характеристик	0,14
Уменьшение сопротивления дыханию	0,11
Повышение эргономических параметров (время пребывания, комфортность)	0,10
Итого	1

бок (ФПК) для средств индивидуальной защиты органов дыхания фильтрующего типа⁹.

Научно-техническая значимость. Показатель научно-технической значимости $P_{эфф}$ ¹⁰ отобранных изобретений рассчитывают по формуле [1]

$$P_{эфф} = 1 + \sum K_i, \quad (3)$$

где 1 – показатель технического уровня базового образца продукции;

$\sum K_i$ – сумма коэффициентов весомости технических показателей образца, которые улучшаются при использовании изобретения.

В основе формулы лежит технический показатель (ТП) разрабатываемого или совершенствуемого образца, имеющий определенный вес. Коэффициенты весомости ТП содержатся в профиле требований¹¹ потребителя к продукции. Профиль требований к ФПК был составлен в результате патентно-статистического анализа описаний изобретений, а именно тех разделов описаний, где указаны недостатки предшествующих технических решений (аналогов) и сформулированы задача и цель изобретения¹². С учетом того, что сумма коэффициентов весомости всех улучшаемых технических показателей должны быть равна единице, используется формула [15]

$$K_i = Q_i / Q, \quad (4)$$

где K_i – коэффициент весомости ТП;

Q_i – количество охранных документов, относящихся к i -му ТП;

Q – общее количество патентных документов.

На основании расчета коэффициентов весомости ТП составляется «профиль требований» к перспективному образцу в исследуемой области, после чего по формуле (3) рассчитывают научно-техническую значимость $P_{эфф}$ каждого из отобранных с помощью УФО изобретений.

Оценка научно-технической значимости изобретений рассмотрена на примере патентного материала, относящегося к фильтрующе-поглощающей коробке (ФПК) для СИЗОД. В таблице 5 представлен профиль требований к перспективному образцу ФПК¹³, в таблице 6 – оценка научно-технической значимости изобретений, отобранных в результате патентного поиска.

Технико-экономическая значимость. Показатель технико-экономической значимости изобретения рассчитывают по формуле [1]

$$P_{тэ} = (1 + \sum K_i) / Z_0, \quad (5)$$

где $\sum K_i$ – сумма коэффициентов весомости тех ТП, которые улучшаются при использовании изобретения в сравнении с базовым образцом;

Z_0 – относительные затраты на производство образца, определяемые по формуле

⁹ Никонова О.Н., Шведова В.В. Разработка методики оценки интегральной значимости изобретений: выпускная квалификационная работа. М.: РГАИС, 2018. 125 с.

¹⁰ Научно-техническая значимость характеризует степень влияния изобретения на технический уровень продукции, в которой оно используется [1].

¹¹ Профиль требований конкретного вида продукции включает перечень ТП этой продукции с указанием соответствующих им коэффициентов весомости. Составленный на основе анализа патентных описаний «профиль требований» может служить основой для принятия важнейших решений в области технической и коммерческой политики предприятия-производителя [14].

¹² Профиль требований может быть получен и другим способом – с помощью экспертного опроса.

¹³ Никонова О.Н., Шведова В.В. Разработка методики оценки интегральной значимости изобретений: выпускная квалификационная работа. М.: РГАИС, 2018. 125 с.

Таблица 6 – Оценка научно-технической значимости отобранных технических решений

Номера российских патентов	Улучшаемый ТП и коэффициент его весомости						Показатель научно-технической значимости изобретений $P_{эфф}$
	Повышение надежности $K_1 = 0,27$	Увеличение времени защитного действия $K_2 = 0,22$	Сорбционная емкость $K_3 = 0,16$	Снижение массогабаритных характеристик $K_4 = 0,14$	Уменьшение сопротивления дыханию $K_5 = 0,11$	Повышение эргономических параметров $K_6 = 0,10$	
2404830	+						$1 + K_1 = 1,27$
2625243	+	+					$1 + K_1 + K_2 = 1,49$
2392989	+	+		+	+	+	$1 + K_1 + K_2 + K_4 + K_5 + K_6 = 1,84$
109975	+					+	$1 + K_1 + K_6 = 1,37$
2554793	+						$1 + K_1 = 1,27$
2585566	+	+			+	+	$1 + K_1 + K_2 + K_5 + K_6 = 1,70$

$$Z_o = Z_i / Z_{60}, \quad (6)$$

где Z_i – затраты на изготовление единицы изделия с использованием оцениваемого изобретения;

Z_{60} – затраты на изготовление единицы базового образца изделия (образца продукции аналогичного назначения и области применения).

Впоследствии, при расчете технико-экономической значимости было предложено учитывать коэффициент морального старения изобретения¹⁴, обусловленного научно-техническим прогрессом. В результате формула расчета технико-экономической значимости изобретений ($P_{тэ}$) приобрела следующий вид

$$P_{тэ} = (1 + \sum K_i) / Z_o \cdot K_{MC}, \quad (7)$$

где K_{MC} – коэффициент морального старения, определяется по формуле

$$K_{MC} = 1 - T_{ф} / T_{н}, \quad (8)$$

где $T_{ф}$ – фактический срок действия охранного документа на дату оценки;

$T_{н}$ – номинальный срок действия охранного документа (для изобретения – 20 лет, полезной модели – 10 лет).

Для примера в таблице 7 представлены результаты оценки технико-экономической значимости изобретений, относящихся к ФПК, при этом следует учитывать, что относительные затраты на производство образца определялись методом экспертного опроса, который показал, что отношение затрат, связанных с производством единицы продукции на основе оцениваемого изобретения, к затратам, связанным с производством единицы продукции базового образца, колеблется в пределах от 1,5 до 2,5.

Определение интегрального показателя значимости. На заключительном этапе исследований выбирают базовое изобретение по наибольшему значению интегрального

Таблица 7 – Результаты оценки технико-экономической значимости отобранных технических решений

Номера патентов	Дата приоритета	Показатель научно-технической значимости изобретений $P_{эфф}$	Показатели технико-экономической значимости изобретений $P_{тэ}$
2404830	28.07.2008	1,27	$1,27/2 \cdot (1 - 13/20) = 0,22$
2625243	25.10.2013	1,49	$1,49/2,5 \cdot (1 - 5/20) = 0,45$
2392989	27.06.2008	1,84	$1,84/1,0 \cdot (1 - 13/20) = 0,64$
109975	16.10.2013	1,37	$1,37/2,5 \cdot (1 - 7/10) = 0,16$
2554793	27.02.2012	1,27	$1,27/1,5 \cdot (1 - 9/20) = 0,47$
2585566	20.01.2012	1,70	$1,70/2,5 \cdot (1 - 9/20) = 0,37$

¹⁴ Формула расчета коэффициента морального старения используется при оценке стоимости объектов интеллектуальной собственности [1, 14].

Таблица 8 – Результаты оценки значимости отобранных технических решений по интегральному показателю значимости

Номера патентов	Показатель формальной значимости $P_{фз}$	Показатель научно-технической значимости $P_{эфф}$	Показатель технико-экономической эффективности $P_{тэ}$	Интегральный показатель значимости $P_{инт}$
2404830	3	3	3	9
2625243	6	4	4	14
2392989	3	6	6	15
109975	2	2	2	6
2554793	4	3	5	12
2585566	5	5	4	14

показателя значимости, рассчитываемого по формуле

$$P_{инт} = P_{фз} + P_{эфф} + P_{тэ}, \quad (9)$$

Поскольку показатели $P_{фз}$, $P_{эфф}$ и $P_{тэ}$ сопоставимы, для суммирования их значений используют метод оценочной шкалы для перевода всех значений в баллы [1] (таблица 8).

В качестве базового изобретения следует выбрать техническое решение с максимальным значением интегрального показателя значимости, поскольку именно такое техническое решение характеризуется наибольшим влиянием на технический уровень разрабатываемого образца и в наибольшей степени проработано в техническом, правовом и информационном отношениях.

На основании анализа результатов, представленных в таблице 8, в качестве базового принято изобретение, разработанное ОАО «Арти» «Фильтрующий патрон в комбинированном и газозащитном исполнении» (патент RU № 2392989 от 27.06.2010 г.).

Рассмотрим модель выбора базового изобретения на примере. В соответствии с заданием разработчика¹⁵, следует оценить значимость и перспективы инновационного внедрения изобретения «Комбинированный фильтр (варианты)», патент RU № 2495693 от 20.10.2013 г.¹⁶

Временной интервал при выборе базового изобретения соответствует установленному: приоритет оцениваемого изобретения – 17.07.2012 г., приоритет базового изобретения – 27.06.2008 г.

Этап 1. Используя УФО изобретений вида «устройство» и формулу (2) оценим прогнозную перспективность данного технического решения:

$$\Gamma_{пп} = (\Sigma g_{okj}) / (\Sigma g_{okj max}) = 19,16 / 33,992 = 0,6$$

Поскольку условие $\Gamma_{пп} \geq 0,6$ соблюдено, целесообразно продолжить исследования.

Этап 2. Оценим формальную значимость изобретения по фактическим данным, представленным в таблице 9.

Таблица 9 – Результаты оценки формальной значимости

Номер патента	Показатели формальной значимости				
	Количество независимых пунктов в формуле	Количество стран патентования	Количество чертежей	Количество ссылок на источники информации	Количество рубрик МПК
2495693	2	1	2	4	1

¹⁵ Никонova О.Н., Шведова В.В. Разработка методики оценки интегральной значимости изобретений: выпускная квалификационная работа. М.: РГАИС, 2018. 125 с.

¹⁶ Комбинированный фильтр содержит корпус с наружной резьбовой горловиной, дно, двухслойную шихту, поглотитель, сетки для закрепления и разделения шихты, противопылевой тампон. Комбинированный фильтр дополнительно содержит противоаэрозольный фильтр. Предлагаемый комбинированный фильтр по первому и второму вариантам является надежным и удобным элементом СИЗОД людей во время выполнения ими технологических операций на предприятиях химической промышленности, обладает длительной универсальной многообразной защитой от монооксида азота и аммиака. Комбинированный фильтр позволяет увеличить время защитного действия и уменьшить сопротивление дыханию.

Таблица 10 – Результаты оценки интегральной значимости изобретений

Номер патента	Показатель формальной значимости $P_{фз}$ (баллы)	Показатель научно-технической значимости $P_{эфф}$ (баллы)	Показатель технико-экономической эффективности $P_{тэ}$ (баллы)	Показатель интегральной значимости $P_{инт}$
И _{оц} 2495693	7	1	2	10
И _{баз} 2392989	9	2	1	12

Таблица 11 – Сопоставительный анализ изобретений

Наименование ТП	Коэффициент весомости K_i	Данные о ТП оцениваемого изобретения ПД № 2495693 от 20.10.2013 г.	Данные о ТП базового изобретения ПД № 2392989 от 27.06.2010 г.	Результат сравнения: оцениваемое по отношению к базовому
Повышение надежности (степень очистки)	0,18	Коррозионная стойкость, повышенная прочность материала корпуса, 99,95 %	Коррозионная стойкость, повышенная прочность материала корпуса, 99,99 %	Хуже
Увеличение времени защитного действия	0,12	66 мин (по аммиаку при 3,5 г/м ³ и норме не менее 40 мин)	66 мин (по аммиаку при 3,5 г/м ³ и норме не менее 40 мин)	На уровне
Сорбционная емкость	0,15	Может быть задана любая высота слоя шихты	Может быть задана любая высота слоя шихты	На уровне
Снижение массогабаритных характеристик	0,07	≈202 г	≈202 г	На уровне
Уменьшение сопротивления дыханию	0,15	Противопылевой тампон	Противопылевой тампон Рыхлая упаковка частиц сорбента в блочной шихте	Хуже
Повышение эргономических параметров (в том числе время пребывания, комфортность)	0,17	Стандартная система соединения с лицевой частью	Оригинальная система соединения с лицевой частью: патрубок смещен в сторону узкой части фильтра и расположен под углом 750–870 к плоскости днища корпуса	На уровне
Увеличение общего поля зрения*	0,16	Не влияет	Улучшение обзора изнутри маски за счет уменьшения габаритов выступающих вперед частей фильтра	Хуже

Примечание:

*Данный ТП не включен в профиль требований к разрабатываемой ФПК, но представлен в сравнительной таблице как имеющий значение при сопоставительном анализе двух технических решений.

Для перевода значений в баллы и расчета показателя $P_{фз}$ используют сопоставление с базовым изобретением, результаты оценки формальной значимости будут показаны в таблице 11.

Этап 3. Опираясь на данные, представленные в таблице 6, по формуле (3) рассчитаем на-

учно-техническую значимость изобретения по патенту RU № 2495693:

$$P_{эфф} = 1 + K_2 + K_5 = 1 + 0,22 + 0,11 = 1,33$$

Этап 4. Рассчитаем по формуле (7) технико-экономическую значимость изобретения, учитывая, что по оценкам экспертов $Z_0=1,5$.

$$P_{\text{тэ}} = 1,33/1,5 \quad (1 - 13/20) = 0,31.$$

Этап 5. Оценим интегральную значимость изобретения. Значения показателя интегральной значимости оцениваемого и базового изобретений представлены в таблице 10.

Этап 6. Сделаем вывод о значимости оцениваемого изобретения. Из представленных в таблице 10 данных следует:

$$P_{\text{инт}}^{\text{Иоц}} < P_{\text{инт}}^{\text{Ибаз}}.$$

Следовательно, оцениваемое изобретение нельзя рекомендовать для использования в разрабатываемом образце средств защиты от ОМП.

Данные, полученные по разработанной методике оценки интегральной значимости, дополнительно были проверены путем сопоставительного анализа патентной документации (ПД) и оцениваемого и базового изобретений. Результаты сопоставительного анализа представлены в таблице 11.

По результатам сопоставительного анализа оцениваемое изобретение уступает базовому изобретению, что подтверждает выводы, полученные при сравнении результатов оценки интегральной значимости изобретений.

Сходимость результатов проведенных исследований позволяет использовать разработанный методический подход при решении вопросов инновационного развития средств защиты от ОМП.

В целом при использовании представленной модели выбора базовых изобретений следует учитывать, что изобретения могут относиться к разработке конструктивного элемента образца, как в представленном примере, так и быть направлены на совершенствование образца в целом. Следовательно, базовое изобретение должно соответствовать заданию на проведение патентных исследований.

В рамках настоящих исследований разработаны программные модули, обеспечивающие решение расчетных задач при выборе базового изобретения и проведении исследований по оценке значимости изобретений [16–19].

Таким образом, в ходе исследований разработана модель выбора базовых изобретений, основанная на методическом подходе по оценке значимости изобретений по интегральному показателю. Модель выбора базовых изобретений включает оценку прогнозной перспективности с использованием универсальных форм отбора изобретений, выбираемых с учетом вида оцениваемых технических решений; оценку формальной, научно-технической и технико-экономической значимости; расчет интегрального показателя значимости; выбор базового изобретения по наибольшему значению показателя интегральной значимости. Разработанная модель выбора базовых изобретений дает возможность оценить значимость объектов интеллектуальной собственности и обосновать целесообразность их использования в инновационных проектах по разработке или совершенствованию образцов средств защиты от оружия массового поражения.

Вклад автора / Autor Contribution

О.Н.Н. – сбор информации, изложенной в научной литературе, анализ и систематизация информации, написание текста / O.N. Nikonova – compilation data, analysis and systematization of scientific literature, writing of the paper.

Д.В.Ф. – окончательное утверждение рукописи для публикации / D.V. Frolov – approval of the final version of the paper for publication.

А.И.С. – идея и дизайн исследования / A.I. Sorokin – conceived and designed the research.

Е.Д.К. – предоставление информационных материалов, доработка текста / E.D. Kleshchenko – contribution information material, revision of the text.

Ю.П.З. – работа с табличным материалом, редактирование рукописи / Y.P. Zlobina – tabular work, edition of the paper.

О.Н.Т. – разработка программных продуктов / O.N. Tjashin – development of software support.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Список источников

1. Скорняков Э.П. Теория и практика патентных исследований. М.: ИНИЦ «Патент», 2014.
Skornjakov E.P. Theory and practice of patent study. Moscow: Information Publishing Center «Patent», 2014 (in Russian).
2. Скорняков Э.П., Горбунова М.Э. Отбор наиболее эффективных изобретений из мирового патентного фонда для использования в НИОКР. М.: ИНИЦ «Патент», 2008.
Skornjakov E.P., Gorbunova M.E. Classification of most effective patents of world patent fond for research and development application. Moscow: Information Publishing Center «Patent», 2008. (in Russian).
3. Альтшуллер Г.С., Вёрткин И.М. Как стать гением. Жизненная стратегия творческой личности. Минск: Беларусь, 1994.
Altshuller G.S., Vertkin I.M. How to become a genius. Life strategy for creative personality. Minsk: Belorussia, 1994 (in Russian).
4. Поляков В. Стратегия выбора // Изобретатель и рационализатор. 1982. № 8. С. 6.
Poljakov V. Strategy of choice // Inventor and Innovator. 1982. № 8. P. 6 (in Russian).
5. Корчагин А.Д. Оценка значимости изобретений в условиях коренной перестройки управления экономикой // Вопросы изобретательства. 1988. № 4. С. 9.
Korchagin A.D. Value estimation of inventions in conditions of radical economic restructuring // Questions of Invention. 1988. № 4. P. 9 (in Russian).
6. Московченко А.Д. Методологические проблемы технического изобретательства // Доклады ТУСУРа. 2007. № 1(15). С. 239–243.
Moskovchenko A.D. Methodological problems of technical invention // TUSUR Reports. 2007. № 1 (15). P. 239–243 (in Russian).
7. Авдзейко В.И., Карнышев В.И., Мещеряков Р.В. Патентный анализ. выявление перспективных и прорывных технологий // Вопросы инновационной экономики. 2018. Т. 8, № 1. С. 79–90.
Avdzeyko V.I., Karnyshev V.I., Mescheryakov R.V. Patent analysis. identification of promising and breakthrough technologies // Russian Journal of Innovation Economics. 2018. V. 8(1). P. 79–80. (in Russian).
8. Udell G.G. Unvention evaluation services. A review of the state of the art // J. Prod. Innov. Manag. 1989. № 6. P. 157–168.
9. Abbas A., Zhang L., Khan S. A literature review on the state-of-the-art in patent analysis // World Patent Information. 2014. V. 37, P. 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.wpi.2013.12.006>
10. Никонова О.Н., Клещенко Е.Д., Шведова В.В. Оценка интегральной значимости технических решений // Интеллектуальная собственность. Промышленная собственность. 2018. № 9. С. 21–30.
Nikonova O.N., Kleshchenko E.D., Shvedova V.V. Integral value of technical solutions estimation // Intellectual Property. Industrial Property. 2018. № 9. P. 21–30 (in Russian).
11. Никонова О.Н., Фролов Д.В., Сорокин А.И., Клещенко Е.Д. Оценка значимости изобретений с учетом вида объекта патентования // Интеллектуальная собственность. Промышленная собственность. 2020. № 6. С. 43–51.
Nikonova O.N., Frolov D.V., Sorokin A.I., Kleshchenko E.D. Estimating significance of inventions considering the type of a patenting object // Intellectual Property. Industrial Property. 2020. № 6. P. 43–51 (in Russian).
12. Гмошинский В.Г. Инженерное прогнозирование. М.: Энергоиздат, 1982. 282 с.
Gmoshinskii V.G. Engineering projection. Moscow: Energoizdat Publ., 1982. 282 p. (in Russian).
13. Калинин А.Г. Обработка данных методами математической статистики: монография. Чита: ЗИП СибУПК, 2015. 106 с.
Kalinin A.G. Data processing by methods of mathematical statistics: monograph. Chita: ZIP SibUPK, 2015. 106 p. (in Russian).
14. Скорняков Э.П. Патентные исследования: учебно-методическое пособие. М.: ИНИЦ Роспатента, 2006. 163 с.
Skornjakov E.P. Paten research. Moscow: Information Publishing Center «Patent», 2006. 163 p. (in Russian).
15. Мухопад В.И. Экономика и коммерциализация интеллектуальной собственности. М.: Магистр, 2017. 512 с.
Mukhopad V.I. Economics and commercialization of intellectual property. Moscow: Magister, 2017. 512 p. (in Russian).
16. Программа расчета коэффициента технического уровня образцов вооружения и военной техники «КТУ» / Никонова О.Н. Клещенко Е.Д., Фролов Д.В.; заявитель и правообладатель ФГБУ «33 ЦНИИИ» Минобороны России. № 2015613188; заявл. 21.04.15; опублик. 20.07.2015.
Technical level coefficient calculation program of weapons and defense technology «КТУ» / Nikonova O.N., Kleshchenko E.D., Frolov D.V. Applicant and copyright holder Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. № 2015613188; declared 21.04.2015; publ. 20.06.15 (in Russian).
17. Расчет коэффициента технического уровня промышленных, разрабатываемых и перспективных образцов средств защиты от ОМП «TechLevel»: Свид. РФ № 2018660283 / Никонова О.Н., Фролов Д.В., Тяжин О.Н. и др.; заявитель и правообладатель ФГБУ «33 ЦНИИИ» Минобороны России. № 2018618240; заявл. 26.07.2018; опублик. 21.08.18.
TechnicalLevelCoefficientCalculationofIndustrial, Developing and Advanced Protection Means against WMD «TechLevel»: № 2018660283/Nikonova O.N., Frolov D.V., Tjzhin O.N. et al.; applicant and copyright

holder Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. № 2018618240; declared 26.07.18; publ. 21.08.2018 (in Russian).

18. Расчет интегрального показателя значимости технических решений «Integral»: Свид. РФ № 2018660282 / Никонова О.Н., Клещенко Е.Д., Сорокин А.И. и др.; заявитель и правообладатель ФГБУ «33 ЦНИИИ» Минобороны России. № 2018618237; заявл. 26.07.2018; опубл. 21.08.2018.

Integral value index calculation of technical solutions «Integral»: № 2018660282 / Nikonova O.N., Kleshchenko E.D., Sorokin A.I. et al.; applicant and copyright holder Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute» of the Ministry of

Defence of the Russian Federation. № 2018618237; declared 26.07.18; publ. 21.08.2018 (in Russian).

19. Оценка интегрального показателя значимости изобретений по изменяющимся параметрам «IntSign»: Свид. РФ № 2021614673/ Злобина Ю.П., Никонова О.Н., Фролов Д.В. и др.; заявитель и правообладатель ФГБУ «33 ЦНИИИ» Минобороны России. № 2021613436; заявл. 16.03.2021; опубл. 29.03.21.

Integral Value Index Estimation of Inventions on Variable Characteristics «IntSign»: № 2021614673 / Zlobina Y.P., Nikonova O.N., Frolov D.V. et al.; applicant and copyright holder Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. № 2021613436; declared 16.03.21; publ. 29.03.2021 (in Russian).

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации, 412918, Российская Федерация, Саратовская обл., г. Вольск-18, ул. Краснознаменная, д. 1.

Никонова Ольга Николаевна. Научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Фролов Дмитрий Владимирович. Начальник научно-исследовательского отдела, канд. техн. наук, доцент.

Сорокин Алексей Иванович. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела, канд. техн. наук, ст. науч. сотр.

Клещенко Елена Дмитриевна. Старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Злобина Юлия Павловна. Младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Тяжин Олег Николаевич. Младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела.

Контактная информация для всех авторов: 33cnii-ito@mil.ru

Контактное лицо: Никонова Ольга Николаевна; 33cnii-ito@mil.ru

The Creation of the Basic Inventions Classification Model for the Estimating Significance of Intellectual Property Objects considering the Development of Means of Protection against Weapons of Mass Destruction

O.N. Nikonova, D.V. Frolov, A.I. Sorokin, E.D. Kleshchenko,

Y.P. Zlobina, O.N. Tjzhin

Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Krasnoznamennaya Street 1, Volsk-18, Saratov Region 412918, Russian Federation

Received 17 August 2021. Accepted 23 September 2021.

The relevance of the article is conditioned by the necessity to form scientific and methodological support for the process of identifying promising technical solutions, carried out in the course of scientific and technical examination of military and dual-purpose innovative projects on behalf of the Russian Federation Armed Forces. *The aim of the paper* is to create the basic inventions classification model for the estimating significance of intellectual property objects, namely weapons

of mass destruction-oriented patents and utility models. The article is based on the system analysis and expert questioning methods. During research the authors suggested the basic inventions classification model, which includes preselection of inventions based on the predictive availability criterion, technical, scientific, techno-economic value estimation and calculation of integral value index. For the predictive prospectivity estimation, the universal selection forms of inventions were developed, which are matrix-type evaluation tables that take into account various characteristics of inventions, ranked by degree of importance; the universal selection forms for each type of invention («device», «method», «substance», «new purpose application») and groups of inventions («substance + method», «device + method») were developed as well. A new criterion characterizing the legal status of the invention for technical value estimation by the patent-legal indicators of the protection document is proposed. The obsolescence index of the techno-economic value calculation formula, which allows for more accurate calculations is introduced. The authors also grounded the time interval within which patent documents are searched for identifying the basic invention, equal to an average of ten years.

Keywords: *estimating significance; invention; means of protection against weapons of mass destruction object of intellectual property; patenting research; selection; substance.*

For citation: *Nikonova O.N., Sorokin A.I., Frolov D.V., Kleshchenko E.D., Zlobina Y.P., Tjashin O.N. The Creation of the Basic Inventions Classification Model for the Estimating Significance of Intellectual Property Objects considering the Development of Means of Protection against Weapons of Mass Destruction // Journal of NBC Protection Corps. 2021. V. 5. № 3. P. 269–282. s://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-5-3-269-282*

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

References

See P. 269–282.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «33 Central Scientific Research Test Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Krasnoznamennaya Street 1, Volsk-18, Saratov Region 412918, Russian Federation.

Olga Nikolaevna Nikonova. Researcher.

Dmitry Vladimirovich Frolov. Head of the Department. Candidate of Technical Sciences.

Aleksey Ivanovich Sorokin. Leading Researcher. Candidate of Technical Sciences.

Elena Dmitriyevna Kleshchenko. Senior Researcher.

Julia Pavlovna Zlobina. Junior Researcher.

Oleg Nikolaevich Tjashin. Junior Researcher.

Contact information for all authors: 33cnii-ito@mil.ru

Contact person: Olga Nikolaevna Nikonova. 33cnii-ito@mil.ru

В Главном Храме Вооруженных Сил Российской Федерации состоялось освящение и передача иконы войск РХБ защиты



Начальник Главного военно-политического управления Вооруженных Сил Российской Федерации генерал-полковник А.В. Картаполов, начальник войск РХБ защиты ВС РФ генерал-лейтенант И.А. Кириллов и другие руководители войск РХБ защиты на чине освящения и передачи иконы святого благоверного князя Андрея Боголюбского 10 июня 2021 г. в Главном Храме Вооруженных Сил Российской Федерации

Князь Андрей Боголюбский (1111–1174) был талантливым государственным деятелем, защитником земель русских, продолжателем дел своего отца Юрия Долгорукого (1090-е гг. – 1157) и деда Владимира Мономаха (1066–1073) на градо- и храмостроительном поприще. Как воина и полководца, его всегда отличали храбрость и мужество.

10 июня 2021 г. в Главном Храме Вооруженных Сил Российской Федерации состоялась торжественная церемония с чином освящения и передачи иконы святого благоверного князя Андрея Боголюбского – небесного покровителя войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации.

На богослужении присутствовали: заместитель Министра обороны Российской Федерации – начальник Главного военно-политического управления Вооруженных Сил Российской Федерации генерал-полковник А.В. Картаполов; начальник войск РХБ защиты ВС РФ генерал-лейтенант И.А. Кириллов; личный состав Управления начальника войск РХБ защиты ВС РФ и воинских частей и организаций непосредственного подчинения, в числе которых – научно-исследовательские ор-

ганизации, учебные части и Военная академия РХБ защиты, ветераны войск РХБ защиты, представители гражданских организаций.

Чин освящения совершил Ключарь Патриаршего Собора Воскресения Христова Главного храма ВС РФ Протоиерей Александр Солдатенков. Он поздравил руководство, ветеранов и военнослужащих войск РХБ защиты, пожелав им всемерной помощи Божией в прохождении воинской службы.

Начальник войск РХБ защиты генерал-лейтенант И.А. Кириллов от имени всех военнослужащих войск выразил благодарность Святейшему Патриарху Московскому и всея Руси Кириллу за благословление особого почитания святого благоверного князя Андрея Боголюбского как покровителя личного состава и сотрудников войск РХБ защиты.

«Благородные и святые деяния святого благоверного князя Андрея Боголюбского всегда будут нам примером в выполнении священного долга перед Родиной по ее защите и укреплению», – подчеркнул генерал.

Автор иконы – иконописец Михаил Леонтьев, автор основной иконы Главного храма ВС РФ с образом «Спаса Нерукотворного». Аналое и киот создавались ООО «Кавида-Мастер».

Икона написана на металле с использованием акриловых красок и сусального золота в традициях Московской школы иконописи.

На иконе представлено поясное изображение Андрея Боголюбского. На складнях отлиты четыре святых: святитель Николай Угодник, святой благоверный князь Александр Невский, святой архангел Михаил и святой Преподобный Александр Пересвет.

Икона размещена в верхней части Собора Воскресения Христова Главного Храма ВС РФ.

По окончании церемонии военнослужащие приложились к образу своего небесного покровителя.

Мероприятия по случаю принесения в честь и освящения иконы Святого благоверного князя Андрея Боголюбского прошли также в федеральном государственном бюджетном учреждении «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации и в воинских частях и организациях непосредственного подчинения войск РХБ защиты ВС РФ.

*Младший научный сотрудник 27 НЦ МО РФ
Н.П. Соляник*

О встрече командования войск РХБЗ и руководства Союза ветеранов войск РХБЗ с Главой Владимирской митрополии, духовником верующих военнослужащих войск РХБ защиты

21 мая 2021 г. в г. Владимире, по инициативе Начальника войск РХБ защиты Вооруженных Сил Российской Федерации (далее – РХБЗ ВС РФ) генерал-лейтенанта Игоря Анатольевича Кириллова, состоялась первая встреча командования войск РХБЗ ВС РФ и руководства Союза ветеранов войск РХБЗ с главой Владимирской митрополии, духовником верующих военнослужащих войск РХБЗ ВС РФ, митрополитом Владимирским и Суздальским Тихоном (Емельяновым).

Темой встречи стало обсуждение дальнейшего взаимодействия по выполнению плана реализации Указа Патриарха Московского и всея Руси Кирилла от 26 июня 2020 г. «Об определении святого благоверного великого князя Андрея Боголюбского небесным покровителем войск РХБЗ ВС РФ».

В составе представительства войск РХБЗ ВС РФ находились:

- генерал-лейтенант И.А. Кириллов – Начальник войск РХБЗ ВС РФ;
- генерал-майор Е.Г. Старков – Президент Союза ветеранов войск РХБЗ;
- генерал-майор В.А. Данильченко – почетный член Союза ветеранов войск РХБЗ, Председатель президиума Общероссийской общественной организации «Совет ветеранов Воздушно-Десантных войск России»;
- генерал-лейтенант А.Ф. Иняков – председатель Московской городской организации ветеранов войны и военной службы Общероссийской общественной организации ветеранов «Российский Союз ветеранов»;
- полковник Е.Н. Неживой – заместитель начальника войск РХБЗ ВС РФ по военно-политической работе;
- полковник В.А. Ковтун – заместитель председателя Наблюдательного совета Союза ветеранов войск РХБЗ, начальник «27 Научного центра МО РФ»;
- подполковник Г.В. Цапорин – директор представительства Союза ветеранов войск РХБЗ в г. Электросталь Московской области, Герой России;
- полковник А.М. Смирнов – член Правления Союза ветеранов войск РХБЗ;
- полковник С.Н. Шевченко – член Союза ветеранов войск РХБЗ, заместитель начальника



Начальник войск РХБ защиты генерал-лейтенант И.А. Кириллов на богослужении в память схииерхимандрита Отца Петра

Академического ансамбля песни и пляски Российской армии имени А.В. Александрова;

- В.В. Татаринов – директор филиала Союза ветеранов войск РХБЗ при Московском государственном техническом университете имени Н.Э. Баумана;
- полковник И.А. Богомазов – почетный член Союза ветеранов войск РХБЗ;
- подполковник А.А. Макуха – заместитель директора филиала Союза ветеранов войск РХБЗ по г. Владимиру и Владимирской области;
- полковник К.Н. Шукин – заместитель председателя Общероссийской общественной организации «Ветеранов Вооруженных Сил»;
- полковник В.Д. Стародубцев – заместитель председателя Московского городского отделения Общероссийской общественной организации «БОЕВОЕ БРАТСТВО»;
- полковник В.В. Боровский – член Правления Союза ветеранов войск РХБЗ, ответственный за взаимодействие Союза ветеранов войск РХБЗ с Русской Православной Церковью;
- полковник М.П. Козубай – Вице-президент Союза ветеранов войск РХБЗ.

На встрече также присутствовала президент Благотворительного Фонда «Святого мученика Вонифатия» Н.С. Мезенцева.

Основными мероприятиями встречи стали:

- торжественный молебен в Свято-Боголюбском женском монастыре с передачей на престольного креста с частицей святого

Животворящего Креста Господня и иконы с частицей мощей святого великомученика Георгия Победоносца митрополиту Владимирскому и Суздальскому Тихону президентом Благотворительного Фонда «Святого мученика Вонифатия» Н.С. Мезенцевой в рамках утвержденной Патриархом Московским и всея Руси Кириллом программы «Духовное укрепление Российского воинства»;

- передача иконы святого благоверного великого князя Андрея Боголюбского Начальнику войск РХБЗ ВС РФ генерал-лейтенанту И.А. Кириллову от Благотворительного Фонда «Святого мученика Вонифатия»;

- поминальная лития на могиле первого духовника верующих военнослужащих войск РХБЗ ВС РФ схиархимандрита Петра (Кучера);

- посещение музея-келии схиархимандрита Петра;

- экскурсия по Свято-Боголюбскому женскому монастырю и ознакомление с жизнью и деятельностью святого благоверного великого князя Андрея Боголюбского и его исторической ролью в создании первого централизованного государства древней Руси;

- обсуждение дальнейшего взаимодействия по выполнению плана реализации Указа Патриарха Московского и всея Руси Кирилла от 26 июня 2020 г. «Об определении святого благоверного великого князя Андрея Боголюбского небесным покровителем войск РХБЗ ВС РФ» руководством войск РХБЗ ВС РФ и Главой Владимирской митрополии;

- посещение представительством войск РХБЗ ВС РФ Успенского собора г. Владимира и поклонение мощам святого благоверного великого князя Андрея Боголюбского;

- посещение Владимирского исторического музея в Золотых воротах города – одного из главных памятников древнерусского зодчества.

В своем выступлении Владыка, в частности, отметил: «Мы приветствуем вас на святой Владимирской земле – Родине Российского православия и первого централизованного Российского государства.

Князь Андрей Боголюбский, сын Юрия Долгорукого и внук Владимира Мономаха, всецерковно прославленный святой (1702 г.) – один из главных российских святых воинов, первый собиратель русских земель в централизованное государство. Он перевел столицу древней Руси из Киева во Владимир и отстроил его многочисленными храмами, в том числе и монастырь, в котором мы находимся; лично отстаивал нашу Родину в многочисленных битвах и потерял в борьбе с врагами Руси своего старшего сына, построив в его честь храм Покрова-на-Нерли; помогал отцу строить Москву и другие древнерусские города; погиб мученической смертью



Начальник войск РХБЗ ВС РФ генерал-лейтенант И.А. Кириллов получил в дар от Благотворительного Фонда «Святого мученика Вонифатия» икону святого благоверного великого князя Андрея Боголюбского

за Русь, за нас с вами, от рук предателей, и стал нашим небесным покровителем и оставил нам завещание – защищать Родину до последней капли крови.

Мы поздравляем командование войск РХБЗ ВС РФ и руководство Союза ветеранов войск РХБЗ со знаменательным событием в жизни каждого из нас – тех, кому дорога история, честь и дальнейшая судьба нашей Родины и ее главной духовной скрепы – Православия, в связи с решением Патриарха Московского и всея Руси Кирилла «Об определении святого благоверного великого князя Андрея Боголюбского небесным покровителем войск РХБЗ ВС РФ».

Теперь у вас, как и у нас, появились и особо почитаемые, главные наши небесные заступницы, из более чем двухсот существующих иконописных ликов Пресвятой Богородицы: икона Владимирской Божией Матери – знаменитой защитницы Руси от иноземных захватчиков и икона Боголюбской Божией Матери – защитницы от пандемии любого поветрия, спасавшей своим появлением древний Владимир и Русь от чумы и холеры.

Вы находитесь на священной русской земле героев, патриотов Церкви и Родины, среди них: князь Александр Невский; воевода Дмитрий Пожарский, освободитель Москвы от польских захватчиков; Михаил Сперанский – первый законодатель Российской империи, выпускник Владимирской Свято-Феофановской духовной семинарии; братья Столетовы – всемирно известный ученый-физик и военачальник – герой Шипки; великий русский полководец Александр Суворов; более сотни Героев Советского Союза, в т.ч. Маршал Советского Союза К.А. Мерецков, капитан Николай Гастелло и начальник военной Краснознаменной академии химической защиты имени Маршала Советско-

го Союза С.К. Тимошенко генерал-полковник Мясников Владимир Владимирович, уроженец Петушинского района Владимирской области.

Прославил Владимирскую землю и епархию схиархимандрит Петр (Кучер) – активный участник Великой Отечественной войны, артиллерист-«противотанкист», орденоносец, майор морской пехоты и одновременно – великий молитвенник и восстановитель разрушенных храмов, духовник Свято-Боголюбского женского монастыря и верующих воинов войск РХБЗ ВС РФ с 2014 г.

Войска РХБЗ ВС РФ были избраны схиархимандритом Петром в качестве основного инструмента духовного окормления Вооруженных Сил, так как именно эти войска выполняют, по своему основному предназначению, благороднейшую задачу по защите от оружия массового поражения армии и населения страны и присутствуют своими подразделениями во всех видах, родах войск и специальных войсках Вооруженных Сил.

Именно через войска РХБЗ ВС РФ во все виды Вооруженных Сил на суше, воде и в воздухе, много лет подряд, безвозмездно, отцом Петром отправлялись в войска и на военные базы за границы нашей Родины – в Крым, Севастополь, во все места, где противостояли силы добра и зла, нателные кресты, святые Евангелия, иконы с 90-псалмом, солдатские молитвословы в карманном и полевом исполнении, духовная литература, журнал «Православный воин» и «Вестник войск РХБ защиты».

Отец Петр ежегодно, в канун Дня Победы, обращался с напутственным словом к верующим воинам. Он первым предложил командованию войск ходатайствовать перед Патриархом Московским и всея Руси об определении святого благоверного великого князя Андрея Боголюбского небесным покровителем войск РХБЗ ВС РФ.

Отец Петр, как настоящий воин духа, патриот Церкви и России, обладая огромными организаторскими способностями, глубокой верой в Господа и даром убеждения, опираясь только на хрупкие плечи невест Христовых (монахинь и послушниц), создал нестигаемое духовное сообщество, спаянное его энергией и железной волей. Он восстановил два монастыря – Задонский и Свято-Боголюбский, практически разрушенные до основания, и превратил их в живые родники православной веры и настоящие жемчужины Православия.

Поэтому, прибыв в епархию, назначенный Священным Синодом Русской Православной

Церкви, я, как Глава епархии, не задумываясь, принял на себя благородную миссию – духовника Свято-Боголюбского монастыря и верующих воинов войск РХБЗ ВС РФ, готовность принять прошения о духовной помощи верующих воинов, ветеранов и членов их семей, после кончины отца Петра».

Далее Владыка рассказал о совместной работе, организованной Владимирской митрополией во взаимодействии с руководством войск РХБЗ ВС РФ, в интересах духовного окормления военнослужащих войск РХБ защиты Вооруженных Сил Российской Федерации и выразил особую благодарность за оказание помощи в организации взаимодействия между Министерством обороны и Русской Православной Церковью командованию войск РХБ защиты Вооруженных Сил Российской Федерации, руководству Союза ветеранов.

Начальник войск РХБЗ ВС РФ генерал-лейтенант И.А. Кириллов, Президент Союза ветеранов войск РХБЗ генерал-майор Е.Г. Старков поблагодарили Владыку за большую работу, организованную в интересах духовного окормления военнослужащих войск РХБЗ ВС РФ.

Выступающие отметили большую молитвенную, профессиональную, методическую и практическую помощь духовенства Владимирской митрополии во главе с Владыкой и настоятельницей Свято-Боголюбского женского монастыря войскам и ветеранам войск РХБЗ ВС РФ в духовно-нравственном воспитании военнослужащих и молодежи.

Гости выразили особую благодарность Главе Владимирской митрополии митрополиту Владимирскому и Суздальскому Тихону, настоятельнице Свято-Боголюбского женского монастыря игуменье Руфине и всему духовенству Владимирской митрополии за организацию молитвенной помощи «О здравии» воинов, ветеранов и их близких в течении всего 2021 года во всех храмах митрополии.

В свою очередь, от имени гостей, начальник войск РХБЗ ВС РФ генерал-лейтенант И.А. Кириллов пожелал Владыке и всему духовенству здоровья и успехов в их благородной духовной деятельности, а также заверил, что все верующие военнослужащие войск будут молиться за Владимирское духовенство во всех храмах по месту дислокации воинских частей, учреждений и предприятий войск РХБЗ ВС РФ на всей территории России.

*Президент Союза ветеранов войск РХБЗ
генерал-майор Е.Г. Старков*

Всероссийская военно-историческая конференция «Правда и вымыслы о Второй мировой войне»



*Участники Всероссийской военно-исторической конференции
«Правда и вымыслы о Второй мировой войне» (26 мая 2021 г., Кострома)*

Всероссийская военно-историческая конференция с международным участием «Правда и вымыслы о Второй мировой войне: истоки, причины, итоги и уроки величайшей трагедии в истории человечества» состоялась 26 мая 2021 г. в Военной академии радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко (далее – академия) в г. Костроме.

Мероприятие проходило в соответствии с Планом военно-исторической работы ВС РФ на 2021 г., Планом военно-исторической работы УНВ РХБ защиты ВС РФ на 2021 г. и указаниями заместителя начальника войск РХБ защиты ВС РФ по вооружению и НИР как совместный проект академии и Костромского государственного историко-архитектурного и художественного музея-заповедника при поддержке администрации Костромской области. В его организации участвовали также Костромская областная универсальная научная библиотека

и общественная организация «Красносельское землячество в г. Костроме».

Конференция проводилась в общем ключе статьи Президента Российской Федерации В.В. Путина «75 лет Великой Победы: общая ответственность перед историей и будущим»¹ посредством коллективного обсуждения и объективного научного осмысления содержания важнейших исторических фактов, событий и процессов периода Второй мировой и Великой Отечественной войн, всемирно-исторического значения Победы СССР и его союзников над нацистской Германией и милитаристской Японией, а также уроков, которые может и должно извлечь человечество из величайшей трагедии в его истории.

В торжественном открытии конференции, проходившем в «Белом зале» бывшего Губернского дворянского собрания, приняли участие командование, научно-педагогические работники, адъютанты, слушатели, курсанты и

¹ 75 лет Великой Победы: общая ответственность перед историей и будущим. URL: <http://www.kremlin.ru/events/president/news/page/51> (дата обращения: 22.06.2021).

операторы научной роты академии, ветераны ВС СССР и РФ, руководство и сотрудники Костромского музея-заповедника, сотрудники Костромской областной универсальной научной библиотеки, а также участники пленарного заседания и представители ВС зарубежных стран.

С приветственным словом к участникам пленарного заседания и гостям мероприятия обратился временно исполняющий обязанности начальника академии генерал-майор В.В. Васильев.

Кандидат биологических наук, доцент генерал-майор А.Н. Бакин (ВА РХБ защиты, г. Кострома) в докладе «Академия в годы войны. М.М. Дубинин: роль личности в развитии химических войск» проанализировал становление и развитие академии в предвоенный период. По его словам, к началу Великой Отечественной войны она сумела встать в ряд высших военно-учебных заведений, где учебно-воспитательный процесс и научная работа находились на самом высоком уровне в соответствии с требованиями Наркомата обороны СССР.

Затем докладчик на основании многочисленных исторических источников доложил об особенностях и результатах деятельности академии в годы Великой Отечественной войны, дал яркие и емкие характеристики ее начальникам, а также известным ученым, работавшим в ее стенах.

Особое внимание докладчиком было уделено личности и масштабной военно-научной работе академика М.М. Дубинина который явил собой конкретный и достойный подражания пример служения науке и Родине.

С докладом «Крах системы коллективной безопасности как основание ратификации пакта Молотова-Риббентропа: об источниках фальсификации военной истории» выступила доктор философских наук, профессор М.Л. Груздева (ВА РХБ защиты, г. Кострома). Она представила историко-философский анализ и собственные оценки событий и процессов, которые характеризовали международные отношения в Европе накануне Второй мировой войны, а также положение СССР, Германии, Польши, Франции и Великобритании в контексте этих отношений. Автором доклада детальным образом были исследованы политические и иные последствия Версальского мирного договора, а также причины и обстоятельства краха системы коллективной безопасности в Европе, которые вынудили руководство СССР пойти на заключение пакта Молотова-Риббентропа.

Предметом особого внимания докладчика стали источники и причины фальсификации истории Второй мировой и Великой От-

ечественной войн уже на современном этапе. Соответствующие их характеристики были увязаны с «холодной войной», развалом СССР и современным положением России на международной арене.

В заключительной части докладчиком были предложены пути и методы противостояния фальсификации отечественной истории.

Доклад «Итоги Второй мировой войны в современных оценках некоторых европейских стран: политическая история или историческая политика» был представлен кандидатом исторических наук подполковником А.А. Кузнецовым и подполковником П.В. Улизко (НИИ ВИ ГШ ВС РФ, г. Москва). Докладчики обратили внимание на усиливающуюся в настоящее время тенденцию к политизации истории, обусловленную попытками ряда стран представить прошлое в выгодном для себя свете. Исследования в сфере так называемых «войн памяти» позволили вычленив основные сюжеты, используемые для нападок на Россию: ответственность за начало Второй мировой войны переносится на СССР; освобождение Европы Красной Армией приравнивается к оккупации; роль СССР в победе во Второй мировой войне искусственно принижается; предпринимаются попытки выставить военнотружущих Красной Армии в негативном свете. Для достижения своих неблагоприятных целей фальсификаторы, как показал авторский анализ, используют нормативно-правовые акты, специализированные организации – музеи и институты, а также научные работы, художественную литературу, СМИ, материалы в соцсетях и блогах. Особый сюжет – так называемая «война памятников».

Докладчиками предложен комплекс рекомендаций, позволяющих, с их точки зрения, успешно противостоять фальсификации итогов Второй мировой войны. Важное место в перечне таких мероприятий должна занять новая учебная дисциплина «Историческая политика».

Оживленную дискуссию вызвал доклад кандидата педагогических наук полковника О.В. Болтыкова (ВА РХБ защиты, г. Кострома) «Многонациональный состав населения Советского Союза как фактор Великой Победы 1945 года». В нем отмечается, что в текущем году исполняется 80 лет с момента начала Великой Отечественной войны, и чем дальше уходит в прошлое это трагическое событие, тем сильнее становится желание недоброжелателей России низвергнуть подвиг советского народа, спасшего мир от фашизма. Фальсификаторы истории тратят немало сил для того, чтобы принизить решающую роль СССР в разгроме Германии и достижении победы во Второй мировой войне, исказить историческую правду. Распространенными вариантами фальсификации истории Ве-

ликой Отечественной войны являются попытки объяснить поражение Германии просчетами Гитлера, климатическими условиями, бездорожьем и другими случайными факторами.

По мнению же докладчика, опирающегося на анализ большого массива источников, одной из причин разгрома Германии и, соответственно, победы СССР стало то обстоятельство, что борьба за независимость Родины сплотила народы многонационального Советского Союза в борьбе за общее дело. В 1944 г. в составе 200 стрелковых дивизий насчитывавших более 1 млн чел., было 58,3 % русских, 22,3 % украинцев, 2,7 % белорусов, 2 % узбеков, 1,5 % казахов, 1,5 % грузин, 1,5 % азербайджанцев, 1,4 % армян и т. д.

При этом, полагает автор доклада, не нужно умалчивать, что не «все, как один» встали на защиту Родины. Были и предатели, и дезертиры. Немецкая сторона приводила данные, что с оккупационными властями сотрудничало до 1 млн чел.: власовцы, бандеровцы, легионеры прибалтийских, кавказских, туркестанских и других формирований, подразделения карателей. Но они никак не могли повлиять на исход войны.

Дружба советских народов выдержала все испытания. Война показала, что общественный строй, утвердившийся в СССР, являлся в то время не только эффективной формой развития наций, но и основой сотрудничества народов многонационального государства в совместной защите Отечества.

Предметом активного обсуждения по итогам доклада стали проблемы численности советских военнопленных, национальных формирований в составе Вермахта и СС, источниковая база для исследования так называемого «коллаборационизма», а также ряд предложенных докладчиком оценок событий первого периода Великой Отечественной войны.

Малоизвестные факты об участии в Великой Отечественной войне армянских национальных формирований, о полководцах и Героях Советского Союза – армянах, о боевом и трудовом вкладе армянского народа в победу над нацистской Германией представил в докладе «Воины-армяне на полях Великой Отечественной» подполковник Ю.К. Данелян (ВС Республики Армения). Он отметил, что республика, численность населения которой составляла к началу войны всего 1,5 млн чел., отправила на фронт 20 % своих жителей. Из них более 200000 погибли на фронте (что сопоставимо по численности с потерями США). Значительное внимание в докладе было уделено героическому боевому пути 89-й армянской Таманской стрелковой дивизии (1942–1945 гг.), дошедшей до Эльбы. Особый сюжет посвящен роли Ар-

мянской Апостольской Церкви в достижении Великой Победы.

Об участии в борьбе с немецко-фашистскими захватчиками Киргизской ССР напомнил собравшимся представитель ВС Республики Киргизия майор Асан Улу Канатбек. В докладе «Вклад советской Киргизии в Великую Победу 1945 года» он сообщил, что население республики, несмотря на его малочисленность, внесло большой вклад в разгром нацистской Германии и ее сателлитов – на полях сражений побывали более 23 % граждан Киргизии, всего – 363 тыс. чел., 73 стали Героями Советского Союза. На заводах и фабриках пришлось работать женщинам, подросткам и детям. При этом производительность предприятий не только не падала, но значительно увеличивалась. Аналогичная ситуация сложилась и в сельском хозяйстве.

В докладе подробно освещен боевой путь ряда соединений, сформированных в Киргизской ССР, рассказано о героических подвигах уроженцев республики (в том числе тех, кто защищал Москву в составе легендарной дивизии И.В. Панфилова), о том, что Киргизия обеспечила работу эвакуированных из других республик СССР промышленных предприятий, учреждений образования, науки и культуры.

В заключительной части докладчик подчеркнул: «Спустя десятки лет после той страшной войны подвиги наших отцов и дедов не должны забываться. Многим сегодня сложно представить не только ужасы пережитого ими, но и ту сплоченность, с которой народы союзных республик действовали наперекор врагу... Именно благодаря сплоченности, жертвенности и отданному Родине долгу новые поколения кыргызов живут в свободной республике».

Кандидат технических наук полковник А.М. Смирнов (27 НЦ МО РФ, г. Москва) в докладе «Необъективный анализ исторических источников как инструмент фальсификации истории Второй мировой и Великой Отечественной войн» представил анализ послевоенных мемуаров генералов Вермахта (Г. Гудериан, Э. Манштейн и др.), результаты которого позволили сделать заключение: «Это на их... вымыслах основываются практически все современные фальсификаторы в описании Второй мировой войны». В этой связи значительное внимание докладчик уделил книге маршала А.И. Еременко «Против фальсификации истории Второй Мировой войны», автор которой убедительно разоблачает измышления гитлеровских генералов. Докладчик приходит к выводу о том, что фальсификации истории можно противостоять только правдой, и этого, кроме нас, никто не делает.

С докладом «Космополитизм как угроза сохранения исторической памяти и культурной

идентичности российского народа» выступила доктор культурологии, доцент Н.Е. Мусинова (ВА РХБ защиты, г. Кострома). Эпиграфом к докладу стали слова В.В. Путина: «Забвение уроков истории неизбежно оборачивается тяжелой расплатой». Одной из угроз сохранения исторической памяти и культурной идентичности российского народа, полагает докладчик, является идеология космополитизма, которая целенаправленно навязывается населению нашей страны прозападными СМИ в ходе информационной войны, ударяет по ее обороноспособности, выступая деструктивным элементом в воспитании молодежи.

Космополитизм в российском варианте, полагает автор доклада – это западничество, а по отношению к государству – режим внешнего управления. За ширмой западничества скрывается еще и феномен россиефобии. Современное же человечество в целом разделяется на западный мир и «всех остальных». В ходе «холодной войны» западное «сверхобщество» выработало стратегию порабощения «всех остальных», основу которой образует вестернизация покоряемых народов, сущность которой состоит в навязывании «наилучшей модели мироустройства», «наилучшего» социального строя, экономики, политической системы, культуры, образа жизни. Все это преподносится как гуманная миссия Запада.

В докладе отмечается, что западническому космополитизму надо противопоставить патриотическую идеологию. Но без целенаправленной политики государства и активной позиции гражданского общества патриотизм не сформируется. Десятилетиями в российских школах и вузах осуществлялся крен в сторону превосходства западной цивилизации. В 2013 г. В.В. Путин выступил с инициативой создания единого учебника отечественной истории, без которого «молодые люди не понимают, в какой стране они живут, и не чувствуют связи с предыдущими поколениями» – в частности, недооценивают подвиг ветеранов Великой Отечественной войны.

С точки зрения автора доклада, для сохранения исторической памяти и культурной идентичности России необходимо отказаться от западноцентричной космополитической модели развития, поскольку в ней нет места нашей стране как суверенному государству, а российские культура и язык признаются западными «партнерами» как вторичные, подлежащие уничтожению. В этом смысле космополитизм является угрозой национальной безопасности страны, способствуя разрушению ментальной целостности Российской цивилизации.

После завершения пленарного заседания конференция продолжила свою работу по

секциям. Основными сюжетами докладов на секции «Истоки и причины Второй мировой войны» стали события и процессы межвоенного периода, главным образом различные вопросы международных отношений. Участники заседания обсуждали Версальский мирный договор 1919 г. и Мюнхенское соглашение 1938 г., роль советской дипломатии в обеспечении безопасности в Европе, усилия СССР в создании системы коллективной безопасности, подготовку к войне как Советского Союза, так и Германии, а также ряд других проблем. Руководитель секции – доктор культурологии, доцент Н.Е. Мусинова, секретарь – кандидат исторических наук И.А. Самольга.

Секция «Правда и вымыслы о Второй мировой и Великой Отечественной войнах» была посвящена проблемам объективного научного освещения хода Великой Отечественной войны – боевым действиям и их обеспечению, развитию вооружения Красной Армии и др. Особое внимание участников было уделено вкладу в победу химических войск. В докладах представителей ВС зарубежных стран рассматривались вопросы участия в войне союзных республик – Казахской и Узбекской ССР. Руководитель секции – доктор философских наук, профессор М.Л. Груздева, секретарь – кандидат исторических наук А.М. Журавлев.

На секции «Итоги и уроки Второй мировой и Великой Отечественной войн» были представлены доклады, посвященные статистической оценке последствий Второй мировой и Великой Отечественной войн, преступлениям против человечности нацистской Германии, битве в Арденнах (1944–1945 гг.), а также значению истории Великой Отечественной войны в воспитательном процессе молодого поколения. Руководитель секции – доктор военных наук, доцент А.А. Курилов, секретарь – полковник А.Н. Колпаков.

Секция «Вторая мировая война глазами современной российской молодежи» была посвящена целому комплексу проблем истории Второй мировой и Великой Отечественной войн, которые рассматривались в докладах, подготовленных курсантами академии. Руководитель секции – кандидат военных наук Ю.Н. Подоляко, секретарь – Н.А. Бреднева.

Всего на конференцию было представлено более 80 докладов.

В рамках работы конференции состоялась презентация книги участника Великой Отечественной войны, ветерана войск РХБ защиты Н.Б. Вайнштейна «Моя война». Ее автор служил в послевоенный период преподавателем Костромского высшего военного командного училища химической защиты (КВВКУХЗ). Также

работали две тематических выставки научной литературы.

В работе конференции в очной, заочной и дистанционной форме приняли участие представители военных и гражданских вузов, науч-

но-исследовательских учреждений, войсковых частей, школ, библиотек, музеев, ветеранских, поисковых и общественных организаций различных регионов России, а также военнослужащие ряда зарубежных государств.

Об авторах

Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» Министерства обороны Российской Федерации (ВА РХБЗ), 156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16.

Бакин Алексей Николаевич. Заместитель начальника ВА РХБЗ по учебной и научной работе, канд. биол. наук, доцент

Аккузин Константин Николаевич. Начальник отдела (организации научной работы и подготовки научно-педагогических кадров) ВА РХБЗ, канд. воен. наук

Чугунов Евгений Анатольевич. Старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории (обоснования исходных данных для планирования развития системы ВиС РХБ защиты) ВА РХБЗ, канд. истор. наук, доцент.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ), 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский пер., д. 13.

Шило Наталья Игоревна. Научный сотрудник отдела.

Вторая Всероссийская научно-практическая конференция «Исследование вопросов радиационной, химической и биологической защиты в мирное и военное время»



Участники Второй Всероссийской научно-практической конференции «Исследование вопросов радиационной, химической и биологической защиты в мирное и военное время» (г. Кострома, 15.09.2021 г.)

Актуальные вопросы применения войск радиационной, химической и биологической защиты (далее – войск РХБ защиты) в современных военных конфликтах и войнах будущего обсудили участники II Всероссийской научно-практической конференции «Исследование вопросов радиационной, химической и биологической защиты в мирное и военное время», состоявшейся 14–15 сентября 2021 г. в Военной академии радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко (г. Кострома).

Цель конференции – обсуждение проблем формирования перспективных направлений развития войск РХБ защиты, исследований по вопросам применения войск (сил) в современных военных конфликтах и войнах будущего, выработки новых форм и способов вооруженной борьбы, развития военно-научных школ Военной академии, совершенствования профессиональной подготовленности научно-педагогических работников, реализации новых знаний при подготовке специалистов в интересах войск.

Конференция проводилась в формате пленарного заседания и 17 секций. В ходе пленарного заседания с приветственным словом к участникам мероприятия обратился начальник Военной академии радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала

Советского Союза С.К. Тимошенко кандидат военных наук генерал-майор Емельянов И.М.

Председатель Военно-научного комитета (войск РХБ защиты) Вооруженных Сил Российской Федерации кандидат технических наук, доцент полковник Тырышкин С.Н. отметил, что в условиях стремительного развития компьютерных технологий, оружия на новых физических принципах, роботизации вооружения, применения беспилотных летательных аппаратов, быстротечности ведения боевых действий встает острая необходимость исследования вопросов применения войск (сил) в современных военных конфликтах и войнах будущего.

В ходе пленарного заседания прозвучали доклады, содержавшие в себе прогностические оценки и взгляды на характер вооруженной борьбы, на развитие войск РХБ защиты и их роль и место в войнах будущего.

Доцент кафедры общей тактики и оперативного искусства кандидат военных наук доцент Ковба В.И. представил доклад: «Современные взгляды на развитие тактики и оперативного искусства в войнах будущего». Он осветил изменение координатной системы войн будущего, изменение значимости сфер вооруженной борьбы, сферы применения искусственного интеллекта в военном деле, системы искусственного интеллекта для автономного

функционирования ВВТ и других систем, космический театр военных действий в войнах будущего, а также аспекты, предопределяющие развитие тактики и оперативного искусства в войнах будущего. Он отметил, что главная особенность содержания вооруженной борьбы в войнах и вооруженных конфликтах XXI в. состоит в том, что новые формы военных действий характеризуются как объемные, охватывающие все сферы вооруженной борьбы (суша, море, воздух, космос). При этом электронное, экономическое, психологическое, информационное и силовое воздействия будут осуществляться с возрастающей интенсивностью во времени и пространстве, что позволит добиваться решительных результатов в кратчайшие сроки и лишать противника инициативы, свободы маневра.

Начальник кафедры автоматизации управления войсками кандидат военных наук доцент полковник Новиков Ю.И. доложил ретроспективу развития искусственного интеллекта (ИИ), подробно остановился на проблемах по его внедрению и имеющемуся в Военной академии научно-техническому заделу по использованию ИИ в области автоматизированных систем управления войсками. Он отметил, что для достижения значимых успехов в области внедрения технологий ИИ необходима реализация системного подхода к развитию ИИ в войсках РХБ защиты, своего рода стратегия развития, основными направлениями которой могут стать: подготовка кадров в области ИИ; создание научных подразделений, занимающихся вопросами применения ИИ в интересах войск РХБ защиты; оснащение научных подразделений необходимыми программно-аппаратными средствами; проведение исследований в области ИИ в интересах войск РХБ защиты по направлениям: робототехнические комплексы; системы поддержки принятия решения; выявление РХБ обстановки; вооружение и средства РХБ защиты и другим.

Профессор кафедры (технического обеспечения радиационной, химической и биологической защиты) доктор военных наук Кондауров Р.В. представил доклад: «Применение перспективных образцов вооружения и средств РХБ защиты с элементами искусственного интеллекта». Он подробно остановился на национальных стратегиях национальной безопасности и развития ИИ, а также осветил области, требующие применения технологий и элементов ИИ: интеллектуальные системы поддержки принятия решений, обеспечивающие оперативное реагирование на изменение РХБ обстановки как в мирное, так и в военное время; интеллектуальные системы и элементы управления вооружением и средствами во-

йск РХБ защиты; экспертные системы. По его словам, уже на современном этапе можно использовать современные В и С РХБ защиты для совместного (группового) применения наземных и воздушных робототехнических средств в интересах решения задач РХБ защиты в условиях аварий (разрушений) РХБ опасных объектов. Управляемые искусственным интеллектом комплексы беспилотных летательных аппаратов могут обеспечить ведение радиационной и химической разведки, поиск источников ионизирующих излучений в районах аварий, в условиях сильно пересеченной, непроходимой местности, в условиях дефицита времени, отводимого на решение задач разведки, а также ведение визуальной разведки и визуального управления действиями наземных роботов, обеспечивающих выполнение наиболее сложных работ на аварийно опасных объектах. Он доложил, что уже сейчас научно-педагогические работники Военной академии участвуют в реализации стратегических национальных проектов, в том числе и в области научно-технологического развития.

Докторант отдела (организации научной работы и подготовки научно педагогических кадров) кандидат технических наук Козлов С.Ю. представил доклад «Направления развития оружия на новых физических принципах (лазерное, радиочастотное) иностранных государств – как источника угроз Российской Федерации». По его словам, анализ перспективных направлений развития оружия направленной энергии показал, что развитие данного направления в науке обеспечит адекватное реагирование на новые источники угроз для Российской Федерации. Он сообщил, что специалистами Военной академии обоснован и разработан подход по оценке эффективности защиты от поражающих факторов оружия направленной энергии для ослабления воздействия на войска (силы) поражающих факторов данного вида оружия.

Ведущий научный сотрудник 27 НЦ МО РФ доктор технических наук, профессор Хурса В.И. выступил с докладом «Задача снижения заметности – современные вызовы». Он доложил о необходимости проведения исследований по защите войск и объектов от силового и помехового ЭМИ, а именно по ослаблению аэрозолями силовых и помеховых потоков лучистой энергии оптического диапазона. Эта защита включает в себя применение аэрозолей для защиты от светового излучения ядерных взрывов, лазерного лучевого оружия и мощных тепловых лучистых потоков, а также защиту от воздействия помеховых средств противника в оптической области ЭМИ.

Заместитель заведующего отделом токсикологии ФГУП «Научно-исследовательский

институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России кандидат химических наук Уколов А.И. выступил с докладом «Совершенствование методов определения маркеров чрезвычайно токсичных химических веществ из Списка 1 Конвенции о запрещении химического оружия и уничтожения его запасов».

Далее конференция продолжила работу в формате 17 секций: «Исследование вопросов теории и практики РХБ защиты в современных боевых действиях»; «Проблемы строительства, подготовки и управления войсками РХБ защиты в мирное время»; «Актуальные вопросы развития системы технического обеспечения РХБ защиты»; «Современные технологии для средств защиты личного состава и окружающей среды от угроз радиационной, химической и биологической безопасности»; «Совершенствование методологии исследований в области оценки последствий применения противником оружия массового поражения и оружия, основанного на новых физических принципах действия»; «Исследование вопросов радиационной, химической и биологической разведки, засечки ядерных взрывов и радиационной безопасности в мирное и военное время»; «Общая и военно-прикладная химия»; «Математическое моделирование экспериментальных исследований РХБЗ и иных сфер с использованием программного обеспечения»; «Лингводидактические основы изучения тем, относящихся к сфере обеспечения национальной безопасности»; «Роль гуманитарного знания в сфере обеспечения национальной безопасности страны»; «Научные проблемы обеспечения живучести войск (сил) в операциях (боевых действиях)»; «Современное состояние и перспективы развития огнемётно-зажигательного вооружения, средств снижения заметности и специальной обработки»; «Исследование вопросов обеспе-

чения химической безопасности в мирное и военное время»; «Специальные конструкционные материалы в ВВСТ»; «Актуальные вопросы физической подготовки при подготовке кадров в сфере обеспечения национальной безопасности»; «Исследование вопросов биологической защиты в мирное и военное время»; «Состояния и перспективы развития автоматизированных систем войск РХБ защиты».

Также в ходе секционных заседаний были проведены круглые столы о деятельности военнопедagogических школ Военной академии.

Перед пленарным заседанием была организована выставка, на которой были продемонстрированы: результаты исследований в области выявления и оценки РХБ обстановки; результаты исследований в области обеспечения безопасности подразделений в условиях РХБ заражения; результаты совместных исследований с предприятиями промышленности в области создания новых конструкционных материалов; результаты исследований в области биологической защиты (противодействия новой коронавирусной инфекции) представленной 48 ЦНИИ МО РФ; результаты исследований в области защиты от оружия на новых физических принципах.

Отдельными стендами были представлены результаты создания «электронной образовательной среды» Военной академии и результаты деятельности в области охраны интеллектуальных прав.

В работе конференции в очной и заочной форме приняли участие представители военных и гражданских вузов, научно-исследовательских организаций и учреждений, войсковых частей, различных регионов России. На конференции приняло участие около 400 человек из 30 организаций, и свыше 60 участников из сторонних организаций.

Об авторах

Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» Министерства обороны Российской Федерации (ВА РХБЗ), 156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16.

Аккузин Константин Николаевич. Начальник отдела (организации научной работы и подготовки научно-педагогических кадров) ВА РХБЗ, канд. воен. наук

Сырников Иван Анатольевич. Заместитель начальника отдела (организации научной работы и подготовки научно-педагогических кадров) – начальник отделения (научно-исследовательских работ), канд. техн. наук.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ), 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский пер., д. 13.
Шило Наталья Игоревна. Научный сотрудник отдела.

В Военной академии РХБ защиты им. Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко прошла торжественная церемония приведения первокурсников к Военной присяге



Первокурсники Военной академии РХБ защиты им. Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко принимают Военную присягу

В церемонии приняли участие командование Военной академии, ветераны, представители профессорско-преподавательского состава, родители и выпускники разных лет.

Клятву на верность Родине произнесли более 200 курсантов, из которых 15 – девушки. География первокурсников широка. Многие приехали в Кострому, чтобы поступить в уникальный вуз, где обучают специалистов радиационной, химической и биологической защиты, из самых отдаленных уголков нашей страны. Среди поступивших в Военную академию в этом году есть как кадеты, так и юнармейцы.

В строю присягнувших на верность Отечеству курсантов Военной академии РХБ защиты немало представителей военных династий.

Торжественному мероприятию принятия присяги предшествовал курс молодого бойца, во время которого курсанты изучали воинские уставы, постигали мастерство строевой подготовки, а также прошли углубленное психологическое обследование.

Со знаменательным событием курсантов поздравил начальник Военной академии РХБ защиты генерал-майор Игорь Емельянов: «Уверен, каждый из вас будет служить примером добросовестного исполнения своего воинского долга. Достоинно продолжайте дело доблестных отцов,

дедов и прадедов. Будьте прилежными в обучении, с честью несите звание курсанта Военной академии».

Также в Военной академии состоялась экскурсия для родителей первокурсников по объектам учебно-материальной базы, а на плацу была организована выставка новых образцов вооружения и военной техники.

В заключение торжественной части настоятель храма Святого Георгия Победоносца при академии отец Олег благословил первокурсников на отличную учебу и выполнение воинского долга, а также окропил святой водой личный состав.

Завершилась церемония торжественным маршем офицеров и курсантов, а также выступлением военного оркестра академии.

Военная академия является не только учебным заведением, но и крупным научным центром по вопросам технологии органических веществ, специальных материалов, средств радиационной, химической и биологической защиты войск и окружающей среды и многим другим направлениям. В ней ведется подготовка для всех без исключения родов войск, а также силовых структур, федеральных органов исполнительной власти, ФСБ, ФСО, МВД, МЧС.

*Младший научный сотрудник 27 НЦ МО РФ
Н.П. Соляник*

Киселёв Александр Фёдорович (к 90-летию со дня рождения)

18 октября 2021 г. исполняется 90 лет со дня рождения одному из выдающихся отечественных теоретиков и практиков аэрозольного противодействия средствам разведки и наведения высокоточного оружия противника, участника крупных оперативно-тактических и стратегических учений, ветерану Вооруженных Сил полковнику в отставке Александру Фёдоровичу Киселёву.

А.Ф. Киселёв родился 18 октября 1931 г. в д. Денисьево Люберецкого района Московской области, в многодетной семье колхозника.

Александр Фёдорович участник трудового фронта в годы Великой Отечественной войны. Начал он свою непрерывную трудовую деятельность с четырнадцатилетнего возраста, проработав 5 лет на заводах химической промышленности.

После окончания школы в 1951 г. Александр приехал в Кострому в училище химических войск, которое окончил в 1954 г. с отличием и по распределению убыл для дальнейшего прохождения военной службы в Киевский военный округ. В 1961 г. «За успехи в освоении новой техники» Александр Фёдорович был награжден орденом «Красная Звезда».

В 1964 г. Александр Фёдорович поступает в Военную академию химической защиты, по окончании которой в 1969 г. он был направлен на должность старшего офицера управления Семипалатинского Государственного полигона по испытанию ядерных боеприпасов.

С 1970 по 1988 гг. Александр Фёдорович служил в должности преподавателя и старшего преподавателя кафедры «Химическое обеспечение боевых действий войск (РХБ защиты)» Военной Краснознаменной академии химической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко.

В 1988 г. был назначен старшим группы от Военной академии для выполнения интернационального долга в Республике Афганистан с целью решения задач по защите самолетов и вертолетов от высокоточного оружия противни-



Киселев Александр Федорович

ка, за успешное выполнение интернационального долга в Республике Афганистан был награжден вторым орденом «Красная Звезда».

За безупречную службу и образцовое выполнение служебных обязанностей также Александр Фёдорович был награжден 15 правительственными медалями и ценными подарками.

После увольнения из Вооруженных Сил с 1989 г. он работал на должностях младшего научного сотрудника, научного и старшего научного сотрудника в Военной Краснознаменной академии химической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко, 674 Научного центра и 27 Научного цент-

ра Минобороны России.

Внес большой вклад в обоснование необходимости и целесообразности применения маскирующих пенных покрытий для маскировки ВВТ и других объектов войск. Им разработаны способы маскировки объектов пенными покрытиями и способы действия частей и подразделений войск РХБ защиты при выполнении указанной задачи в различных видах боя. Принимал активное участие в разработке и проведении оперативных научно-исследовательских учений «Зея» (по применению аэрозольных средств в наступлении общевойсковой армии с преодолением крупной водной преграды), в стратегических учениях «Дозор-26».

Внес большой вклад в разработку сценариев к двум учебным фильмам «Аэрозольные средства» и «Применение аэрозольных средств в бою».

Участвовал в написании учебных пособий: «Применение дымов в бою», «Применение аэрозольных средств в бою и операции», в разработке наставлений по тактической, оперативной и стратегической маскировке войск и других руководящих документов по действиям частей РХБ защиты.

Командование войск РХБ защиты, коллектив 27 НЦ МО РФ, Союз ветеранов войск РХБ защиты, друзья, коллеги и ученики поздравляют Александра Федоровича с 90-летием со дня рождения и желают ему доброго здоровья и творческих успехов!

Рыбальченко Игорь Владимирович (к 75-летию со дня рождения)

Ведущий научный сотрудник ФГБУ «27 Научный центр» Министерства обороны РФ, доктор химических наук, профессор Игорь Владимирович Рыбальченко родился 23 ноября 1946 года в семье офицера, участника финской и Великой Отечественной войн, в г. Выборге Ленинградской области. В 1965 г. окончил Ленинградское суворовское военное училище с золотой медалью и успешно поступил на 1-й курс инженерного факультета Военной академии химической защиты (ВАХЗ), которую окончил в 1970 году.

В ходе обучения проявил незаурядные способности и стремление заниматься научной работой. Областью его научных интересов стала индикация токсичных веществ. По окончании академии в течение 2 лет проходил службу на Тихоокеанском флоте в должности «начальник службы – преподаватель», после чего в 1972 г. поступил в очную адъюнктуру на кафедру «Индикации, технических средств химической и неспецифической биологической разведки и контроля» ВАХЗ. Досрочно закончил обучение в очной адъюнктуре в 1974 г. и был назначен сначала на должность офицера, а в 1978 г. – на должность старшего офицера Научно-технического комитета Управления Начальника химических войск (УНХВ) МО СССР.

Проходя службу в УНХВ, И.В. Рыбальченко принимал активное участие в разработках, испытаниях, принятии на снабжение и внедрении в войска новейших средств химической и неспецифической биологической разведки и контроля, в том числе дистанционного действия.

Без отрыва от службы в 1976 г. под руководством профессора О.В. Чеботарева успешно защитил кандидатскую диссертацию, посвященную развитию и совершенствованию существующих и перспективных методов индикации отравляющих веществ.

В 1984 г. Игорь Владимирович возвращается на кафедру индикации ВАХЗ сначала в должности преподавателя, затем с 1986 г. – старшего преподавателя. С 1989 г. до 2000 г. он является начальником кафедры индикации, технических средств химической и неспецифической биологической разведки и контроля ВАХЗ.

В 1996 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора химических наук, посвященную проблемам разработки научно-методических основ и рекомендаций по методам обнаружения токсичных химикатов, подлежащих контролю при выполнении обяза-



*Профессор И.В. Рыбальченко
в химико-аналитической лаборатории
27 НЦ МО РФ, аккредитованной ОЗХО*



Профессор И.В. Рыбальченко

тельств международной Конвенции по запрещению химического оружия. После увольнения с военной службы в 2000 г. и по 2006 г. – профессор той же кафедры.

С 2006 г. и по настоящее время – ведущий научный сотрудник ФГБУ «27 Научный центр» МО РФ. Под его руководством создана современная аналитическая лаборатория, на базе которой подготовлен целый отряд воен-



Штаб-квартира Организации по запрещению химического оружия, Гаага, 2018 г.
Заместитель Генерального директора ОЗХО вручает профессору И.В. Рыбальченко сертификат аккредитации лаборатории 27 НЦ МО РФ

ных химиков-аналитиков высшей квалификации.

И.В. Рыбальченко внес значительный вклад в развитие хромато-масс-спектрометрического анализа как метода идентификации структур органических соединений – при его непосредственном участии были исследованы закономерности хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования веществ, подлежащих контролю по Конвенции о запрещении химического оружия, с использованием различных методов ионизации (электронная, химическая, электрораспылительная, химическая при атмосферном давлении) и масс-анализаторов (временноразлетного, тандемного, тройного квадрупольного, ионной ловушки).

Также под его руководством были разработаны оригинальные подходы к идентификации и определению основных маркеров токсичных веществ в пробах сложного состава. В ходе работы впервые получены масс-спектры электронной (66) и химической (73) ионизации токсичных веществ и созданы соответствующие базы данных.

При непосредственном участии профессора И.В. Рыбальченко проведено исследование фрагментации пептидных биомаркеров фосфорорганических соединений и продуктов биотрансформации ипритов методом высокоэффективной жидкостной тандемной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения. Были предложены новые подходы к определению эфиров алкилфосфоновых кислот в образцах плазмы крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием, а также способ

измерения массовой концентрации цианидов в пробах почв с использованием газовой хроматографии и тандемного масс-селективного детектирования.

В ходе подготовки к участию в международных тестах ОЗХО по определению биотоксинов группой сотрудников под руководством Игоря Владимировича были разработаны способы обнаружения рицина в растительных экстрактах и почве, тетродотоксина – в лекарственных препаратах.

Новые способы обнаружения продуктов трансформации токсичных химикатов были успешно внедрены и многократно испытаны во время участия лаборатории химико-аналитического контроля 27 НЦ МО РФ в профессиональном тестировании национальных лабораторий по программе международной Организации по запрещению химического оружия.

Разработанные при личном участии И.В. Рыбальченко способы обнаружения и идентификации токсичных химикатов и продуктов их трансформации имеют существенное значение для окончательного избавления человечества от химического оружия – антигуманного средства массового уничтожения людей.

Они также в значительной степени оказывают влияние на повышение обороноспособности страны в условиях сохраняющейся угрозы применения химического оружия, и могут быть эффективно использованы для однозначного и надежного установления присутствия этих соединений в объектах окружающей среды, в организмах животных и человека, что является достоверным подтверждением фактов применения химического оружия.

Наличие такого инструментария особенно актуально в эпоху гибридных войн и информационных кампаний, связанных с ложными обвинениями в нарушении Конвенции о запрещении химического оружия и направленных на подрыв позиций России на международной арене. Лаборатория в течение более 25 лет успешно представляет Российскую Федерацию в ежегодных межлабораторных профессиональных тестах Организации по запрещению химического оружия (ОЗХО), направленных на аккредитацию лабораторий, способных квалифицированно и оперативно выполнять анализы проб сложного состава с целью идентификации в них компонентов химического оружия. В 2000 году, показав соответствие сложной системе критериев, лаборатория получила аккредитацию ОЗХО, которую удерживает по настоящее время.

И.В. Рыбальченко – признанный на международном уровне специалист в области физико-химических методов анализа высокотоксич-



Одно из увлечений профессора



Горные лыжи – увлечение профессора

ных соединений. Является членом постоянной группы экспертов по защите от химического оружия, функционирующей при Организации по запрещению химического оружия (ОЗХО), в течение ряда лет входил в состав Научно-консультативного совета ОЗХО.

С 2002 г. он включен в список квалифицированных экспертов по химическому оружию Комиссии при Совете безопасности ООН, входит в состав Научного совета по аналитической химии Российской академии наук, член редакционной коллегии «Журнала аналитической химии» РАН, работает в составе 4 диссертационных советов.

Профессор И.В. Рыбальченко награжден медалью «За трудовое отличие», медалью ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени, а также многими ведомственными медалями и почетными знаками.

Во время торжественного мероприятия, посвященного 103-й годовщине со дня образования войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации в Центральном доме Российской Армии имени М.В. Фрунзе он был награжден дипломом и кубком Начальника войск РХБЗ ВС РФ в номинации «Мастер своего дела».

В 2018 г. И.В. Рыбальченко стал лауреатом первой премии РАН и Патриархии памяти Митрополита московского и коломенского Макария по естественным наукам в номинации «Научные исследования в области естественных и точных наук, имеющие высокое общественное и гражданское значение».

Игорь Владимирович является автором более 200 опубликованных работ, в том числе 19 патентов на изобретения.

Им создана официально зарегистрированная в Минобороны РФ научная школа, его ученики служат в Вооруженных Силах РФ, работают в научных институтах РАН и отраслевых НИИ. Под его руководством и при консультировании успешно защищены 12 кандидатских и 8 докторских диссертаций.

Увлечениями Игоря Владимировича являются горные лыжи и рыбалка в любое время года.

Командование войск РХБ защиты, коллектив «27 Научного центра» МО РФ, друзья, товарищи и коллеги поздравляют Игоря Владимировича Рыбальченко с 75-летием со дня рождения и желают ему доброго здоровья, счастья и успехов.

Якимчук Петр Трофимович (к 75-летию со дня рождения)

Петр Трофимович Якимчук родился 11 июля 1946 года в селе Божев Гороховского района Волынской области.

Службу начал в Советской Армии в 1963 году, поступив в Саратовское военно-химическое училище. После окончания училища в 1966 году был направлен для дальнейшего прохождения военной службы в распоряжение начальника 7 Управления Министерства обороны СССР и назначен на должность техника-аналитика одного из отделов 41 НИИ Министерства обороны СССР, впоследствии – Вирусологического центра НИИ микробиологии, расположенного в г. Загорске (ныне г. Сергиев Посад) Московской области.

Петр Трофимович всю свою службу проработал в научно-исследовательском отделе, работа которого была направлена на разработку и испытание специальной техники и средств защиты контингентов Вооруженных Сил и населения Российской Федерации от возбудителей опасных и особо опасных инфекционных заболеваний. За время службы он как организатор научно-исследовательской деятельности внес весомый вклад в разработку, изучение, испытание и внедрение новых, в том числе не имеющих аналогов в мире защитных иммунобиологических препаратов и лекарственных средств. В указанной области П.Т. Якимчук являлся признанным и авторитетным специалистом. Результаты его работы нашли отражение в 85 научных работах. Своим личным трудом и трудом возглавляемого коллектива сотрудни-



Якимчук Петр Трофимович

ков обеспечил качественное выполнение заданий командования. Петр Трофимович награжден восемью медалями Вооруженных Сил СССР. Приобретенный многолетний опыт позволил ему создать рабочий коллектив единомышленников, который и поныне продолжает выполнять все новые и новые задачи также эффективно.

П.Т. Якимчук прошел все ступени должностного и научного роста от младшего научного сотрудника до начальника лаборатории. Посвятив свою жизнь служению Отчизне и ее армии, он прошел трудный, но вместе с тем славный путь от лейтенанта до подполковника.

Его культура, эрудиция, деловитость, требовательность при неизменно доброжелательном отношении к людям снискали искреннее уважение командования и всех сотрудников.

После окончания в 1993 году военной службы П.Т. Якимчук нашел применение своим организаторским способностям на гражданском поприще. Он продолжает трудиться в сфере обеспечения благосостояния ставшего ему родным г. Сергиев Посад.

Прекрасный семьянин, любящий отец и дедушка Петр Трофимович Якимчук проявляет глубокую заботу о своих родных и близких.

От всей души поздравляем Петра Трофимовича Якимчука с Юбилеем! Желаем крепкого здоровья, семейного тепла и благополучия.

*Совет ветеранов
ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России*

Наша замечательная Россия

Корякское стойбище «Кайныран», Камчатка



Восстановленное корякское стойбище «Кайныран» – это инициатива местных властей, имеющая своей целью сохранение этнической самобытности корякского народа. Оно находится в 16 км от г. Елизово и ориентировано на туристов. «Кайныран» в переводе с корякского означает «медвежий дом» («кайнын» – медведь, «ран» – дом). Кочевые коряки предпочитали переносные яранги. Береговые коряки строили полуземлянки, которые располагались на расстоянии от трех до десяти километров от побережья. С приходом на Камчатку русских быт коряков стал напоминать русский. Генерал-гидрограф Главного Штаба Г.А. Сарычев (1763–1831) в 1802 г. писал: «Сравнивая нынешнее состояние камчадалов с описанием г-на Крашенинникова, нашли мы великую перемену. Камчадалы вообще оставили уже прежние свои суеверные обряды и все почти окрещены. Юрт их или землянок почти нигде не видно, а вместо того построены везде русские избы. Камчадалки стали одеваться по праздникам большей частью так, как казачки: носят душегрейки и юбки, а головы покрывают платками». С.П. Крашенинников исследовал Камчатку в 1737–1741 гг. Так что такие глубокие изменения в жизни камчадалов произошли всего за два поколения, быт русских оказался для них более привлекателен, чем тот, которого они придерживались не менее 15 тыс. лет.

Фотография вверху – корякские девушки исполняют танец «Чайка». Фотографии в нижнем ряду: слева – на стойбище живут медведи, их приютили еще потерявшимися медвежатами. Этот медведь не любит принимать пищу с земли, предпочитает, чтобы ему клали ее «на лапу»; в центре – внутренняя часть яранги. Большинство коряков так не живут; справа – рядом со стойбищем находится питомник по разведению камчатских ездовых собак. Это умные, добрые и трудолюбивые животные. Нужда в них сохраняется в труднодоступных районах полуострова.

Фотографии М.В. Супотницкого



Сайт журнала



РИНЦ

