

ISSN 2587-5728 (Print)
ISSN 3034-2791 (Online)

ISSN 3034-2791 (Online)

Nº / No.

8

T

январь – март
january – march

2024

www.nbsprot.ru

ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

JOURNAL OF NBC PROTECTION CORPS

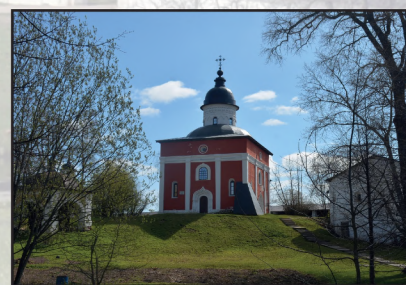
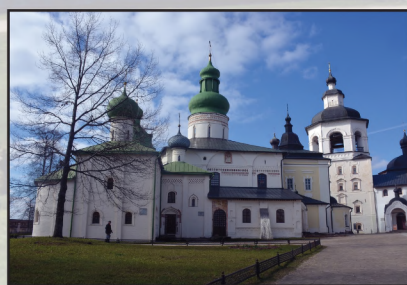
Общие вопросы РХБ защиты войск и населения

General Issues of NBC Protection of Troops and the Population



Наша замечательная Россия

Кирилло-Белозерский монастырь



Кирилло-Белозерский монастырь-крепость основан в конце XIV в. на берегу Сиверского озера монахом Кириллом Белозерским (1337–1427). В 1404 г. он состоял из Успенского (основного) и Ивановского (малого) монастырей. К 1600 г. монастыри были обнесены первой крепостной каменной оградой с восемью башнями. И как оказалось – вовремя. В августе 1612 г. польско-литовские отряды и «воровские казаки», руководимые паном Бобовским и полковником Песоцким, осадили обитель, но поняли, что она им «не по зубам». В декабре они вернулись с подкреплениями и предприняли штурм, кончившийся для них катастрофой и гибелью Песоцкого. В 1653 г. началось строительство новой крепости, продолжавшееся 30 лет. Но врага она не увидела, граница России была отодвинута Петром Первым к Балтике. К 1701 г. монастырь потерял оборонительное значение. С 1924 г. – историко-архитектурный музей-заповедник. В 1998 г. часть территории передана мужскому монастырю Вологодской епархии. Верхняя фотография – Кирилло-Белозерский монастырь со стороны Сиверского озера. Слева – Свиточная (1591) и Поваренная (1630) башни укрепления Успенского монастыря, справа – Глухая башня (XVI в.) укрепления Ивановского монастыря. Зеленые купола – Успенский собор. Фотографии нижнего ряда: слева – фрагмент стены первой крепости с пристроенной Поваренной башней; в центре – Успенский собор (1497) с церквями-приделами равноапостольного великого князя Владимира (1554), епископа Епифания Кипрского (1645) и игумена Кирилла Белозерского (1785). За собором колокольня и церковь Архангела Гавриила (1532–1534); справа – Церковь Усекновения Главы Иоанна Предтечи (1531–1534). Построена на вклад Великого московского князя Василия III после рождения сына, будущего Ивана IV (Грозного), что в глазах современников связывалось с заступничеством преподобного Кирилла Белозерского.

Фотографии М.В. Супотницкого



Журнал издается
с 2017 года

ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

ISSN 2587-5728

(Print)

ISSN 3034-2791

(Online)

Том 8, № 1

2024 г.

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. «Вестник войск РХБ защиты» – единственный журнал в Российской Федерации, который рассматривает научные проблемы соблюдения конвенций о запрещении химического и биологического оружия, а также историю применения химического и биологического оружия в войнах и конфликтах.

Учредитель и издатель

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского»
Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ)

Выходит ежеквартально

Главный редактор

Петров Станислав Вениаминович.
Доктор технических наук. Главный научный сотрудник 27 НЦ МО РФ.
Москва, Россия

Заместители главного редактора

Супотницкий Михаил Васильевич
Кандидат биологических наук. Старший научный сотрудник. Главный специалист 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Колесников Дмитрий Петрович
Кандидат технических наук, доцент. Старший научный сотрудник 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Научные редакторы

Лебединская Елена Владимировна
Кандидат биологических наук. Научный редактор отдела 27 НЦ МО РФ.
Москва, Россия

Шило Наталья Игоревна
Научный сотрудник отдела 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Редактор, дизайн, верстка

Шачнева Наталья Владимировна
Научный сотрудник отдела 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Редакционная коллегия

Агеев Николай Валентинович
Доктор исторических наук, профессор. Преподаватель кафедры истории войн и военного искусства Военной академии Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации. Москва, Россия

Аминин Дмитрий Львович
Доктор биологических наук, член-кор. РАН. Начальник лаборатории биоспытаний и механизма действия биологически активных веществ Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН. Владивосток, Россия

Бей Евгений Васильевич
Доктор исторических наук. Заместитель начальника отдела Научно-исследовательского института (военной истории) Военной академии Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации. Москва, Россия

Григорьев Андрей Михайлович
Доктор химических наук. Старший научный сотрудник отдела 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Дармов Илья Владимирович
Доктор медицинских наук, профессор. Главный научный сотрудник научно-исследовательского управления филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ. Киров, Россия

Ефременко Елена Николаевна
Доктор биологических наук, профессор. Заведующая лабораторией кафедры химической энзимологии химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Москва, Россия

Завьялова Наталья Васильевна
Доктор биологических наук, профессор. Главный научный сотрудник управления 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Кондратьев Владимир Борисович
Доктор технических наук, профессор. Генеральный директор ГНИИ органической химии и технологии. Москва, Россия

Лакота Ян Янович
Доктор медицинских наук. Кандидат медицинских наук (онкология). Сотрудник Центра экспериментальной медицины Словацкой академии наук. Братислава, Словакия

Лещенко Андрей Анатольевич.
Доктор технических наук, профессор. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ. Киров, Россия

К публикации принимаются статьи, подготовленные на русском и английском языках, в соответствии с правилами для авторов, размещенными на сайте журнала
<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>

Преимуществом в опубликовании пользуются работы по научным специальностям:

6.2.1. Вооружение и военная техника (технические науки).

6.2.10. Поражающее действие специальных видов оружия, средства и способы защиты (химические науки, технические науки, биологические науки).

6.3.3. Военная история (исторические науки).

Рецензируемый журнал открытого доступа, индексируется в российских и международных реферативных и индексных базах данных: Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), Российская государственная библиотека, DOAJ, ROAD, Академия Google (Google Scholar), Mendeley, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, Lens.org, Ulrichsweb, Unpaywall, OpenCitations, Wikidata и др.

Условия оферты для авторов приведены в п. 12 Правил для авторов (<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>).

Используется модель двойного слепого рецензирования. Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописей не взимается. Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution International 4.0 (CC BY 4.0).

Журнал распространяется в органах законодательной и исполнительной власти Российской Федерации, в центральных органах военного управления, в научно-исследовательских организациях и образовательных учреждениях Министерства обороны Российской Федерации.

Позиция редакции может не совпадать с точкой зрения авторов.

Монаков Михаил Сергеевич
Доктор исторических наук. Старший научный сотрудник отдела Научно-исследовательского института (военной истории) Военной академии Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации. Москва, Россия

Нечипуренко Юрий Дмитриевич
Доктор физико-математических наук. Ведущий научный сотрудник лаборатории ДНК-белковых взаимодействий Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН. Москва, Россия

Родин Игорь Александрович
Доктор химических наук. Заместитель декана по научно-инновационной работе химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Москва, Россия

Рыбальченко Игорь Владимирович
Доктор химических наук, профессор. Ведущий научный сотрудник отдела 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Холстов Виктор Иванович
Доктор химических наук, профессор. Руководитель Центра аналитических исследований Российской Федерации по конвенциям о запрещении химического и биологического оружия при Минпромторге России. Москва, Россия

Чугунов Евгений Анатольевич
Кандидат исторических наук. Доцент Военной академии РХБ защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко МО РФ. Кострома, Россия

Редакционный совет

Кириллов Игорь Анатольевич (председатель)
Кандидат военных наук. Начальник войск РХБ защиты ВС РФ. Москва, Россия

Ковтун Виктор Александрович (заместитель председателя)
Кандидат химических наук, доцент. Начальник 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Иноземцев Валерий Александрович
Доктор военных наук. Начальник ФГБУ «33 ЦНИИИ» МО РФ. Вольск, Россия

Туманов Александр Сергеевич
Кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник. Начальник филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ. Киров, Россия

Шабельников Максим Петрович
Кандидат технических наук. Заместитель начальника 27 НЦ МО РФ по НИР. Москва, Россия

СОДЕРЖАНИЕ

Все рукописи проверяются программой «Антиплагиат»

Тема номера: Общие вопросы РХБ защиты войск и населения

Химическая безопасность и защита от химического терроризма
Соматическая генная терапия в предотвращении токсического действия
фосфорорганических агентов (англ.)
Я. Лакота 5
Идентификация EA-3167, структурного аналога инкапсита BZ, в объектах,
доставленных из зоны проведения специальной военной операции и обнаружение
его метаболитов в моче при экспонировании крыс
А.М. Григорьев, В.А. Яшкир, В.И. Крылов, Н.А. Колосова, В.Н. Фатеенков 18

Биологическая безопасность и защита от биологических угроз
Биологические свойства бактериальных токсинов
М.В. Супотницкий. 34

Вооружения и средства войск РХБ защиты
Обоснование архитектуры перспективной автоматизированной системы мониторинга
радиационной, химической и биологической обстановки
с использованием искусственного интеллекта
С.А. Шаров, Д.С. Батинов, М.А. Осипов, М.В. Домнин, С.А. Морозов,
М.А. Голышев, Ю.И. Хрипков, А.В. Надеин, И.В. Чебыкин, В.Д. Васин, М.М. Бец. 65

Исторический архив
История развития отечественных средств химической разведки
А.Н. Петухов, В.В. Вильчик, Т.В. Шустикова, Д.М. Имамов, М.С. Молчанов. 78

Адрес редакции:
27 НЦ МО РФ, 111024, г. Москва, проезд Энтузиастов, д.19.
Тел.: 8 (495) 693-44-48, e-mail: 27nc_1@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: 27.03.2024 г. Дата выхода в свет 30.03.2024 г. Тираж 400 экз. Цена свободная.
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@cniihm.ru



JOURNAL

OF NBC PROTECTION CORPS

[Vestnik voysk RChB zashchity]

ISSN 2587-5728
(Print)
ISSN 3034-2791
(Online)
Vol. 8 No 1
2024

Published since
2017

"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. "Journal of NBC Protection Corps" is the only journal in the Russian Federation that examines the scientific problems of compliance with the conventions on the prohibition of chemical and biological weapons, as well as the history of the use of chemical and biological weapons in wars and conflicts.

Founder and Publisher

Federal State Budgetary Establishment
"27 Scientific Centre Named After Academician N.D. Zelinsky" of the Ministry of
Defence of the Russian Federation (27 SC MD RF).

Quarterly Edition

Editor-in-Chief

Stanislav Veniaminovich Petrov
Doctor of Technical Sciences. Leading Researcher of the 27 SC MD RF.
Moscow, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Mikhail Vasilievich Supotnitskiy
Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher. Chief Specialist of the
27 SC MD RF, Moscow, Russia

Dmitry Petrovich Kolesnikov
Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher of the 27 SC MD RF.
Moscow, Russia

Science Editors

Elena Vladimirovna Lebedinskaya
Candidate of Biological Sciences. Researcher at the Department of the
27 SC MD RF, Moscow, Russia

Natalya Igorevna Shilo
Researcher at the Department of the 27 SC MD RF, Moscow, Russia

Editor, CRC preparation:

Natalya Vladimirovna Shachneva
Researcher at the Department of the 27 SC MD RF, Moscow, Russia

Editorial Board

Nikolay Valentinovich Ageyev
Doctor of Historical Sciences, Professor. Lecturer of the Subdepartment of History
of Wars and Military Art of the Military Academy of the RF Armed Forces' General
Staff, Moscow, Russia

Dmitry Lvovich Aminin
Doctor of Biological Sciences. Corresponding Member of the Russian Academy
of Sciences. Head of the Laboratory of Biotesting and the Mechanism of Action
of Biologically Active Substances. Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern
Branch of the Russian Academy of Sciences. Vladivostok, Russia

Yevgeny Vasilyevich Bey
Doctor of Historical Sciences, Deputy Head of the Department at the Military
History Research Institute of the Military Academy of the RF Armed Forces'
General Staff, Moscow, Russia

Andrej M. Grigoryev
Doctor of Chemical Sciences. Senior Researcher of the Department
of the 27 SC MD RF, Moscow, Russia

Ilya Vladimirovich Darmov
Doctor of Medical Sciences. Professor. Chief Research Associate of the Research
Department. Branch Office of the «48 Central Scientific Research Institute»,
MD RF, Kirov, Russia

Elena Nikolaevna Efremenko
Doctor of Biological Sciences, Professor. Head of the Laboratory, Department of
Chemical Enzymology, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University,
Moscow, Russia

Natalia Vasilevna Zavvalova
Doctor of Biological Sciences. Professor. Chief Researcher of the Department of
the 27 SC MD RF, Moscow, Russia

Vladimir Borisovich Kondratiev
Doctor of Technical Sciences. Professor. General Director of the State Research
Institute of Organic Chemistry and Technology, Moscow, Russia

Lakota Ján
MUDr., (MD), CSc. (PhD). Senior Lecturer, Fellow at the Center of experimental
medicine SAS, Bratislava, Slovakia

Andrey Anatolyevich Leshchenko
Doctor of Technical Sciences. Professor. Leading Researcher of the Scientific
and Research Department. Branch Office of the «48 Central Scientific Research
Institute», MD RF, Kirov, Russia

Articles in Russian and English are accepted for publication, prepared in accordance
with the rules for authors posted on the journal's website

<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>

Papers in scientific specialties

6.2.1. Armament and military equipment (technical sciences).

6.2.10. The destructive effect of special types of weapons, means and methods of
protection (chemical sciences, technical sciences, biological sciences).

6.3.3. Military history (historical sciences).

The peer-reviewed open access journal is indexed in the following databases:

Russian Science Citation Index (RSCI), Russian State Library, DOAJ, ROAD,
Google Scholar (Google Scholar), Mendeley, Dimensions, Open Archives Initiative,
ResearchBib, Lens.org, Ulrichsweb, Unpaywall, OpenCitations, Wikidata, etc.

The terms of the offer for authors are given in §12 of the Rules for Authors
(<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>). A double-
blind review model is used. There is no fee for publishing an article or reviewing a
manuscript. The content is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0
International license (CC BY 4.0).

The journal is distributed among the bodies of legislative and executive power of
the Russian Federation, in the main military headquarters, scientific and research
institutions and educational establishments of the Ministry of Defence of the
Russian Federation, in engineering, experimental design offices and industrial and
manufacturing structures, working in the sphere of NBC Defence.

The information and views set out in this publication are those of the author(s) and
do not necessarily reflect the official opinion of the Editorial Board.

Monakov Mikhail Sergeyevich
Doctor of Historical Sciences, Senior Researcher of the Department at the Military
History Research Institute of the Military Academy of the RF Armed Forces'
General Staff, Moscow, Russia

Yuri Dmitriyevich Nechipurenko
Doctor of Physical and Mathematical Sciences. Chief Researcher, Laboratory of
DNA-Protein Interactions, Engelhardt Institute of Molecular Biology of Russian
Academy of Sciences, Moscow, Russia

Igor Aleksandrovich Rodin
Doctor of Chemical Sciences. Deputy Dean of the Faculty of Chemistry,
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Igor Vladimirovich Rybalchenko
Doctor of Chemical Sciences. Professor. Leading Researcher of the Department
of the 27 SC MD RF, Moscow, Russia

Viktor Ivanovich Kholstov
Doctor of Chemical Sciences. Professor. Head of the Russian Center for Analytical
Research on Conventions on the Prohibition of Chemical and Biological Weapons
under the Ministry of Industry and Trade of Russia. Moscow, Russia

Yevgeniy Anatolyevich Chugunov
Candidate of Historical Sciences. Associate Professor. Marshal of the Soviet Union
S.K. Tymoshenko Military Academy of NBC Protection, MD RF, Kostroma, Russia

Editorial Council

Igor Anatolyevich Kirillov (Chairman)
Candidate of Military Sciences. Head of the Radiation, Chemical and Biological
Protection Troops of the Armed Forces of the Russian Federation. Moscow, Russia

Viktor Aleksandrovich Kovtun (Deputy chairman)
Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor. Head of the 27 SC MD RF,
Moscow, Russia

Valery Aleksandrovich Inozemtsev
Doctor of Military Sciences. Head of the «33 Central Scientific Research Test
Institute», MD RF, Volsk, Russia

Alexander Sergeevich Tumanov
Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher. Head of the Branch Office of
the «48 Central Scientific Research Institute», MD RF, Kirov, Russia

Maxim Petrovich Shabelnikov
Candidate of Technical Sciences. Deputy Head of the 27 SC MD RF,
Moscow, Russia

Theme of the Issue: General Issues of NBC Protection of Troops and the Population

Chemical Security and Protection Against Chemical Terrorism

Somatic Gene Therapy in the Prevention of Toxic Effects of Organophosphate Agents J. Lakota.	5
Identification of EA-3167, a Structural Analogue of the BZ Incapacitant, in Objects Delivered from the Zone of a Special Military Operation and Detection of Its Metabolites in Urine during Exposure of Rats A.M. Grigoryev, V.A. Jashkir, V.I. Krylov, N.A. Kolosova, V.N. Fateenkov.	18

Biological Security and Protection Against Biological Threats

The Biological Properties of Bacterial Toxins M.V. Supotnitskiy.	34
--	----

Weapons and Means of NBC Protection Troop

Justification of the Architecture a Promising Automated System for Monitoring Radiation, Chemical and Biological Environment Using Artificial Intelligence S.A. Sharov, D.S. Batinov, M.A. Osipov, M.V. Domnin, S.A. Morozov, M.A. Golyshev, Yu.I. Khripkov, A.V. Nadein, I.V. Chebykin, V.D. Vasin, M.M. Bets.	65
---	----

Historical Archive

The History of the Development of Domestic Chemical Intelligence Tools A.N. Petukhov, V.V. Vilchik, T.V. Shustikova, D.M. Imamov, M.S. Molchanov.	78
---	----

Address of the Editorial Office:

Federal State Budgetary Establishment
«27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Entuziastov Passage, 19, Moscow, 111024, Russian Federation.
Tel.: 8 (495) 693-44-48, e-mail: 27nc_1@mail.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
ПИ № ФС 77-69472, April 25, 2017.
All rights reserved. Links to the journal are obligatory while citing.
Passed for printing: 27 March 2024.
Date of publication 30 March 2024.
Print run: 400 copies. Free price
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



Somatic Gene Therapy in the Prevention of Toxic Effects of Organophosphate Agents

Ján Lakota[✉]

Centre of Experimental Medicine, SAS,
Dubravská cesta 9, 841 04 Bratislava, Slovakia
✉ e-mail: jan.lakota@savba.sk

Medical intervention in poisoning by organophosphate toxic agents (OPA) using atropine sulfate, 2-pyridinaldoxymethyl chloride (2-PAM), diazepam and other similar drugs can prevent the fatal outcome of poisoning. These drugs do not protect in case of sudden chemical attack and against post-exposure complications associated with permanent brain damage. The U.S. Department of Defense is funding research that can significantly simplify the protection of military personnel from OPA damage in the future. Their essence is in the use of gene therapy technologies, which allow experimental animals to produce their own proteins that destroy OPA and provide them with protection for several months. **The aim of the work** is to identify the achieved level of knowledge in the research using gene therapy technologies to create living objects resistant to OPA. **The research method** is analytical. **The source base of the research** are publications in scientific journals and descriptions of patents. **Discussion of the results.** As an enzyme that breaks down OPA in such experiments, genetically modified paraoxanase 1 (PON1) showed the greatest efficiency. PON1 hydrolyzes G-type OPAs, paraoxone, chlorpyrifosoxone, diazoxone and several other organophosphates. Adeno-associated virus vectors (AAV8, etc.) were used to introduce the gene encoding PON1 into the animal's body. A single injection of AAV8 carrying the recombinant *PON1-IF11* gene (AAV8-PON1-IF11) resulted in high expression and secretion of the recombinant PON1-IF11 protein into the bloodstream and provided asymptomatic protection against multiple lethal doses of G-type OPA for at least 5 months. These studies are still in their early stage. An analysis of the affiliation of the authors of publications and patents showed a high involvement of the U.S. military department and its cooperating organizations (DTRA, etc.) in such research. **Conclusion.** Given the fascination in the West with the ideas of human modification using gene therapy methods, this direction will be intensively developed for military purposes. At the same time, the idea of pre-created resistance to OPA is in demand by the widespread use of organophosphates in agriculture. The author believes that it would be safer to use allogeneic mesenchymal stem cells transfected with genetically modified PON1 variants with enhanced enzyme activity. This resistance to OP agents can be health protective and lifesaving in soldiers in real combat when the enemy uses these agents. However, this approach must be based on a strong experimental background. The door is open, the technologies are available.

Keywords: adeno-associated virus; chemical weapons; gene therapy; genetic modification; nerve agents; organophosphates; paraoxonase 1; PON1; protect soldiers; rePON1.

For citation: Lakota J. Somatic Gene Therapy in the Prevention of Toxic Effects of Organophosphate Agents. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(1):5–17. EDN:wunttx.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-5-17>

Financial disclosure: The author has no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: The author is a member of the Editorial Board of the journal since 2023.

Funding: There are no funding sources to declare.

Received December 14, 2023. Accepted March 27, 2024

Соматическая генная терапия и предотвращение токсического действия фосфорорганических отравляющих веществ и токсичных химикатов

Я. Лакота✉

Центр экспериментальной медицины, Словацкая Академия наук,
Дубравская дорога 9, 841 04, Братислава, Словакия.
✉ e-mail: jan.lakota@savba.sk

Медицинское вмешательство при поражениях фосфорорганическими отравляющими веществами (ФОВ) с использованием сульфата атропина, 2-пиридиналдоксимметилхлорида (2-ПАМ), диазепама и других аналогичных препаратов способно предотвратить смертельный исход отравления. Однако эти средства не защищают от внезапного химического нападения и от постконтактных осложнений, связанных с необратимым повреждением головного мозга. Военное ведомство США финансирует исследования, способные в будущем значительно упростить защиту военнослужащих от поражения ФОВ. Их суть заключается в использовании технологий генной терапии, в ходе которой организм экспериментальных животных вырабатывает собственные белки, разрушающие ФОВ, что обеспечивает защиту на несколько месяцев. **Цель работы** – выявить достигнутый уровень исследований, использующих технологии генной терапии для создания устойчивых к ФОВ живых объектов. **Метод исследования** – аналитический. **Источниковая база исследования** – публикации в научных журналах и описания к патентам. **Обсуждение результатов.** В качестве фермента, расщепляющего ФОВ в таких экспериментах, наибольшую эффективность показала генно-модифицированная параоксаназа 1 (PON1). PON1 обладает способностью гидролизовать ФОВ G-типа, параоксон, хлорпирифосоксон, diazoxon и ряд других органофосфатов. Для введения в организм животного гена, кодирующего PON1, используются векторы на основе аденоассоциированного вируса (AAV8 и др.). Однократное введение AAV8, несущего рекомбинантный ген *PON1-IF11* (AAV8-PON1-IF11), приводило к высокой экспрессии и секреции рекомбинантного белка PON1-IF11 в кровеносное русло и давало бессимптомную защиту от нескольких смертельных доз ФОВ G-типа в течение как минимум 5 мес. Эти исследования пока находятся на ранней стадии. Анализ аффилиции авторов публикаций и патентов показал, что в таких исследованиях активно участвуют военное ведомство США и сотрудничающие с ним организации (DTRA и др.). **Заключение.** Учитывая интерес на Западе к идеям модификации человека методами генной терапии, можно предположить, что это направление будет интенсивно развиваться в военных целях. В то же время сама идея заблаговременно созданной устойчивости к ФОВ востребована и в гражданской сфере в связи с широким применением органофосфатов в сельском хозяйстве. Автор считает, что более безопасным будет использование аллогенных мезенхимальных стволовых клеток, генетически модифицированных различными вариантами PON1. Эта устойчивость к ФОВ может защитить здоровье и спасти жизнь военнослужащих в реальном бою в случае использования противником ФОВ. Однако такие способы защиты от органофосфатов должны основываться на серьезных экспериментальных исследованиях, гарантирующих безопасность их применения. Дверь на новый уровень защиты от ФОВ открыта, технологии доступны.

Ключевые слова: аденоассоциированный вирус; боевые отравляющие вещества нервно-паралитического действия; генетическая модификация; генная терапия; защита солдат; нервно-паралитические агенты; органофосфаты; параоксаназа 1; PON1; rePON1; химическое оружие.

Библиографическое описание: Лакота Я. Соматическая генная терапия и предотвращение токсического действия фосфорорганических отравляющих веществ и токсичных химикатов. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(1):5–17. EDN:wunttx.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-5-17>

Прозрачность финансовой деятельности: автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: автор является членом редколлегии журнала (с 2023 г.).

Финансирование: источников финансирования для декларирования нет.

Поступила 14.12.2023 г. Принята к публикации 27.03.2024 г.

In January 2020 the following statement of U.S. Army Medical Research Institute of Chemical Defense “Genetic Modification Could Protect Soldiers from Chemical Weapons”¹ has been published. This statement was based on a commentary in the journal Science². Because this citation is not available always free to the reader in general, we cite some parts from the original Science comment. Here the author (Jocelyn Kaiser) writes: «Despite international bans, some countries, such as Syria, use deadly nerve agents against enemy soldiers and civilians³. Existing treatments for these chemical weapon attacks must be given quickly and don't always prevent convulsions or brain damage. Now, the U.S. Army researchers have created a gene therapy that allows mice to make their own nerve agent-busting proteins, providing protection against the toxicants for months. The strategy could theoretically be adopted for human soldiers, but it would have risks. A person could develop a harmful immune response to the introduced protein, for example. The statement follows: “There are a number of pros and cons”, says biochemist Moshe Goldsmith of the Weizmann Institute of Science, who was not involved with the research. Nerve agents are chemicals known as organophosphates. The most used type includes sarin, soman, cyclosarin, and tabun. All these block an enzyme that regulates levels of the neurotransmitter acetylcholine in muscles, causing muscle spasms, difficulty breathing, and sometimes death. Current treatments, such as atropine and diazepam, work by blocking acetylcholine receptors, but they must be administered right away and can't always prevent permanent neurological damage. Seeking a better solution, some researchers have injected lab animals with sped-up versions of human enzymes that spur organophosphates to break down before they can cause damage. For example, Goldsmith and collaborators have tweaked an enzyme called paraoxonase 1 (PON1) so that it can help the body defang nerve agents faster. But the Army would need to produce and store large quantities of such “bioscavengers” for injection into soldiers and might need to find a way to shield the proteins from the immune system for them to be effective. So, scientists at the U.S. Army Medical Research Institute of Chemical Defense took a different approach: Turn the liver into a

factory for making a bioscavenger enzyme. Led by biochemist Nageswararao Chilukuri, they used a harmless virus called an adeno-associated virus to ferry DNA instructions into the liver cells of mice. The result was the mice's liver cells cranking out a potent version of PON1. Mice injected with the DNA-ferrying virus soon had high blood levels of the synthetic PON1 enzyme, which remained stable for the 5-month study. The rodents survived nine normally lethal injections of nerve agents over 6 weeks [1].

“We were surprised by how well this protein is expressed and how long it lasted,” Chilukuri says. The team also showed the PON1 levels were just as high when the treatment was injected into muscles, a more practical delivery method on the battlefield. The gene therapy seemed to cause no harm to the mice. And although the animals made antibodies against the foreign PON1 protein, indicating an immune response, the antibody levels were too low to mute the protein's activity against nerve agents. Chilukuri's team suggests the therapy could protect soldiers, first responder medical staff, and military dogs, and could also protect farm workers at risk of being exposed to organophosphate pesticides. These are less toxic than nerve agents but can cause similar health effects at high doses. “It's a very nice paper, a nice advance in the field,” says biochemist Oksana Lockridge of the University of Nebraska Medical Center. But she and others caution that the revved-up PON1 – which contains parts of the rabbit, rodent, and human versions of PON1 – is likely to provoke a stronger immune response in people, which could dull its effectiveness or cause severe health effects. People receiving the therapy might even make antibodies against standard human PON1, which the body uses to process harmful cholesterol, and could end up with an elevated risk of heart disease, Goldsmith says. Chilukuri acknowledges the caveats but notes his team didn't set out to solve all possible problems with the therapy. “It's kind of a proof of principle study,” he says. “This is one way to keep the bioscavenger working for weeks and months in an animal.”

The aim of the work is to identify the achieved level of research using gene therapy technologies creating living objects resistant to organophosphate toxic agents.

¹ Gunzinger M, Rehberg C, Autenried L. *Five Priorities for the Air Force's Future Combat Air Force*. Published by Center for Strategic and Budgetary Assessments; Jan. 22, 2020. https://media.defense.gov/2020/Jan/24/2002238577/-1/-1/0/CSDS_Outreach1401.pdf (date: 12.11.2023).

² Kaiser J. Genetic modification could protect soldiers from chemical weapons. Gene therapy tested in mice turns liver into shield against deadly nerve agents. *Science*. 2020. Jan 22. <https://doi.org/10.1126/science.abb0103> (date: 12.11.2023).

³ Information about the use of nerve agents by Syrian troops “against enemy soldiers and civilians” is false information, disseminated in Western countries to discredit the Syrian and Russian leadership (**editor's note**).

The research method is analytical.

The source base of the research are publications in scientific journals and descriptions of patents.

Main

The key enzyme which is involved in the physiology (and of the acetylcholine action) is the acetylcholinesterase (AChE). The depiction of this process is shown in Figure 1.

We are not going in detail about the organophosphorus (OP) agents and mechanisms of their action. The interested reader can find the issue in literature⁴ [3, 4].

Chemical warfare nerve agents (CWNAs) are colorless, odorless, and tasteless OP compounds being used as “invisible” lethal weapons in war zones and civilian societies worldwide. These toxic chemical compounds and their closely related pesticides are used in the form of gas, vapor, and liquid. Currently the stockpiles of several nerve agents are categorized into G series (GA, GD, GF, and GB), V series (VE, VG, VM, VP, VR, and VX), insecticides (malathion and parathion), and many more [1].

Pesticides are relatively less toxic than nerve agents. However, are believed to be responsible for nearly a quarter million annual deaths mainly in developing countries [5].

OP chemicals enter the bloodstream through the skin, by inhalation, food, and drink, cross the blood-brain barrier, and irreversibly inhibit

acetylcholinesterase (AChE; EC 3.1.1.7), a key enzyme of the central nervous system. This disrupts normal communication between brain and muscles, causing miosis, hypersalivation, lacrimation, involuntary urination and defecation, seizures, and rapid death from respiratory failure [6].

Medical intervention with the available synthetic chemical regimen including atropine sulfate, 2-pyridine aldoxime methyl chloride (2-PAM), and diazepam is a method of choice and offers relief and remission and prevents death [7].

Nevertheless, these synthetic chemical therapeutics do not protect from postexposure complications such as convulsions, performance deficits, and permanent brain damage, pretreatment with pyridostigmine bromide (PB) appears advantageous to military and medical personnel. However, PB use has been suspected to be associated with Gulf War illness and to cause other medical issues such as diarrhea, vomiting, cold sweats, and blurred vision [8, 9].

Therefore, an alternative approach could be pretreatment with a natural or recombinant protein-based therapeutic capable of scavenging/hydrolyzing nerve agents into biologically inactive products before their escaping from blood circulation. Among protein-based scavengers of nerve agents, butyrylcholinesterase (BChE; EC 3.1.1.8), OP hydrolase (OPH; EC 3.1.8.1), and paraoxonase 1 (PON1; EC 3.1.8.1) appear promising

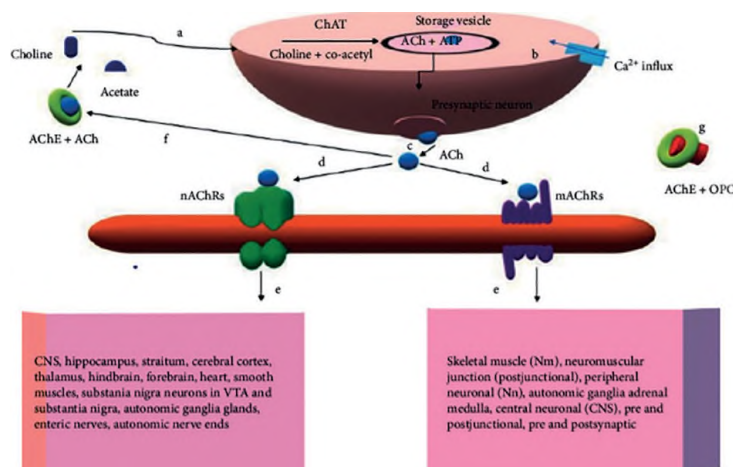


Figure 1 – Schematic depiction of cellular interaction of AChE, acetylcholine (ACh), and OPs. (a) Choline released from ACh hydrolysis, moves to axon where it reacts with acetyl moiety of co-acetyl to form ACh by an enzyme ChAT (choline acetyltransferase) and gets stored in vesicles along with cotransmitters such as ATP. (b) The influx of calcium results in the fusion of membranes. (c) Fusion leads to release of ACh into neuron junctions. (d) Interaction of ACh with nicotinic (n) AChRs and muscarinic (m) AChRs. (e) Signaling to different physiological targets. (f) Excess ACh after signalling, interacts with AChE and degrades into choline and acetate. (g) OP binds with AChE and leads to increased ACh and endless signaling (<https://www.hindawi.com/journals/jt/2020/3007984/>) (OPC, nAChRs, mAChRs in the Figure are OPs, (n) AChRs, (m) AChRs in the text)

⁴ Delfino K, Ribeiro T, Figueroa-Villar J. Organophosphorus compounds as chemical warfare agents: a review. *J Braz Chem Soc.* 2009;20(3). <https://doi.org/10.1590/S0103-50532009000300003> (date: 10.12.2023).

in offering prophylactic protection in animal models [10].

However, BChE binds OP compounds at a one-to-one ratio. Therefore, this enzyme is required in large quantities to afford protection against CWNAs [11].

OPH and PON1 in their native forms or their variants hydrolyze OP in a catalytic manner. They are promising bioscavengers to offer prophylactic protection against OP nerve agents (*Figure 2*).

However, their short circulating half-lives, immunogenicity behavior, degradation, and rapid clearance from the bloodstream have become serious issues in developing them into prophylactics against CWNAs. Nanocapsulation, polysialylation, PEGylation, and polycarboxybetaine conjugation of these protein-based bioscavengers failed to resolve the issues of their poor circulation stability and immunogenicity [13–15].

In this study we would like further focus on the enzyme paraoxonase 1. Human serum paraoxonase 1 (PON1) is a Ca^{2+} dependent high-density lipoprotein (HDL) associated lactonase capable of hydrolysing a wide variety of lactones (including several pharmaceutical agents), thiolactones, arylesters, cyclic carbonates and organophosphate pesticides, nerve gases such as sarin and soman, glucuronide drugs and estrogen esters [16]. PON1 is currently classified as an arylalkylphosphatase (EC 3.1.8.1) by the Enzyme Commission of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology [17].

This enzyme is a glycoprotein with 354(5) amino acid residues with a molecular mass of 43 kDa [18].

The human *PON1* gene is a member of a multigene family consisting of three members in total. *PON1*, *PON2* and *PON3* are located next to each other on the long arms of chromosome 7 and

share extensive structural homology. Interestingly, *PON1* can be differentiated from *PON2* and *PON3* by the three extranucleotide residues in exon 4 [19].

PON1 is synthesized mainly in the liver and secreted into the blood where it associates predominantly with HDL [20].

PON1 prevents atherosclerosis through its antioxidant activity, anti-inflammatory action, anti-apoptosis, anti-thrombosis, anti-adhesion, and lipid-modifying properties. PON1 stimulates cholesterol efflux, metabolizes oxidized phospholipids in high-density lipoprotein (HDL) and low-density lipoprotein (LDL), prevents lipid-peroxide accumulation on HDL and LDL, and preserves the anti-oxidative HDL function. Decreased PON1 activity contributes to elevated plasma levels of homocysteine and homocysteine-thiolactone. The latter can damage proteins by homocysteinylolation and involve vascular damage pathology [21].

Schematic representation of the activity of the group of PON enzyme family is shown in *Figure 3*.

PON1 received its name from its ability to hydrolyze paraoxon, its first and most studied substrate. However, PON1 also hydrolyzes the active metabolites of other OP insecticides (e.g., chlorpyrifosoxon, diazoxon), as well as nerve agents such as sarin and soman. However, several other OP and carbamate insecticides are not hydrolyzed by PON1. Furthermore, only PON1 has OP esterase activity, while all three PONs are lactonases displaying overlapping but distinct substrate specificities for lactone hydrolysis [23].

For understanding of the “evolutionary process” mentioned in the part Introduction we will follow work of groups finally financed by the grants from the US DoD. The G-agents cyclosarin (known as GF also referred to as CMP-F) and soman (known as GD) are prime

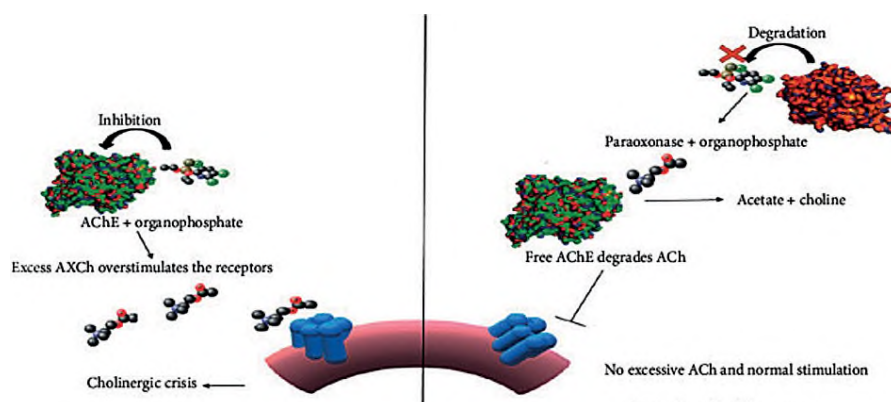


Figure 2 – Diagrammatic representation of toxicity by OPs and their detoxification. During the toxicity by OPs, the compounds inhibit AChE and lead to excessive cholinergic effect, whereas the bioscavengers which can act as prophylactic agents neutralize the OPs before they reach their targets and result in normal physiological hydrolysis of ACh and thus control proper signalling process (<https://www.hindawi.com/journals/jt/2020/3007984/>) (ACh – “toxic” – not degraded ACh)

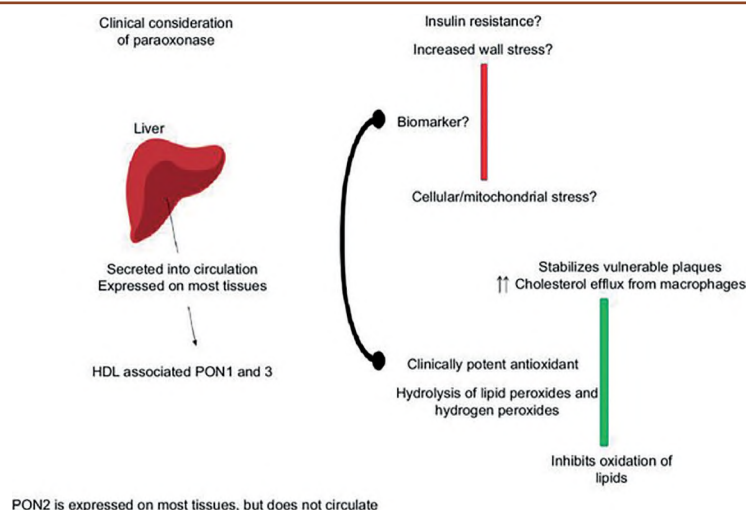


Figure 3 - Three different PONs in humans. The liver secretes HDL-associated PON1 and 3 into the systemic circulation.

PONs have antioxidant properties, stabilize vulnerable atherosclerotic plaques, and limit plaque rupture, with the potential limitation of atherosclerotic cardiovascular disease. PONs have the potential to serve as a biomarkers for cellular stress, vascular wall stress and insulin resistance. Abbreviations: HDL, high-density lipoprotein; PON, paraoxonase [22]

targets for scavenger-based prophylaxis because of the low efficacy of pharmacological drugs used to counteract their toxicity. They are applied as racemates, but it is their S_p isomers that are the tangible threat. Unfortunately, enzymes tested thus far primarily hydrolyze the less toxic R_p isomer. In the publication [24], the authors report the engineering of enzyme variants with highly improved catalytic efficiencies toward the toxic S_p isomer of cyclosarin. They chose the mammalian serum paraoxonase PON1 as starting point. It hydrolyzes G-agents at low catalytic efficiencies and reacts primarily with their R_p isomer [25].

The authors used a recombinant variant dubbed rePON1-G3C9 (referred to as rePON1 hereafter), which, unlike human PON1, is expressed functional and soluble in *Escherichia coli*. Its amino acid sequence is 94% and 85% identical to rabbit and human PON1s, respectively. The enzymatic specificity of rePON1 is essentially identical to human PON1, yet its stability is much improved. After an application of both random and targeted mutagenesis to rePON1 and screened mutants for organophosphate hydrolysis the authors enhanced PON1's activity toward the toxic S_p isomer of a coumarin analog of cyclosarin by $\sim 10^5$ -fold. The authors were thus able to isolate variants that hydrolyze the S_p -coumarin analog of cyclosarin and cyclosarin itself with $k_{cat}/K_M \sim 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$. They demonstrated the *in vivo* prophylactic activity of an evolved variant by showing, in mice, that it can provide considerable protection from a lethal dose of S_p -CMP-coumarin, and the newly developed screens provide the basis for engineering PON1 prophylactics against other G-type nerve agents [24, 26].

In the publication [27] in the part "Significance" the authors claim: "We describe the enzyme variants that hydrolyze the toxic isomers of G-type nerve agents with sufficiently high rates to detoxify these agents *in vivo*, such that prophylactic protection could be potentially achieved upon administering low enzyme doses. Following only four rounds of directed evolution, we obtained variants that were improved up to 340-fold relative to our previously described GF-hydrolyzing variant. Overall, these variants show 40- to 3,400-fold higher catalytic efficiencies than wild-type PON1 for hydrolyzing the toxic isomers of the three most toxic G-agents (GB, GD, and GF). Their k_{cat}/K_M values for GD and GF neutralization are particularly high: $3-5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Although lower by about an order of magnitude, their catalytic efficiencies with GA and GB may still enable effective prophylaxis because of the lower toxicity of these agents. This work, therefore, demonstrates that, despite tradeoffs between different substrates, catalytically efficient broad-spectrum, generalist enzymes can evolve. Although the evolved variants show relatively broad specificity with respect to the substrate's O-alkyl group, their stereospecificity is remarkably high. Screening for variants that hydrolyze the toxic S_p -isomers resulted in possibly the highest recorded shift in enantiomeric preference between the wild-type enzyme and its evolved variants ($E^{evolved}/E^{wild-type} > 10^6$). Overall, his work describes promising candidates for *in vivo* tests of prophylaxis and postexposure treatment and a general scheme for the evolution of highly active OP hydrolyzing enzymes that could detoxify a broad range of nerve agents and pesticides. It demonstrates the powers of laboratory evolution

and its ability to completely reshape the catalytic activity and substrate specificity, as well as the stereoselectivity of enzymes.”

In a 2016 publication [28] the authors evaluated the ability of evolved paraoxonase-1 (PON1) to afford broad spectrum protection against G-type nerve agents when produced in mammalian cells via an adenovirus expression system. The PON1 variants G3C9, VII-D11, I-F11, VII-D2 and II-G1 were screened in vitro for their ability to hydrolyze G-agents, as well as for their preference towards hydrolysis of the more toxic $S_p(-)$ isomer. The variant I-F11 was found to be a leading candidate for further evaluation. The authors demonstrated broad-spectrum efficacy of I-F11 against G-agents, and a sequential $5 \times LD_{50}$ dose of GD, GF, GB, and GA was administered to ten mice expressing I-F11 on days 3, 4, 5 and 6 following virus injection. At the conclusion of the experiment, 80% of the animals survived exposure to all four G-agents. Using the concept of stoichiometric efficacy, the authors determined that I-F11 affords protection

from lethality against an administered dose of 10, 15, 90 and 80 molar equivalents of GA, GB, GD, and GF, respectively, relative to the molar equivalents of I-F11 in circulation. It appears that I-F11 can associate with high density lipoprotein in circulation, suggesting that I-F11 retained this function of native PON1. This combination of attractive attributes demonstrates that I-F11 is an attractive candidate for development as a broad-therapeutic against G-type nerve agent exposure.

In the “evolutionary” last, publication [1] the authors announced: “A onetime administration of AAV8 carrying PON1-IF11 gene (AAV8-PON1-IF11) resulted in high expression and secretion of PON1-IF11 recombinant protein in the circulation and conferred asymptomatic protection against multiple lethal doses of all G-type CWNAs for at least 5 months.” The study clearly unfolds avenues to develop a one-time application of gene therapy to express a near-natural and circulating therapeutic PON1-IF11 protein that can potentially

Table 1 – Authors of the publication [1]. Their affiliation (in 2020) and (if possible to find) research interests

Author	Affiliation	Area of Interest	Source
Venkaiah Betapudi	Research and Development Division, Countering Weapons of Mass Destruction, U.S. Department of Homeland Security, 1120 Vermont Ave., Washington, DC 20005, USA	Demonstration of lentivirus and adeno-associated virus-mediated gene therapy to control tumor growth and confer protection against pesticides and toxic chemicals in mice	https://www.researchgate.net/profile/Venkaiah-Betapudi
Reena Goswami	Medical Toxicology Research Division, Biochemistry & Physiology Department, Agent Mitigation, United States Army Medical Research Institute of Chemical Defense, 8350 Ricketts Point Road, Aberdeen Proving Ground, MD 21010-5400, USA	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Reena+Goswami
Liliya Silayeva	ADS Federal, 4401N. Fairfax Dr., Suite 321, Arlington, VA 22203, USA	PhD PostDoc Position at US Army Medical Research Institute of Chemical Defense	https://www.researchgate.net/profile/Liliya-Silayeva
Deborah M. Doctor	Medical Toxicology Research Division, Biochemistry & Physiology Department, Agent Mitigation, United States Army Medical Research Institute of Chemical Defense, 8350 Ricketts Point Road, Aberdeen Proving Ground, MD 21010-5400, USA	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31969483/
Nageswararao Chilukuri	Medical Toxicology Research Division, Biochemistry & Physiology Department, Agent Mitigation, United States Army Medical Research Institute of Chemical Defense, 8350 Ricketts Point Road, Aberdeen Proving Ground, MD 21010-5400, USA	-	https://www.researchgate.net/scientific-contributions/Nageswararao-Chilukuri-38570260 https://www.scientificamerican.com/custom-media/strengthened-by-science/combating-nerve-agents-with-gene-therapy/

protect humans against G-type chemical warfare nerve agents for several weeks to months.

For us it is interesting to check the Acknowledgement: “We thank ... Deputy Director of Research, USAMRICD, for suggestions over the manuscript. The views expressed in this article are those of the author(s) and do not reflect the official policy of the Department of Army, Department of Defense, or the U.S. Government. ORISE participant L.S. was supported by an appointment to the Internship/Research participation program for the USAMRICD, administered by ORISE through an agreement between the U.S. Department of Energy and the U.S. Army Medical Research and Materiel Command. Funding: This

research work was supported by the Defense Threat Reduction Agency (DTRA) (CB3945), Joint Science and Technology Office, Medical S&T Division, Department of the Army.” Two authors declare to have competing interest in U.S. patent no. PCT/US2018/023746, titled “A method developing and employing recombinant adeno-associated virus-F11 particles for prophylactic protection against G-type chemical warfare nerve agents”⁵. The names of all authors [1], their affiliation and research interests are shown in the *Table 1*.

This patented construct is shown in detail⁶ (and in *Figure 4* and *Figure 5*).

Here we would like to suggest another possible approach. The mesenchymal stem cells (MSC) are

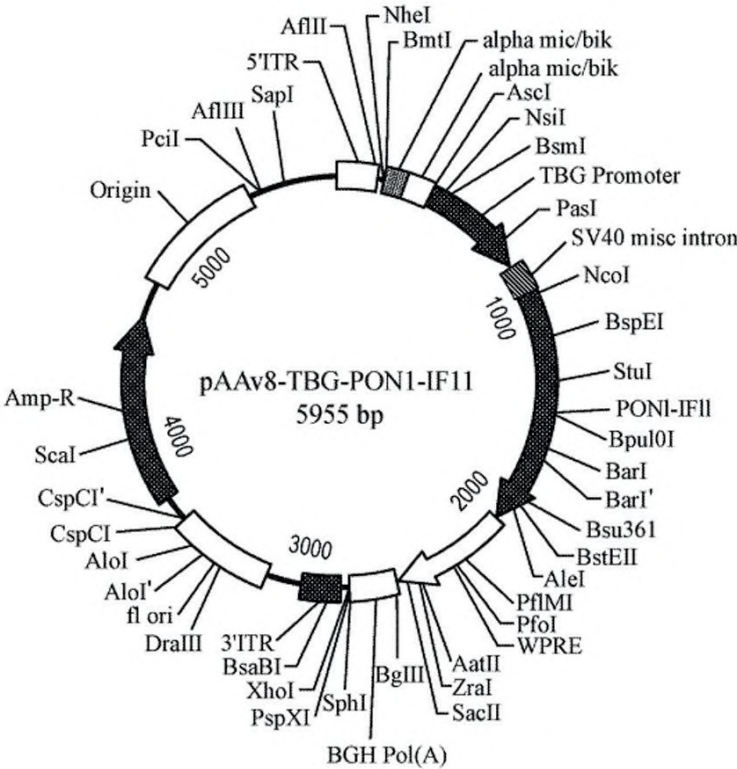


Figure 4 – A circular map of viral plasmid expression vector carrying PON1-IF1 1 under TBG promoter. AAV8 expression vector carrying PON1-IF11 under a liver specific-thyroxine binding globulin (TBG) promoter was constructed. This vector carries viral sequences-5' inverted terminal repeat (5' ITR) and 3' inverted terminal repeat (3' ITR) to help in inserting the TBG-PON1-IF11 cassette in the viral genome. The figure is taken from Chilukuri N, Betapudi V. Recombinant adeno-associated virus-paraoxonase 1-ifi particles and the methods of making and using thereof. WO2018175712. Publication Date 27.09.2018. Priority Data 62/475,502. 23.03.2017 US. The Government of the United States of America as Represented by the Secretary of the Army [US]/[US].

https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2018175712&_cid=P11-LRWDGI-84299-1;
date: 10.12.2023 (part drawings)

⁵ Chilukuri N, Betapudi V. Recombinant adeno-associated virus-paraoxonase 1-ifi particles and the methods of making and using thereof. WO2018175712. Publication Date 27.09.2018. Priority Data 62/475,502. 23.03.2017 US. The Government of the United States of America as Represented by the Secretary of the Army [US]/[US]. https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2018175712&_cid=P11-LRWDGI-84299-1 (date: 10.12.2023).

⁶ Ibid.

PON1-IF11	MAKLIALTLTGGLALFDGKKSSFTQRFNVHREVTVELPNCNLVKGVNDGSEDEILPN	60
huPON1	MAKLIALTLTGGLALFRHSSSYQTRNALREVDPVELPNCNLVKGTEIGSEDEILPN	60
PON1-IF11	GLAFISSGKYPGIPSFDPKSKILLMDLNEEDPVLELGITGNTLDTSSFNPAIGISTF	120
huPON1	GLAFISSGKYPGIPKSFNPSPKILLMDLNEEDPVLELGITGSKFDVSSFNPAIGISTF	120
PON1-IF11	TDEDNTVLLVVPDSSSTVELFKFQEEKSLHLKTIHKLKLPVNDIVAVGPEHFVA	180
huPON1	TDEDNMYLLVVPDAKSTVELFKFQEEKSLHLKTIHKLKLPVNDIVAVGPEHFVG	180
PON1-IF11	TNDHYFADPYLKSWEMHLGLAWSVMTIYSPNDVRVVAEGFDANGINISPDGKYVYIAEL	240
huPON1	TNDHYFLDPYLKSWEMHLGLAWSVMTIYSPSEVRVVAEGFDANGINISPDGKYVYIAEL	240
PON1-IF11	LAHKIHVYEKHAHWTLTPKSLDFDTLVDNISVDPIETGDLWVGCHPNGMKIFEYDSENPP	300
huPON1	LAHKIHVYEKHAHWTLTPKSLDFDTLVDNISVDPIETGDLWVGCHPNGMKIFEYDSENPP	300
PON1-IF11	GSEVLRIQDILSEEPKVTMYAENGTVLQGSVAAYVKGLLIGTVFHKALYCEL	355
huPON1	ASEVLRIQNTLSEEPKVTMYAENGTVLQGSVAAYVKGLLIGTVFHKALYCEL	355

Figure 5 – Amino acid sequence alignment of wild type human PON1 (SEQ ID NO: 7) with PON1 -IF11 (SEQ ID NO: 6). PON1-IF11 is a variant of the wild type human PON1. The figure is taken from Chilukuri N, Betapudi V. Recombinant adeno-associated virus-paraoxonase 1-ifii particles and the methods of making and using thereof. WO2018175712. Publication Date 27.09.2018. Priority Data 62/475,502. 23.03.2017 US. The Government of the United States of America as Represented by the Secretary of the Army [US]/[US].
https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2018175712&_cid=P11-LRWDGI-84299-1;
date: 10.12.2023 (part drawings)

rather well characterized cells [29]. The MSC have been genetically modified (“engineered”) (Figure 6) and used to treat cancer in experiments performed on animals, mainly rodents [30]. However, in humans these attempts failed due to lack of migration of (genetically modified) MSC into the tumors [31].

According to [1] PON1-IF11 gene (Figure 5) from pENT-CMV adenoviral vector was cloned into AAV8 shuttle plasmid containing three different types of promoters: TBG (AAV8-TBG-PON1-IF11) (Figure 4), synthetic CASI promoter (AAV8-CASI-PON1-IF11), and CMV (AAV8-CMV-PON1-IF11). The AAV8 vector used with the CMV promoter

was a self-complementary type [32]. Further, in the experiments [1], mice were given 100 to 200 µl of phosphate-buffered saline (PBS) containing 5×10^{13} to 9.7×10^{13} GC/ml of either AAV8-PON1-IF11 or control AAV8 (lacking the PON1-IF11 gene) through tail vein injections. We are considering this approach in humans not reliable. First, the biggest concern of the authors in the study [32] using AAV8 vector has been the toxicity (hepatocellular injury). Two of the six patients required immunosuppressive steroid therapy [32]. Second, there has been a drop of the protein expression (factor IX) in all 6 patients. The levels remained in 2–11% range of the normal levels. In [33] the authors claim:

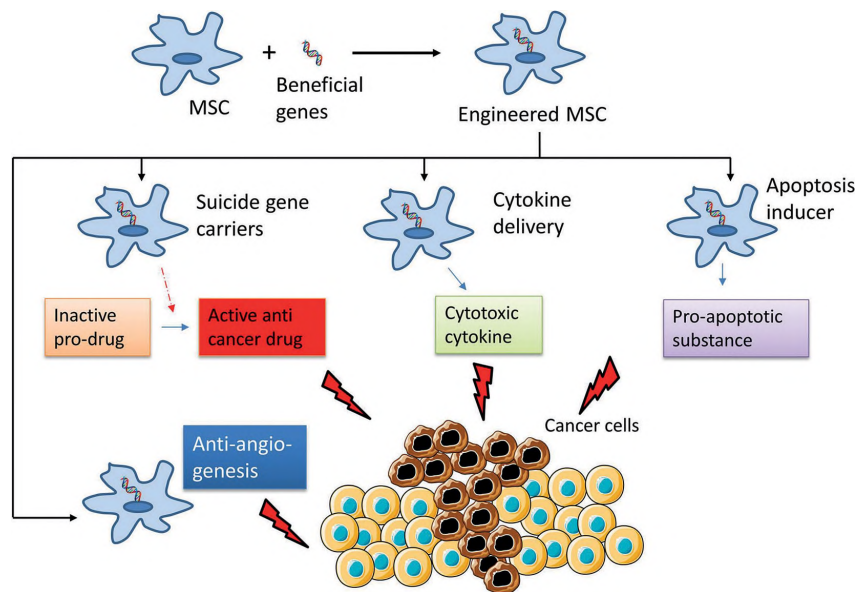


Figure 6 – Mesenchymal Stem Cells for cancer treatment. Genetically modified MSCs are expressing “suicide genes” which can activate an inactive pro-drug to active anti-cancer drug; cytotoxic cytokines or apoptosis inducer that can kill cancer cells. The figure is taken from [30]

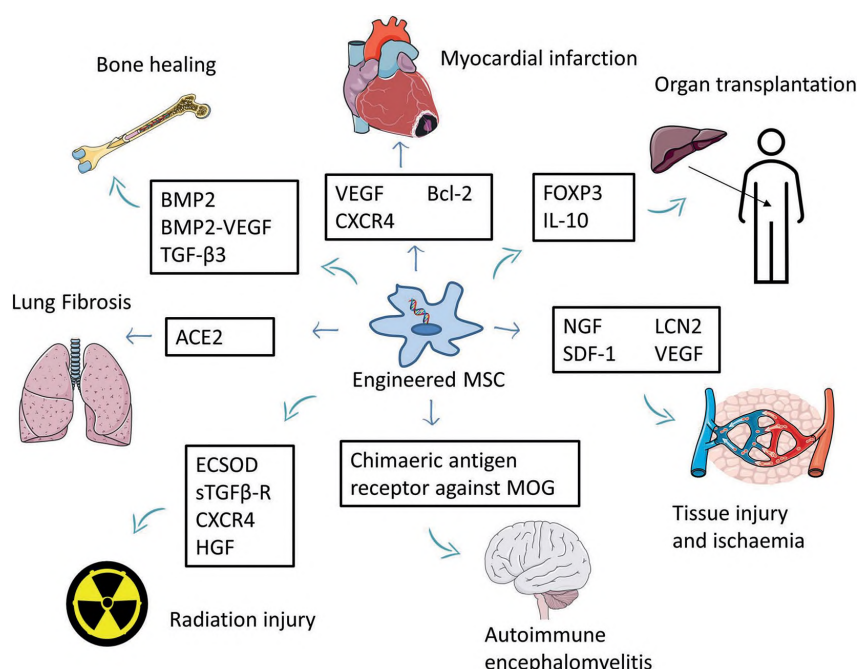


Figure 7 – The use of engineered MSCs for the treatment of non-cancer diseases. MSCs overexpressing beneficial factors can be used to treat several conditions such as myocardial infarction, tissue injury, ischemia, and autoimmune encephalomyelitis. Engineered MSCs were also used to improve bone healing and reduce the side effects of organ transplantation. The figure is taken from [30]

“However, ongoing challenges hamper wider use of rAAV vector-mediated therapies. These include immunity against rAAV vectors, limited transgene packaging capacity, sub-optimal tissue transduction, potential risks of insertional mutagenesis and vector shedding.”

In our opinion these obstacles can be overcome with the use of MSC. The MSCs can be genetically modified to enhance their therapeutic effect in human medicine (Figure 7) [30]. It has been shown that the genetically modified MSCs in humans are dominantly homing in the bone marrow [34]. There are practically no immunological barriers in the use of allogeneic MSC [29]. So, for the further “human targeted” aims, the allogeneic MSC can be genetically modified with different variants of the enzyme paraoxonase 1. The stable expression and enhanced enzymatic activity of the secreted mutated PON1 must be proven by testing in vitro. Stable clones of MSCs expressing PON1 can be selected, grown up and applied to the volunteers to follow the long term PON1 expression profile. And finally, the “off shelf” genetically modified

allogeneic MSCs can be applied to the civilians and soldiers to enhance their resistance to OPs. We find this approach more physiological and natural.

Conclusion

In the present paper we explained the current approach to neutralize the effects of OP agents in vivo. This approach is aimed to:

- i) to enhance the activity of naturally occurring enzymes able to detoxicate OP agents;
- ii) to clone these enzymes into “vectors,” in our opinion in the MSCs;
- iii) to introduce these stable gene constructs in human organism;
- iv) and, finally to insure their stable (over) expression in men.

This resistance to OP agents can be health protective and lifesaving in soldiers in real combat when the enemy uses these agents. However, this approach must be based on a strong experimental background. The door is open, the technologies are available.

Список источников/References

1. Betapudi V, Goswami R, Silayeva L, Doctor DM, Chilukuri N. Gene therapy delivering a paraoxonase 1 variant offers long-term prophylactic protection against nerve agents in mice. *Sci Transl Med.* 2020;12(527):eaay0356. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aay0356>

2. Mukherjee S, Gupta RD. Organophosphorus Nerve Agents: Types, Toxicity, and Treatments. *J Toxicol*. 2020;2020:3007984.
<https://doi.org/10.1155/2020/3007984>
3. Timperley CM, Abdollahi M, Al-Amri AS, Baulig A, Benachour D, Borrett V, et al. Advice on assistance and protection from the Scientific Advisory Board of the Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons: Part 2. On preventing and treating health effects from acute, prolonged, and repeated nerve agent exposure, and the identification of medical countermeasures able to reduce or eliminate the longer term health effects of nerve agents. *Toxicology*. 2019;413:13–23.
<https://doi.org/10.1016/j.tox.2018.11.009>
4. Costanzi S, Machado JH, Mitchell M. Nerve Agents: What They Are, How They Work, How to Counter Them. *ACS Chem Neurosci*. 2018;9(5):873–85.
<https://doi.org/10.1021/acschemneuro.8b00148>
5. Eddleston M, Buckley NA, Eyer P, Dawson AH. Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. *Lancet*. 2008;371(9612):597–607.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61202-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61202-1)
6. Moshiri M, Darchini-Maragheh E, Balali-Mood M. Advances in toxicology and medical treatment of chemical warfare nerve agents. *Daru*. 2012;20(1):81.
<https://doi.org/10.1186/2008-2231-20-81>
7. Jokanović M. Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides. *Toxicol Lett*. 2009;190(2):107–15.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.07.025>
8. Gorecki L, Korabecny J, Musilek K, Nepovimova E, Malinak D, Kucera T, et al. Progress in acetylcholinesterase reactivators and in the treatment of organophosphorus intoxication: a patent review (2006–2016). *Expert Opin Ther Pat*. 2017;27(9):971–85.
<https://doi.org/10.1080/13543776.2017.1338275>
9. White RF, Steele L, O'Callaghan JP, Sullivan K, Binns JH, Golomb BA, et al. Recent research on Gulf War illness and other health problems in veterans of the 1991 Gulf War: Effects of toxicant exposures during deployment. *Cortex*. 2016;74:449–75.
<https://doi.org/10.1016/j.cortex.2015.08.022>
10. Iyengar AR, Pande AH. Organophosphate-Hydrolyzing Enzymes as First-Line of Defence Against Nerve Agent-Poisoning: Perspectives and the Road Ahead. *Protein J*. 2016;35(6):424–39.
<https://doi.org/10.1007/s10930-016-9686-6>
11. Ashani Y, Leader H, Aggarwal N, Silman I, Worek F, Sussman JL, Goldsmith M. In vitro evaluation of the catalytic activity of paraoxonases and phosphotriesterases predicts the enzyme circulatory levels required for in vivo protection against organophosphate intoxications. *Chem Biol Interact*. 2016;259(Pt B):252–56.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.04.039>
12. Mukherjee S, Gupta RD. Organophosphorus Nerve Agents: Types, Toxicity, and Treatments. *J Toxicol*. 2020;2020:3007984.
<https://doi.org/10.1155/2020/3007984>
13. Reed BA, Sabourin CL, Lenz DE. Human butyrylcholinesterase efficacy against nerve agent exposure. *J Biochem Mol Toxicol*. 2017;31(5).
<https://doi.org/10.1002/jbt.21886>
14. Lushchekina SV, Schopfer LM, Grigorenko BL, Nemukhin AV, Varfolomeev SD, Lockridge O, Masson P. Optimization of Cholinesterase-Based Catalytic Bioscavengers Against Organophosphorus Agents. *Front Pharmacol*. 2018;9:211.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00211>
15. Smirnov IV, Vorobiev II, Belogurov AA, Genkin DD, Deyev SM, Gabibov AG. Chemical Polysialylation of Recombinant Human Proteins. *Methods Mol Biol*. 2015;1321:389–404.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2760-9_26
16. Rajkovic MG, Rumora L, Barisic K. The paraoxonase 1, 2 and 3 in humans. *Biochem Med (Zagreb)*. 2011;21(2):122–30.
<https://doi.org/10.11613/bm.2011.020>
17. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol*. 1998;31(3):329–36.
[https://doi.org/10.1016/s0306-3623\(98\)00028-7](https://doi.org/10.1016/s0306-3623(98)00028-7)
18. Taler-Verčič A, Goličnik M, Bavec A. The Structure and Function of Paraoxonase-1 and Its Comparison to Paraoxonase-2 and -3. *Molecules*. 2020;25(24):5980.
<https://doi.org/10.3390/molecules25245980>

19. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics*. 1996;33(3):498–507.
<https://doi.org/10.1006/geno.1996.0225>
20. Deakin SP, Bioletto S, Bochaton-Piallat ML, James RW. HDL-associated paraoxonase-1 can redistribute to cell membranes and influence sensitivity to oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2011;50(1):102–9.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.002>
21. Grzegorzewska AE, Adamska P, Iwańczyk-Skalska E, Ostromecka K, Niepolski L, Marcinkowski W, et al. Paraoxonase 1 concerning dyslipidaemia, cardiovascular diseases, and mortality in haemodialysis patients. *Sci Rep*. 2021;11(1):6773.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-86231-0>
22. Shunmoogam N, Naidoo P, Chilton R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. *Vasc Health Risk Manag*. 2018;14:137–43.
<https://doi.org/10.2147/VHRM.S165173>
23. Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, La Du BN. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res*. 2005;46(6):1239–47.
<https://doi.org/10.1194/jlr.M400511-JLR200>
24. Gupta RD, Goldsmith M, Ashani Y, Simo Y, Mullokandov G, Bar H, et al. Directed evolution of hydrolases for prevention of G-type nerve agent intoxication. *Nat Chem Biol*. 2011;7(2):120–5.
<https://doi.org/10.1038/nchembio.510>
25. Li WS, Lum KT, Chen-Goodspeed M, Sogorb MA, Raushel FM. Stereoselective detoxification of chiral sarin and soman analogues by phosphotriesterase. *Bioorg Med Chem*. 2001;9(8):2083–91.
[https://doi.org/10.1016/s0968-0896\(01\)00113-4](https://doi.org/10.1016/s0968-0896(01)00113-4)
26. Goldsmith M, Tawfik DS. Enzyme engineering: reaching the maximal catalytic efficiency peak. *Curr Opin Struct Biol*. 2017;47(12):140–150.
<https://doi.org/10.1016/j.sbi.2017.09.002>
27. Goldsmith M, Ashani Y, Simo Y, Ben-David M, Leader H, Silman I, et al. Evolved stereoselective hydrolases for broad-spectrum G-type nerve agent detoxification. *Chem Biol*. 2012;19(4):456–66.
<https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.01.017>
28. Mata DG, Sabnekar P, Watson CA, Rezk PE, Chilukuri N. Assessing the stoichiometric efficacy of mammalian expressed paraoxonase-1 variant I-F11 to afford protection against G-type nerve agents. *Chem Biol Interact*. 2016;259(B):233–41.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.04.013>
29. Haider K.H. *Handbook of Stem Cell Therapy*, Springer Nature Singapore, 1st ed. 2022. ISBN 978-981-19-2654-9.
<https://doi.org/10.1007/978-981-19-2655-6>
30. Pawitan JA, Bui TA, Mubarak W, Antarianto RD, Nurhayati RW, Dilogio IH, Oceandy D. Enhancement of the Therapeutic Capacity of Mesenchymal Stem Cells by Genetic Modification: A Systematic Review. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:587776.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2020.587776>
31. Lakota J. Fate of human mesenchymal stem cells (MSCs) in humans and rodents-Is the current paradigm obtained on rodents applicable to humans? *J Cell Mol Med*. 2018;22(44):2523–4.
<https://doi.org/10.1111/jcmm.13561>
32. Nathwani AC, Tuddenham EG, Rangarajan S, Rosales C, McIntosh J, Linch DC, et al. Adenovirus-associated virus vector-mediated gene transfer in hemophilia B. *N Engl J Med*. 2011;365(25):2357–65.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1108046>
33. Dhungel BP, Winburn I, Pereira CDF, Huang K, Chhabra A, Rasko JEJ. Understanding AAV vector immunogenicity: from particle to patient. *Theranostics*. 2024;14(3):1260–88.
<https://doi.org/10.7150/thno.89380>
34. Lakota J, Gocarova K, Spanik S. Treatment of metastatic head and neck cancer with mesenchymal stem cells combined with prodrug gene therapy. *Exp Oncol*. 2015;37(4):298. PMID: 26710845.

Acknowledgement / Благодарность

I would like to thank Dr. M.V. Supotnitskij for his helpful suggestions and scientific advice / Выражаю благодарность доктору М.В. Супотницкому за полезные советы и научные рекомендации.

Author Contribution / Вклад автора

Elaboration of the concept of the paper; collection, analysis, and systematization of scientific literature; writing

and edition of paper / Разработка концепции статьи; сбор, анализ и систематизация научной литературы; написание статьи.

Author's Statement / Заявление автора

I am declaring that I prepared the article from sources freely available on the Internet and free available publications, figures, and other possible legal sources. I, as a sole author 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 / Я заявляю, что подготовил статью из источников, находящихся в свободном доступе в Интернете, а также свободно доступных публикаций, рисунков и других возможных легальных источников. Я, как единственный автор, заявляю, что исследование проводилось при отсутствии каких-либо коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Peer review information / Сведения о рецензировании

The article has been double blind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database / Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Author / Об авторе

Centre of Experimental Medicine, SAS, Dubravska cesta 9, 841 04 Bratislava, Slovakia.

Ján Lakota. MD, PhD.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7088-488X>

Contact person: Ján Lakota; jan.lakota@savba.sk

Центр экспериментальной медицины, Словацкая Академия наук, Дубравская дорога, 9, 841 04 Братислава, Словакия.

Лакота Ян. MD, PhD.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7088-488X>

Контактное лицо: Лакота Ян; jan.lakota@savba.sk



Идентификация ЕА-3167, структурного аналога инкапаситанта ВЗ, в объектах, доставленных из зоны проведения специальной военной операции, и обнаружение его метаболитов в моче при экспонировании крыс

А.М. Григорьев[✉], В.А. Яшкир, В.И. Крылов, Н.А. Колосова, В.Н. Фатеенков

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации,
111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19
✉ e-mail: 27nc_1@mail.ru

Ранее нами было установлено, что в двух спиртосодержащих образцах, доставленных из зоны специальной военной операции (СВО), находится редкое психоактивное вещество ЕА-3167, являющееся структурным аналогом известного инкапаситанта ВЗ, включенного в Список 2 Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении (КЗХО). Кроме ЕА-3167 в жидкостях обнаружили добавки метадона, α -пирролидиновалерофенона и тетрагидроканнабинола. **Цель работы** – установление аналитических характеристик ЕА-3167, а также его метаболитов в моче крыс. **Методы исследования.** Структурная идентификация обнаруженного вещества методом ядерного магнитного резонанса, газовая и жидкостная хроматомасс-спектрометрия доставленных объектов и мочи крыс, полученной экспонированием лабораторных животных обнаруженным веществом. **Результаты исследования.** Концентрации ЕА-3167 в жидкостях составляли 910 и 3,9 мкг/мл соответственно. Установлено, что ЕА-3167 подвержен интенсивному метаболизму в организме крыс. В моче лабораторных животных предположительно идентифицированы более 30 метаболитов, представляющих собой продукты моно- и дигидроксилирования алифатических остатков молекулы, образования кетона, а также гидролиза. **Вывод.** Наиболее удобными мочевыми маркерами для подтверждения отравления ЕА-3167 методами газовой и жидкостной хроматомасс-спектрометрии являются исходное вещество, продукты его моногидроксилирования и образования карбонильной группы на циклопентильном остатке.

Ключевые слова: ЕА-3167, ВЗ, биологические объекты, газовая хроматомасс-спектрометрия, жидкостная хроматомасс-спектрометрия, инкапаситанты, метаболиты, пищевые объекты, психоактивные вещества, специальная военная операция, точные массы, ядерный магнитный резонанс.

Для цитирования: Григорьев А.М., Яшкир В.А., Крылов В.И., Колосова Н.А., Фатеенков В.Н. Идентификация ЕА-3167, структурного аналога инкапаситанта ВЗ, в объектах, доставленных из зоны проведения специальной военной операции, и обнаружение его метаболитов в моче при экспонировании крыс. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(1):18–33. EDN:hrotqc.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-18-33>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: А.М. Григорьев является членом редколлегии журнала (с 2024 г.).

Финансирование: федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ).

Поступила 20.02.2024 г. Принята к публикации 27.03.2024 г.

Identification of EA-3167, a Structural Analogue of the BZ Incapacitant, in Objects Delivered from the Zone of a Special Military Operation and Detection of Its Metabolites in Urine during Exposure of Rats

Andrej M. Grigoryev[✉], Vadim A. Jashkir, Vladislav I. Krylov, Nataliya A. Kolosova, Vladimir N. Fateenkov

Federal State Budgetary Establishment "27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky"
of the Ministry of Defence of the Russian Federation
Entuziastov Passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation
✉ e-mail: 27nc1@mil.ru

Earlier, we found that two alcohol-containing samples delivered from the zone of special military operation contain a rare psychoactive substance EA-3167, which is a structural analogue of the well-known incapacitant BZ, included in the Schedule 1 of the Chemical Weapons Convention. In addition to EA-3167, additives of methadone, α -pyrrolidinovalerophenone and tetrahydrocannabinol were found in liquids. **The aim of the work** is to establish the analytical characteristics of EA-3167, as well as its metabolites in rat urine. **Research methods.** Structural identification of the detected substance by nuclear magnetic resonance, gas and liquid chromatomass spectrometry of delivered objects and rat urine obtained by exposing laboratory animals to the detected substance. **The results of the study.** Concentrations of EA-3167 in liquids were found to be 910 and 3.9 $\mu\text{g/mL}$, respectively. It has been established that EA-3167 is subject to intensive metabolism in rats. More than 30 metabolites, representing products of mono- and dihydroxylation of aliphatic moieties of the molecule, ketone formation, and hydrolysis, have been tentatively identified in the urine of laboratory animals. **Conclusion.** The most convenient markers for confirming poisoning of EA-3167 by gas and liquid chromatography-mass spectrometry were the parent substance, the products of its monohydroxylation and the formation of carbonyl group on the cyclopentyl moiety.

Keywords: accurate masses, biological objects, BZ, EA-3167, food objects, gas chromatography-mass spectrometry, incapacitants; liquid chromatography-mass spectrometry, metabolites, nuclear magnetic resonance, psychoactive substances.

For citation: Grigoryev A.M., Jashkir V.A., Kryliv V.I., Kolosova N.A., Fateenkov V.N. Identification of EA 3167, a Structural Analogue of the BZ Incapacitant, in Objects Delivered from the Zone of a Special Military Operation and Detection of Its Metabolites in Urine during Exposure of Rats. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(1):18–33. EDN:hrotqc.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-18-33>

Financial Disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: Andrej M. Grigoryev is a member of the Editorial Board of the journal since 2024.

Funding: Federal State Budgetary Establishment "27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky" of the Ministry of Defence of the Russian Federation (27 SC MD RF).

Received 20 February 2024. Accepted 27 March 2024

В начале XXI в. развитие аналитической токсикологии было сопряжено с новым явлением в развитии общества – появлением и широким распространением группы психоактивных соединений, названных «новыми психоактивными веществами» (НПВ). По крайней мере с 2005 г., Европейское агент-

ство по наркотикам и наркопотреблению (EMCDDA) и подобная структура в ООН (Управление по наркотикам и преступности, UNODC) фиксировали устойчивый и значительный рост числа психоактивных веществ, появляющихся на мировых рынках¹. Часть НПВ была синтезирована в середине и в

¹ European Drug Report 2023: Trends and Developments. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA), 2022. Available from: https://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2022_en

конце прошлого века, и поэтому их определение в качестве «новых» относится только к факту времени распространения.

Ряд психоактивных веществ, синтезированных ранее, либо разрабатываемых в настоящее время, имеют потенциал применения в качестве оружия. Согласно терминологии Организации по запрещению химического оружия (ОПХВ), эта группа веществ классифицируется как инкапаситанты (incapacitants, «выводящие из строя»). Представитель этой группы, названный ВЗ (3-хинуклидинил бензилат, рисунок 1), включен в Список 2 Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении (КЗХО)².

Из открытых источников следует, что ВЗ был изначально синтезирован в лаборатории Hoffman-La Roche Inc. в 50-х годах прошлого века при поиске новых спазмолитических агентов и впоследствии исследован в лаборатории биомедицинских исследований армии США в Форте Детрик³ [2, 3]. Было найдено, что ВЗ обладает значительной антиацетилхолиновой активностью, превышающей таковую для атропина. В рассекреченном отчете лаборатории Форта Детрик сообщается, что для людей ВЗ проявляет достаточную эффективность в дозировке 3–7 мкг/кг при оральном употреблении. Среди симптомов отравления указываются галлюцинации, спутанность

сознания, гиперактивное дезорганизованное поведение, бессвязная речь, невозможность фокусировки взгляда. Остаточные явления наблюдали в течение 3–4 суток после отравления. Вычисленная LD_{50} для людей составляла около 5 мг/кг. Это значение представляется реалистичным, поскольку измеренная LD_{50} для обезьян была около 10 мг/кг.

В середине 2022 г. нами было проведено исследование ряда объектов, доставленных из зоны проведения специальной военной операции, происхождение которых связывали с отравлением. Среди объектов присутствовали два образца спиртосодержащих жидкостей, в которых обнаружили наличие малоизвестного вещества. Оно было идентифицировано как хинуклидин-3-ил 2-циклопентил-2-гидрокси-2-фенилацетат (CAS 26758-53-2, рисунок 1), являющийся структурным аналогом ВЗ [4].

Сведения об этом веществе малочисленны, однако оно приведено в справочнике Handbook of Chemical and Biological Warfare Agents под названием «Agent EA 3167» [1]. Синтез вещества впервые описан в 1982 г. и отмечена его высокая аффинность к мускариновым холинэргическим рецепторам крыс и собак (константа ассоциации K_A $8,21 \times 10^9$ М⁻¹) [5, 6]. Эта величина сравнима с аффинностью ВЗ (K_A $5,28 \times 10^9$ М⁻¹) и почти в 50 раз превышает аффинность атропина. Сравнительно недавно (2005 г.) китайские исследователи опубликовали результаты определения кристаллической структуры EA-3167 [7].

Появление в обороте нового психоактивного вещества, применение которого имеет военный, диверсионный и террористический потенциал, требует обязательного определения его аналитических характеристик, позволяющих обнаруживать его современными скрининговыми методами. В число последних обязательно входят газовая и жидкостная хроматография-масс-спектрометрия (ГХ-МС и ЖХ-МС соответственно) [8–11], включая регистрацию масс-спектров высокого разрешения (ВР) [12].

Дополнительным обязательным требованием описания свойств нового вещества являются сведения о возможности его обнаружения в биологических объектах. Для ва-

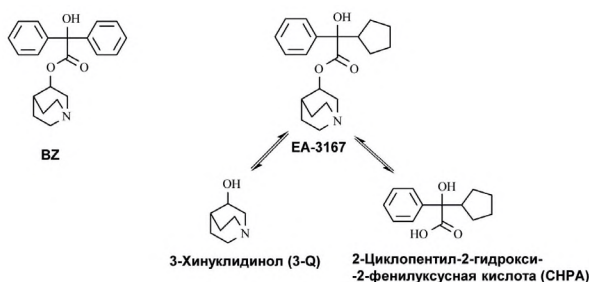


Рисунок 1 – Формулы ВЗ, наиболее известного члена семейства инкапаситантов, EA-3167 и продуктов его гидролиза (3-хинуклидинола, 3-Q, и 2-циклопентил-2-гидрокси-2-фенилуксусной кислоты, СНРА) ([1] и данные авторов)

(дата обращения: 05.02.2024).

World Drug Report 2023. United Nations Office on Drug and Crime, 2023. Available from: <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/world-drug-report-2023.html> (дата обращения: 05.02.2024).

² OPCW. Annex of Chemicals. Schedule 2. Available from: <https://www.opcw.org/chemical-weapons-convention/annexes/annex-chemicals/schedule-2> (дата обращения: 05.02.2024).

³ Форт Детрик – сленговое название U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (USAMRIID) – Медицинский исследовательский институт инфекционных болезней армии США. В те годы – основной центр разработки и производства биологического оружия в США.

рианта BZ сообщается, что его основными метаболитами в моче крыс и других лабораторных животных были найдены продукты гидролиза – 3-хинуклидиол (3-Q) и 2-гидрокси-2,2-дифенилуксусная кислота [3, 13], причем около 3 % начальной дозы экскретируется с мочой в неизмененном состоянии. Оба вещества вместе с неизмененным BZ определяли в виде добавок в моче людей с методом ГХ-МС после подготовки проб, включающей стадии твердофазной экстракции и дериватизации триметилсилилированием [13].

Обнаружение метаболитов может оказаться необходимым при интенсивном метаболизме исходного вещества (когда оно отсутствует в моче или его концентрация невысока) и крайне желательно для повышения достоверности заключений. Для генерации метаболитов нового вещества могут быть использованы как методы *in vivo*, так и *in vitro* [14, 15]. Последние требуют применения дорогостоящих и плохо хранящихся реактивов, в то время как получаемые результаты (в том числе с использованием гепатоцитов человека) могут значительно отличаться от метаболических смесей *in vivo*.

Цель работы – установление аналитических характеристик EA-3167, а также его метаболитов в моче крыс.

Для достижения данной цели проводилась газовая и жидкостная хроматомасс-спектрометрия полученных образцов, исследовались метаболиты EA-3167, получаемых *in vivo* экспонированием лабораторных крыс.

Материалы и методы

Реактивы и материалы. Использовали ацетонитрил (для ВЭЖХ, Scharlab, S.L., Испания), формиат аммония и муравьиную кислоту (для ВЭЖХ, Sigma-Aldrich, Германия). Деионизированную воду (18,2 МОм) получали с помощью системы очистки Milli-Q Advantage A10 (Merck, Германия). Все другие реагенты и растворители (квалификация не ниже х.ч.) были приобретены в Химмед (Россия).

Объекты анализа. Для проведения химико-токсикологического анализа были доставлены следующие объекты: (а) две спиртосодержащие жидкости темно-желтого цвета с запахом коньяка; (б) два образца промывных вод желудка пострадавших.

Первичный скрининг образцов проводили методом ЖХ-МСⁿ (последовательная фрагментация до стадии МС³) с детектированием компонентов масс-спектрометром типа «трехмерная ионная ловушка» в информационно-зависимом режиме. Условия скрининга были подобны методу Bruker Toxtyper⁴, модифицированного для использования с хроматографической колонкой Zorbax SB300-C18 (100 мм × 2,1 мм, 3,5 мкм, Agilent Technologies, США). В обоих образцах спиртосодержащих жидкостей были найдены α-пирролидиновалерофенон и метадон; в образце жидкости № 2 дополнительно обнаружили тетрагидроканнабинол и каннабидиол; причем содержание α-пирролидиновалерофенона в образце жидкости № 1 (согласно площадям пиков) было незначительным. Оборот всех обнаруженных вещества (кроме каннабидиола) запрещен в РФ⁵. Никакие вещества, имеющие лекарственное, нарколоическое или токсикологическое значение не были обнаружены в промывных водах.

Экстракция EA-3167 из спиртосодержащей жидкости и очистка. Жидкость № 1 (200 мл) упаривали примерно до половины от исходного объема на вакуумно-ротаторном испарителе при температуре 40 °С. К остатку добавили бикарбонат натрия (около 1 г) и экстрагировали хлористым метилом (100 мл). Органическую фазу упаривали досуха. Сухой остаток растворяли в хлороформе и разделяли на колонке с силикагелем (Silica 60, 0,04–0,063 мм, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Германия) в подвижной фазе 10 об.% метанола в хлороформе с контролем чистоты фракций методами ТСХ и ЖХ-МС. Целевые фракции объединяли и упаривали при температуре 40 °С досуха.

Экспонирование крыс. Для обнаружения и предполагаемой структурной идентификации метаболитов EA-3167 использовали пять беспородных крыс-самцов со средней массой тела 208–216 г. За сутки до экспонирования животных переставали кормить при свободном доступе к воде. Двум животным вводили раствор EA-3167 в диметилсульфоксиде (1 мг/мл) интрамускулярно, и двум – интрагастрально в количестве 1 и 3 мг соответственно. Пятое животное использовали как контрольное с экспозицией 3 мл диметилсульфоксида интрагастрально. Далее жи-

⁴ Bruker Daltonics Toxtyper™. <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/mass-spectrometry/ms-solutions/toxtyper> (дата обращения: 05.02.2024).

⁵ Постановление Правительства РФ от 30 июня 1998 г. № 681 (ред. от 07.02.2024) «Об утверждении перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации». <https://base.garant.ru/12112176/?ysclid=luprz9ay7f322550623> (дата обращения: 15.02.2024).

вотные были помещены в метаболические камеры. Мочу отбирали дважды, через 4 и 24 ч. Условия содержания экспериментальных животных и проведения экспонирования соответствовали ГОСТ 33216-2014⁶.

Подготовка проб. Спиртосодержащие жидкости № 1 и № 2 разводили смесью, содержащей 5 об.% ацетонитрила в воде в 5000 и 50 раз соответственно, и вводили в хроматограф.

К образцам промывных вод (125 мкл) добавляли холодный ацетонитрил (500 мкл), перемешивали и помещали в холодильник (минус 20 °С, 15 мин). После центрифугирования (1000 g, 5 мин) отбирали надосадочную жидкость (100 мкл), смешивали с водой (900 мкл) и вводили в хроматограф.

К образцам мочи крыс (100 мкл) добавляли холодный ацетонитрил (500 мкл) и помещали в холодильник. Затем смеси центрифугировали, отбирали надосадочную жидкость (400 мкл), упаривали досуха при температуре не выше 40 °С в токе азота. Сухой остаток растворяли в смеси, содержащей 5 об.% ацетонитрила (100 мкл), и вводили в хроматограф. Содержание метаболитов оценивали методом внутренней нормировки площадей пиков протонированных молекул, измеренных при ЖХ-МС (ВР).

Ядерный магнитный резонанс. Спектры ЯМР регистрировали с применением ЯМР-спектрометра AS400 (QOne Tec AG, Швейцария) при частотах 400 МГц (¹H) и 100 МГц (¹³C) в CDCl₃. Химические сдвиги измеряли относительно сигналов остаточного хлороформа. Структуру подтверждали методами DEPT, COSY, HMBC, HSQC.

Жидкостная хроматография-масс-спектрометрия. Жидкостные масс-хроматограммы получали с помощью двух ЖХ-МС систем.

Первую систему применяли для структурной идентификации. Она состояла из жидкостного хроматографа сверхвысокого давления Ultimate 3000, соединенного с трибидным масс-спектрометром Orbitrap Fusion Lumos высокого разрешения (Thermo Fisher Scientific, США). Компоненты проб разделяли на колонке Acclaim RSLC 120 C18 (100 мм × 2,1 мм, 2,2 мкм, Thermo) в градиентном режиме двумя фазами: А (0,1 об. % муравьиной кислоты в воде) и В (ацетонитрил) при температуре 40 °С и скорости потока 0,5 мл/мин. Объем пробы 5 мкл.

При разделении проб использовали две программы элюирования: 1 (быстрая, для исходных соединений) и 2 (медленная, для биологических объектов). Последовательность выполнения программ следующая.

(1): 2 % фазы В (0–1 мин), 2–98 % В (1–8 мин), 98 % В (8–9 мин), 98–2 % В (9–9,1 мин), 2 % фазы В (9,1–11 мин);

(2): 2 % фазы В (0–1 мин), 2–21 % В (1–4 мин), 21–29 % В (4–8 мин), 29–64 % В (8–13 мин), 64–98 % В (13–15 мин), 98 % В (15–17 мин), 98–2 % В (17–17,1 мин), 2 % В (17,1–19 мин).

Масс-спектрометр работал в режиме электрораспылительной ионизации (ЭРИ) с ионным источником HESI-II при следующих условиях: вид газа для ионного источника и высокоэнергетичной столкновительной диссоциации (HCD), азот; вид газа для столкновительной диссоциации в линейной ионной ловушке (CID), гелий; поток дополнительного (Aux) и продувочного (Sweep) газа 10 и 1 усл. ед. соответственно; давление в распылителе (Sheath) 50 psi; температуры распыления и трубки переноса ионов 350 и 325 °С соответственно; напряжение при распылении в положительном и отрицательном режимах 3500 и 2500 В соответственно. Приведенные далее величины энергии столкновительной диссоциации (СД) нормализованы и выражены в процентах.

Вторая система была предназначена для полуколичественного определения и состояла из жидкостного хроматографа сверхвысокого давления 1290 Infinity II LC, соединенного с масс-спектрометром 6470В (тройной квадруполь, Agilent, США). Компоненты проб элюировали на колонке ACQUITY UPLC BEH C18 (100 мм × 2,1 мм, 1,7 мкм, Waters Corporation, США). Состав фаз, скорость потока элюента, температура колонки и объем вводимой пробы были теми же, что для первой системы. Режим элюирования соответствовал программе 1.

Масс-спектрометр настраивали для работы в электрораспылительном положительном режиме с температурной фокусировкой в ионном источнике Jet Stream ESI (Agilent) при следующих условиях: вид газа для ионного источника и ячейки СД, азот; температура газа-осушителя (Dry) и газа-завесы (Sheath), 320 °С (10 л/мин) и 300 °С (11 л/мин) соответственно; давление в распылителе 60 psi; напряжение капилляра 3500 В.

⁶ ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. <https://internet-law.ru/gosts/gost/62388/> (дата обращения: 10.01.2024).

Газовая хроматография-масс-спектрометрия. Газовые масс-хроматограммы получали с помощью газового хроматографа 8890, соединенного с моноквадрольным масс-спектрометром 5977В (Agilent). Компоненты проб элюировали на колонке VF-5ms (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм, Agilent) согласно двум температурным программам:

(1) 50 °С (1 мин), 100 °С (99°/мин, 1 мин), 300 °С (35°/мин, 12 мин);

(2) 50 °С (1 мин), 100 °С (99°/мин, 1 мин), 280 °С (15°/мин, 20 мин).

Газ-носитель гелий (постоянная скорость потока, 1 мл/мин), объем вводимой пробы 1 мкл, режим ввода без деления потока. Температуры инжектора и интерфейса 270 и 290 °С соответственно.

Масс-спектрометр работал в режиме электронной ионизации (ЭИ) в высокоэнергетичном источнике (НЕС), энергия ионизации

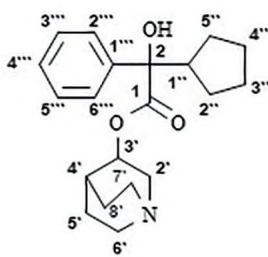
70 эВ, диапазон сканирования 39–600. Температуры ионного источника и масс-фильтра были 230 и 150 °С соответственно. Индексы удерживания измеряли относительно смеси n-алканов C₁₀–C₄₀.

Результаты и обсуждение

Идентификация EA-3167. Спектры ЯМР EA-3167 (таблица 1) весьма сложны из-за значительного количества взаимодействующих метиленовых и метиновых групп, трех оптических центров и возможных конформеров циклопентильного и хинуклидинольного остатков. В спектрах выделенного образца EA-3167 заметно наличие двух соединений, предположительно являющихся диастереомерами.

Наличие фенильного кольца подтверждается присутствием трех мультиплетов в области 7,20–7,65 м.д. спектра ¹Н. В спектре ¹³С

Таблица 1 – Сигналы ¹Н и ¹³С для EA-3167 в CDCl₃ при 400 и 100 МГц соответственно (данные авторов)

			
Номер	¹³ С (δ, м.д.), диастереомер 1	¹³ С (δ, м.д.), диастереомер 2	¹ Н (δ, м.д.)
1	174,95	174,65	–
2	79,33	79,64	–
3 (ОН)	–	–	12,18
2'	52,66	52,61	3,60, 3,72, 2H, c
3'	68,79	68,43	5,08, 1H, c
4'	23,72	24,10	2,31, 2,39, 1H, c
5'	20,25	20,41	1,93, 2H, m
6'	45,38	45,43	3,40-3,00, 2H, m
7'	46,34	46,20	3,40-3,00, 2H, m
8'	16,75	17,10	1,80-1,39, 2H, m
1''	46,24	46,59	3,40-3,00, 2,92, 1H, m;
2''	26,57	26,55	1,80-1,39, 1H, m
3''	26,06	26,06	1,80-1,39, 1H, m
4''	26,50	26,46	1,80-1,39, 1H, m
5''	26,99	27,14	1,80-1,39, 1H, m
1'''	141,27	141,19	–
2'''/6'''	125,96	125,60	7,59, 1H, д, J=8 Гц
3'''/5'''	128,34	128,46	7,32, 1H, дд, J=8 Гц
4'''	127,92	127,92	7,25, 1H, м
Примечание. Прочерк (–) означает неприменимость величины.			

фенильному остатку принадлежат два дублета (C-2'''', C-6''' и C-3'''', C-5''') и один синглет C-4''' в слабопольной области спектра, а также сигналы четвертичного углерода C-1''' около 141 м.д. Другие четвертичные атомы углерода (C-1 в составе сложноэфирной группы и C-2, соединенный с гидроксильной группой) в этом же спектре имеют сдвиги около 175 и 79 м.д. соответственно.

Химические сдвиги атомов углерода циклопентильного остатка C-2'' – C-5'' близки (26,06–27,14 м.д.), а сигналы присоединенных к ним протонов составляют сложный мультиплет в сильнопольной части спектра ¹H. Их отнесение было выполнено на основании спектров COSY и HSQC ввиду взаимодействия с атомами метиновой группы циклопентильного остатка.

Спиновая связь с метиновой группой C-3' позволяет выполнить отнесение сигналов ме-

тиленовой группы C-2'. Химический сдвиг атома углерода последней в спектре ¹³C (около 52,6 м.д.) близок к сдвигам углеродов других метиленовых групп (C-6' и C-7'), соединенных с атомом азота. Отнесение сигналов групп C-5' и C-8' выполняли на основании спиновых связей с атомами C-6', C-7' и C-4'.

ЖХ-МС (ВР) и ГХ-МС ЕА-3167 и продуктов его гидролиза. В данном разделе приведены только те масс-спектры, которые отсутствуют в доступных библиотеках. В применяемых условиях ЖХ-МС (ВР) исходное вещество элюируется двумя близко удерживаемыми пиками (таблица 2), что (как отмечено выше) можно объяснить диастереомерией. Оба пика характеризуются близкими величинами *m/z* (идентичными брутто-формулами) и подобными масс-спектрами (МС²). На рисунке 2 приведены спектры ионов-фрагментов ЕА-3167 для двух режимов

Таблица 2 – ЖХ-МС характеристики ЕА-3167, его артефактов и метаболитов в моче крыс (данные авторов)*

Вещество (метаболит, артефакт)	Метаболическая (артефактная) реакция	Элементный состав	Теор. <i>m/z</i>	$\Delta m/z$, ppm	<i>t_R</i> , мин	Отн. площадь в моче, %	
						4 ч	24 ч
ЕА-3167	–	C ₂₀ H ₂₈ NO ₃	330,2064	1,0	8,56	1,0	1,0
ЕА-3167	–	C ₂₀ H ₂₈ NO ₃	330,2064	0,7	8,81	2,2	2,4
3-Q	Гидролиз	C ₇ H ₁₄ NO	128,1070	-1,5	0,53	2,3	5,2
СНРА	Гидролиз	C ₁₃ H ₁₅ O ₃	219,1027	0,1	11,49	–	–
М1.1	Моногидроксилирование (циклопентил)	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	0,6	4,60	7,3	9,5
М1.2	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	1,2	4,86	2,4	1,9
М1.3	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	0,0	5,00	15	6,4
М1.4	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	1,2	5,15	5,6	4,2
М1.5	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	0,9	5,26	4,5	2,6
М1.6	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	0,6	5,52	19	14
М1.7	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	-1,7	5,61	1,4	1,2
М2.1	Моногидроксилирование (хинуклидинил)	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	1,2	8,74	1,0	1,1
М2.2	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₄	346,2013	1,5	8,89	0,8	0,8
М3.1	Образование кетона (циклопентил)	C ₂₀ H ₂₆ NO ₄	344,1856	1,7	5,13	0,7	0,6
М3.2	«–»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₄	344,1856	2,0	5,15	0,7	0,6
М3.3	«–»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₄	344,1856	1,2	5,60	9,2	8,3
М4.1	Дигидроксилирование (циклопентил)	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,7	4,05	1,6	1,7
М4.2	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,4	4,16	0,6	1,4
М4.3	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	0,6	4,43	3,6	7,1
М4.4	«–»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,4	4,65	0,6	0,8
М5.1	Дигидроксилирование (циклопентил и хинуклидинил)	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,4	4,65	0,6	0,8

Продолжение таблицы 2

Вещество (метаболит, артефакт)	Метаболическая (артефактная) реакция	Элементный состав	Теор. m/z	Δm/z, ppm	t _R , мин	Отн. площадь в моче, %	
						4 ч	24 ч
M5.2	«-»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,9	4,78	1,2	1,5
M5.3	«-»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	0,8	5,18	1,5	1,6
M5.4	«-»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	2,2	5,21	1,5	1,6
M5.5	«-»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,7	5,57	1,6	1,7
M6.1	Дигидроксилирование (хинуклидинил)	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	1,9	7,18	0,1	0,2
M6.2	«-»	C ₂₀ H ₂₈ NO ₅	362,1962	2,2	7,44	0,0	0,0
M7.1	Образование кетона и моногоксилирование (циклопентил)	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	1,7	4,40	0,9	1,4
M7.2	«-»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	1,7	4,43	2,9	5,9
M7.3	«-»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	2,2	4,53	1,0	1,2
M7.4	«-»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	1,4	4,59	1,2	2,0
M8.1	Образование кетона (циклопентил) и моногоксилирование (хинуклидинил)	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	1,7	5,15	3,9	4,9
M8.2	«-»	C ₂₀ H ₂₆ NO ₅	360,1805	1,1	5,64	4,8	6,8

Примечание.
Теор. m/z – моноизотопная теоретическая m/z протонированной молекулы; Δm/z – отклонение измеренного m/z от теоретического; t_R – время удерживания для программы элюирования 2; отн. – относительная; «-» – величину не рассчитывали.
*Приведены относительные площади (внутренняя нормировка, %) пиков протонированных молекул метаболитов, полученных при интрамускулярном введении EA-3167.

столкновительной диссоциации (HCD и CID). Следует отметить, что фрагментация HCD, в целом, подобна фрагментации в условиях канонических ячеек СД, применяемых в масс-спектрометрах типа «тройной квадруполь», в то время как спектры CID более сравнимы со спектрами, получаемыми в трехмерных ловушках, выпускаемых фирмой Bruker Daltonics⁷ и применяемых в ряде химико-токсикологических лабораторий России. Главными особенностями CID являются (а) преимущественно однократная фрагментация ионов-прекурсоров с минимизацией вторичной фрагментации и (б) потери легких ионов при возбуждении. Использование обоих режимов (HCD и CID) упрощает интерпретацию масс-спектров. Тем не менее, в нашем случае режим CID позволял получать более характеристичные масс-спектры и поэтому использовался в дальнейшем для структурной интерпретации метаболитов. Пути фрагментации EA-3167 преимущественно заключаются в потере молекулы воды при дегидратации третичной гидроксильной группы (рисунок 2Б) и разрушении сложного эфира. Фрагментация циклических остатков (циклопентильного и хинуклидинольного) малозначительна.

⁷ Bruker Daltonics Toxtyper™. <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/mass-spectrometry/ms-solutions/toxtyper> (дата обращения: 05.02.2024).

⁸ NIST/EPA/NIH 20 Mass Spectral Library. National Institute of Standards and Technology Mass Spectrometry Data Center. Gaithersburg, USA. <https://chemdata.nist.gov/dokuwiki/doku.php?id=chemdata:start> (дата обращения: 05.02.2024).

Фрагментация 3-Q (HCD) наблюдается только при высоких энергиях СД (рисунок 2В), причем дальнейшее повышение энергии СД ведет к появлению большого количества малохарактеристичных фрагментов при сохранении протонированной молекулы. Ионизация СНРА (HCD, рисунок 2Г) была возможна только в отрицательном режиме, а наблюдаемые фрагменты содержат циклопентильный остаток. Масс-спектры ГХ-МС 3-Q, его триметилсилильного деривата и дитриметилсилильного деривата СНРА приведены в базе NIST2020 (NIST# 229779, 289606 и 476439 соответственно)⁸. Фрагментация EA-3167 и его триметилсилильного деривата, в основном, заключается в элиминировании хинуклидинформильного остатка с образованием ионов

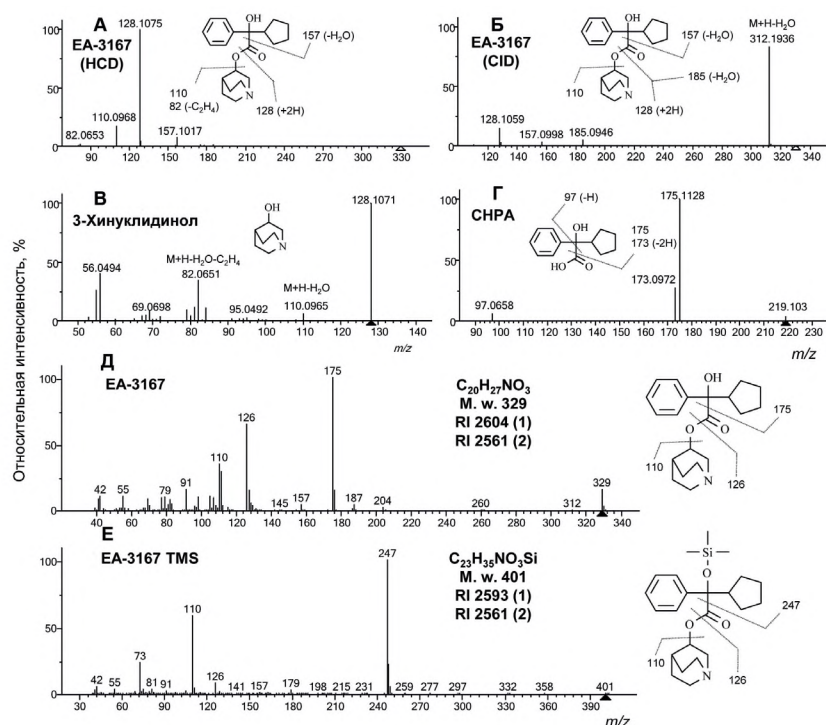


Рисунок 2 – ЖХ-МС (ЭРИ) масс-спектры высокого разрешения EA-3167 (А – HCD, 30 %; Б – CID, 40 %), 3-хинуклидинола (В – HCD, 60 %) и СНРА (Г – HCD, 20 %). Масс-спектры (А-В) регистрировали в положительном режиме, (Г) – в отрицательном. ГХ-МС (ЭИ) масс-спектры EA-3167 (Д) и его триметилсилильного деривата (Е). М.в. – молекулярная масса, RI – индексы удерживания для двух температурных программ (данные авторов)

с m/z 175 и 247 соответственно (рисунок 2Д). В обоих спектрах присутствуют интенсивные ионы с m/z 110 и 126, содержащие хинуклидинильный остаток. Брутто-формулы ионов были подтверждены регистрацией точных масс с помощью квадруполь-времяпролетного масс-спектрометра.

Оценка содержания EA-3167 и 3-Q в объектах. Для полуколичественной оценки содержания использовали очищенные образцы EA-3167 и 3-Q. Анализ объектов проводили в

режиме наблюдения выбранных переходов, для чего оптимизировали напряжение фрагментатора и энергии СД по трем ионным переходам (одному количественному и двум квалификационным) для каждого вещества. Результаты оптимизации приведены в таблице 3. Градуировку проводили по трем концентрациям (1, 10 и 100 ppb), измеряя площади пиков. Повторяемость (относительная СКО, %, для количественных ионных переходов) при трех измерениях каждой кон-

Таблица 3 – Условия ЖХ-МС/МС определения EA-3167 и 3-хинуклидинола в объектах (данные авторов)

Соединение	Q1	Q3	t_R , мин	Фрагментор, В	ЭСД, эВ	Диапазон концентраций, нг/мл	R^2
EA-3167*	330,2	128,1*	4,89; 4,94	140	35	1-100	0,9999
EA-3167	330,2	110,1	«-»	140	30	«-»	-
EA-3167	330,2	157,1	«-»	140	30	«-»	-
3-Q*	128,1	82,1*	0,51	160	35	1-100	0,9999
3-Q	128,1	94,1	«-»	160	45	«-»	-
3-Q	128,1	56,0	«-»	160	35	«-»	-

Примечание.

3-Q – 3-хинуклидинол; Q1 – m/z иона-прекурсора; Q3 – m/z иона-продукта; t_R – время удерживания; ЭСД – энергия СД; R^2 – коэффициент детерминации; «-» – переходы, использованные для количественной оценки; «-» – величина соответствует указанной выше; - – величину не рассчитывали.

центрации не превышала 2,3 %. Для обоих веществ коэффициенты детерминации (R^2) были очень высокие ($>0,9999$). Повторяемость отношений площадей пиков квалификационных переходов к количественным не превышала 1,4 %.

Результаты определения EA-3167 и 3-Q в спиртосодержащих жидкостях и промывных водах приведены в *таблице 4*. Основываясь на полученных данных, можно сделать вывод о том, что EA-3167 был добавлен в жидкость № 1, в то время как его содержание в жидкости № 2 невелико и возможно, является случайным загрязнением, сделанным в процессе приготовления жидкостей. Как было указано в Экспериментальной части, жидкость № 2 содержала большие количества наркотических веществ (α -пирролидиновалерофенон, метадон и тетрагидроканнабинол) и, следовательно, имела несколько иное назначение по сравнению с жидкостью № 1. Содержание EA-3167 в промывных водах № 1 и № 2 сопоставимо.

Метаболизм EA-3167 для крыс. Метод ЖХ-МС (ВР). Всего обнаружили 29 метаболитов EA-3167. Хроматограммы образцов мочи крыс, полученной при интрагастральном введении и отобранной в течение 4 ч после экспонирования, приведены на *рисунке 3*. Все обнаруженные метаболиты относятся к семейству окисленных и могут быть разделены на восемь групп согласно виду окисления и позиции в пределах остатка.

Таблица 4 – Оценка содержания EA-3167 и 3-хинуклидинола в объектах (данные авторов)

Объект	EA-3167, мкг/мл	3-Хинуклидинол, мкг/мл
Жидкость № 1	910±20	2,8±0,1
Жидкость № 2	3,9±0,04	< 0,05
Промывные воды № 1	0,39±0,01	< 0,05
Промывные воды № 2	1,1±0,00	< 0,05

EA-3167 – сложный эфир, и можно было бы предположить, что основным направлением метаболических модификаций исходной структуры был бы гидролиз, протекающий самопроизвольно или при воздействии ферментов-гидролаз, присутствующих в крови млекопитающих [16]. В этом случае должны были бы образовываться 3-Q и СНРА, присутствующие в моче в неизменном или конъюгированном состоянии. Однако, согласно относительным площадям пиков метаболитов, полученных при интрамускулярном введении (*таблица 2*), содержание 3-Q оценивается как невысокое. Для образцов мочи, полученных при интрагастральном введении (общие данные не приведены), это значение еще меньше (менее 1,5 %). Поскольку время удерживания 3-Q невелико (0,53 мин) и близко к мертвому времени системы (около 0,44 мин), то можно было бы предположить значительное подавление

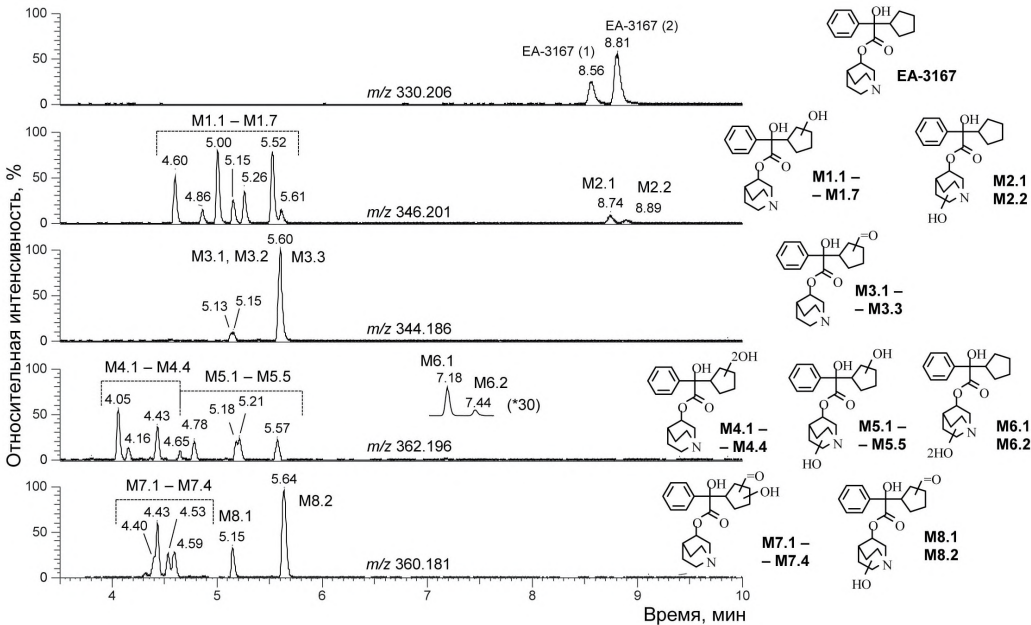


Рисунок 3 – ЖХ-МС (ВР) хроматограммы образцов мочи крыс с метаболитами EA-3167. Предполагаемые структуры метаболитов. Диапазон отображения хроматограмм ± 5 ррт, постоянный масштаб осей ординат (данные авторов)

ионизации, вызванное матрицей мочи. Тем не менее, площадь пика депротонированной молекулы СНРА в моче (равно как и ее предполагаемого глюкуронида) была также очень малой.

Относительная площадь неизмененного ЕА-3167 (в виде суммы площадей пиков диастереомеров) в моче, полученной при интрагастральном и интрамускулярном введении, не превышала 13 и 4 % соответственно, и можно заключить, что ЕА-3167 подвержен интенсивному метаболизму. Первую группу метаболитов (М1.1–М1.7) предположительно идентифицировали как продукты моногидроксилирования цикlopентильного остатка. На это указывает двухкратная дегидратация (ионы с m/z 328, 310, 173 и 155) и наличие неизмененного хинуклидинольного остатка (ионы с m/z 128 и 110), рисунок 4. Присутствие гидроксильной группы на цикlopентильном (а не на фенильном) остатке доказывается как легкой дегидратацией, так и отсутствием

в спектре пиков ионов с характерной гидроксилированной тропилиевой структурой. Цикlopентильный остаток имеет три положения для гидроксилирования, и наличие на хроматограмме семи пиков объясняется диастереомерией: следует учесть, что при гидроксилировании этого остатка в положения 2''–5'' появляются два дополнительных оптических центра (четвертый и пятый).

В масс-спектрах двух оставшихся моногидроксилированных метаболитов (М2.1 и М2.2) присутствует интенсивный пик иона с m/z 144 и малоинтенсивный с m/z 126, что прямо указывает на присутствие дополнительного атома кислорода на хинуклидинольном остатке. Оба метаболита имеют значительное удерживание, сопоставимое с удерживанием неизмененного ЕА-3167. Этот факт свидетельствует о подавлении протонирования атома азота, что уменьшает гидрофильность молекулы [17]. В этом случае метаболиты М2.1 и М2.2 являются продуктами

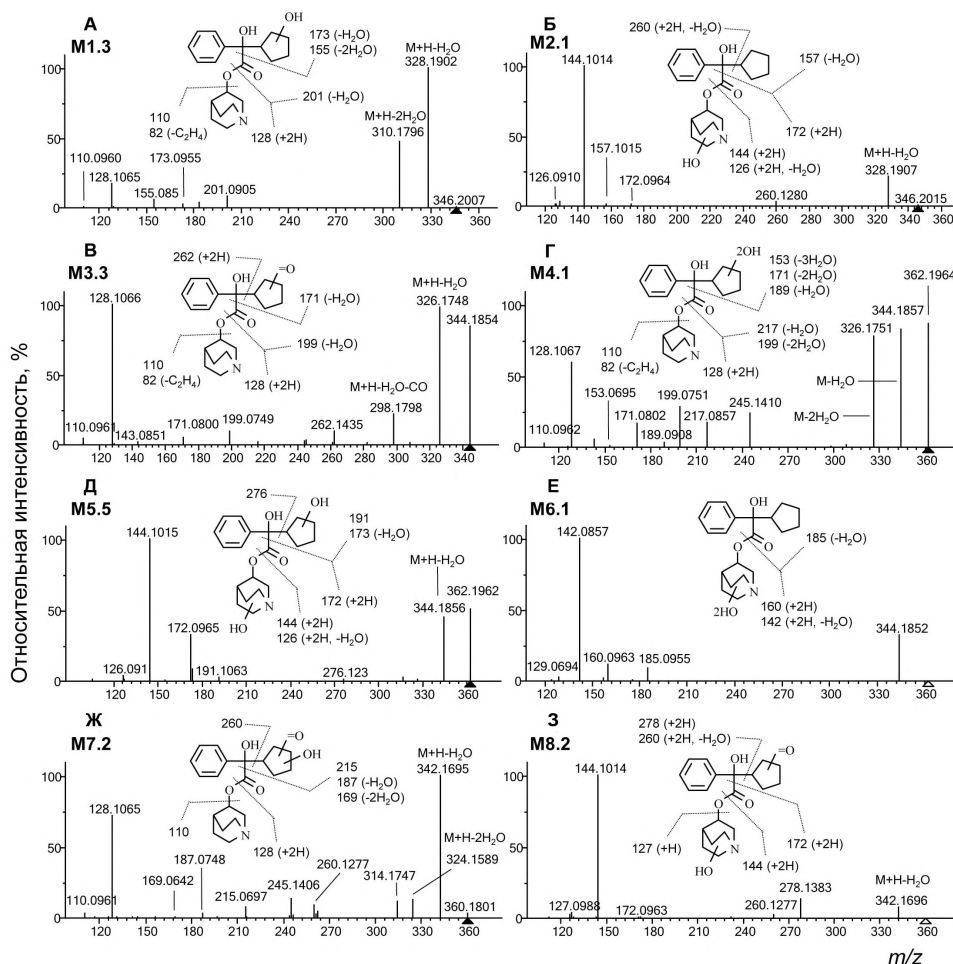


Рисунок 4 – ЖХ-МС (ЭРИ, ВР) масс-спектры метаболитов ЕА-3167 и предполагаемые структуры. Энергия СД 30 % (CID) (данные авторов)

гидроксирования ближайших к атому азота метиленовых групп (положения 2', 6' или 8'), либо N-оксидами.

В структуре молекул третьей группы метаболитов (M3.1–M3.3) атом кислорода предположительно находится на циклопентильном остатке в составе карбонильной группы. На это указывает преимущественно однократная дегидратация (ион с m/z 326), а также наличие пиков ионов с m/z 262 и 128, указывающих на отсутствие дополнительного атома кислорода на фенильном и хинуклидинольном остатках.

Четвертая группа содержит четыре метаболита, предположительно дигидроксилированных по циклопентильному остатку (M4.1–M4.4). Фрагментация этих соединений включает двухкратную дегидратацию протонированной молекулы (ионы с m/z 344 и 326) и трехкратную – дигидроксилированного циклопентилфенилметанольного остатка (малоинтенсивный ион с m/z 153).

Дигидроксилированные метаболиты пятой группы (M5.1–M5.5) характеризуются большим удерживанием по сравнению с M4.1–M4.4, а в их масс-спектрах присутствуют ионы, ясно указывающие на наличие дополнительного атома кислорода на хинуклидинольном остатке (m/z 172 и 144). Гидроксильная группа находится на циклопентильном остатке, что следует из наличия ионов с m/z 191 и 276 в масс-спектре (рисунок 4Д). Пользуясь аргументацией, приведенной выше для сильноудерживающихся моногидроксилированных метаболитов M2.1 и M2.2, можно сделать вывод о том, что в структурах M5.1–M5.5 гидроксильна одна из ближайших к атому азота метиленовых групп, либо они являются N-оксидами.

Удерживание метаболитов шестой группы (M6.1 и M6.2) очень велико по сравнению с другими дигидроксилированными метаболитами. Их фрагментация (наличие в масс-спектре пика иона с m/z 160 и (дегидратированного) m/z 276 ясно указывает на присутствие двух дополнительных атомов кислорода на хинуклидинольном остатке. Повышенное удерживание объясняется как подавлением протонирования атома азота, так и локализацией гидрофильных гидроксильных групп на одном остатке.

В структурах четырех метаболитов седьмой группы (M7.1–M7.4) присутствует карбонильная и гидроксильная группа, локализованные на циклопентильном остатке. Этот вывод следует из наличия неизменных фенольного и хинуклидинольного остатков (ион с m/z 260), а также из увеличения веса циклопентилфенилметанольного

остатка, что соответствует добавлению двух атомов кислорода и отсутствию двух атомов водорода (ион с m/z 215). Этот ион подвержен двукратной дегидратации, приводящей к образованию ионов с m/z 187 и 169 и подтверждающей наличие дополнительной гидроксильной группы на циклопентилфенилметанольном остатке.

Два метаболита последней (восьмой) группы, M8.1 и M8.2, имеют кетогруппу на циклопентильном остатке и дополнительный атом кислорода – на хинуклидинольном. Последнее прямо подтверждается наличием интенсивного пика иона с m/z 144, а существование кетогруппы на циклопентильном остатке – наличием иона с m/z 278, указывающем на отсутствие изменений в фенильном остатке.

Все обнаруженные метаболиты относятся к фазе I. Метаболиты фазы II (глюкурониды и сульфаты) не обнаружили, исключая возможное присутствие глюкуронида СНРА в следовой концентрации. Основными метаболическими путями были окисление алифатических (а не ароматических) остатков исходного вещества, что согласуется с результатами более ранних исследований [17].

Как можно убедиться по данным, приведенным в таблице 2, метаболический профиль при интрамускулярном введении EA-3167 примерно одинаков для образцов мочи, собранных в течение 4 и 24 ч. Для случая интрагастрального введения (данные не приведены), наблюдали уменьшение относительных площадей неизмененного EA-3167 и моногидроксилированных метаболитов (M1.1–M1.6) примерно в 2 раза, в то время как относительные площади более сложных метаболитов групп M4, M6 и M7 наоборот, росли.

Дополнительный интерес представляет оценка общего содержания E-3167 и его метаболитов в моче в зависимости от времени отбора мочи. Суммы площадей пиков метаболитов при увеличении времени с 4 до 24 ч составили примерно 14 и 30 % от исходных значений для интрагастрального и интрамускулярного введения, соответственно. Эти значения позволяют предположить, что время надежного обнаружения E-3167 и его метаболитов в моче составляет, по крайней мере, не менее 2 сут.

Следует отметить, что объем полученных данных недостаточен для формирования уверенных выводов по составу метаболической смеси и времени экскреции. Однако в этом нет необходимости ввиду очевидного отличия метаболизма крыс от человеческого. Согласно нашему опыту, это отличие

в основном, заключается в преобладании одностадийных метаболитов для человека. Следовательно, наиболее вероятными метаболитами для человека должны быть соединения групп М1–М3, и наиболее удобны для обнаружения метаболиты М1.1, М3.3, М1.6 и М3.3.

Маркеры отравления ЕА-3167, наблюдаемые методом ГХ-МС. Важнейшими преимуществами ГХ-МС следует назвать воспроизводимость спектров электронной ионизации и возможность стандартизации удерживания с применением распространенных хроматографических фаз. Вместе с наличием бесплатных средств обработки газовых масс-хроматограмм, эти преимущества позволяет создавать дешевые и надежные методики скрининга образцов сложного состава [9–11]. Вместе с тем, при учете особенностей ионизации, молекулярной массы и температурной стабильности компонентов наблюдаемый состав образца как правило, отличается от того, который был получен методом ЖХ-МС [18]. Для оперативного обнаружения целевых веществ мы включили их характеристики, полученные методом ГХ-МС. Точное сопоставление веществ, обнаруженных методом ЖХ-МС и ГХ-МС, представляет сложную задачу при исследовании метаболических смесей, и поэтому большая часть перечисленных далее веществ следует рассматривать только как маркеры употребления ЕА-3167.

ГХ-МС хроматограммы экстракта мочи крыс с дериватизацией триметилсилилированием приведены на *рисунке 5* и масс-спектры метаболитов, имеющих наименьшее удерживание в группе, изображены на *рисунке 6*. Как отмечалось выше, ЕА-3167 элюируется в виде одного пика.

Все метаболиты, наблюдаемые методом ГХ-МС, имеют неизменный хинуклидинольный остаток, на что указывает присутствие пиков ионов с m/z 126 и 110 в их масс-спектрах. Наиболее интенсивным выглядит компонент, предположительно идентифицированный как продукт образования кетогруппы на циклопентильном остатке, *рисунк 6А*. Следует учесть, что данное вещество может являться продуктом температурной или химической дегидратации (артефактом) дигидроксилированных метаболитов. Тем не менее, это вещество наиболее удобно в качестве маркера отравления. На наличие кетогруппы указывает существование иона с m/z 261 (или иона с m/z 171 после элиминирования триметилсиланола).

Моногидроксилированные компоненты (*рисунк 6Б*) имеют большее удерживание, чем продукт образования кетона и, по-видимому, являются истинными метаболитами. Их фрагментация проходит подобно кетонному производному с разрывом связи между гидроксилированным циклопентилфенилметанольным остатком и остальной частью иона. Эти метаболиты также пригодны для

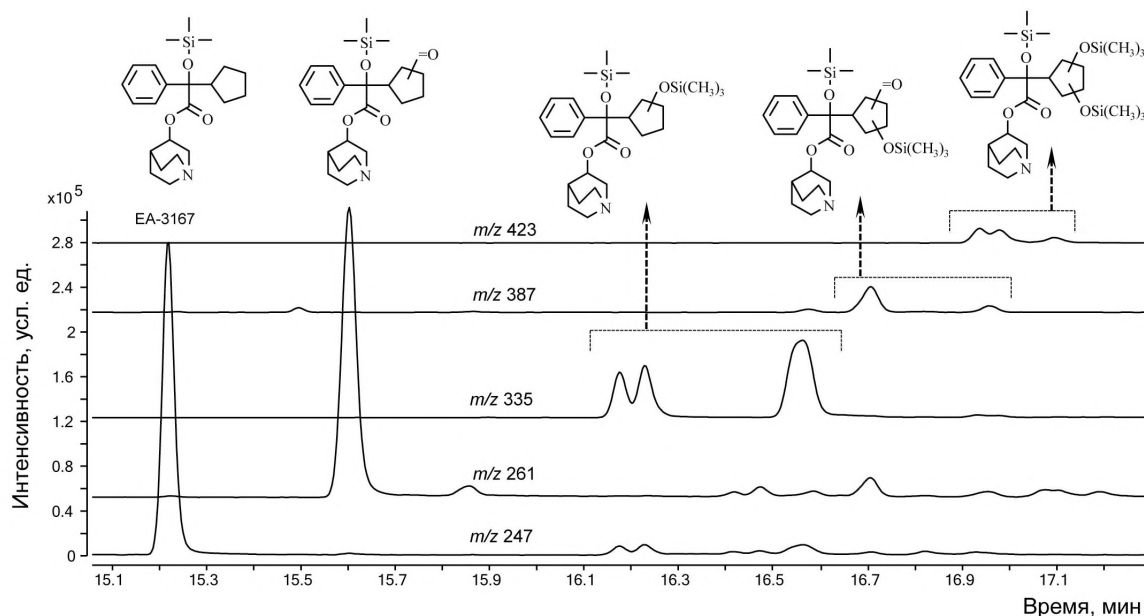


Рисунок 5 – ГХ-МС масс хроматограммы образцов мочи крыс с метаболитами ЕА-3167 (триметилсилилирование). Предполагаемые структуры метаболитов (данные авторов)

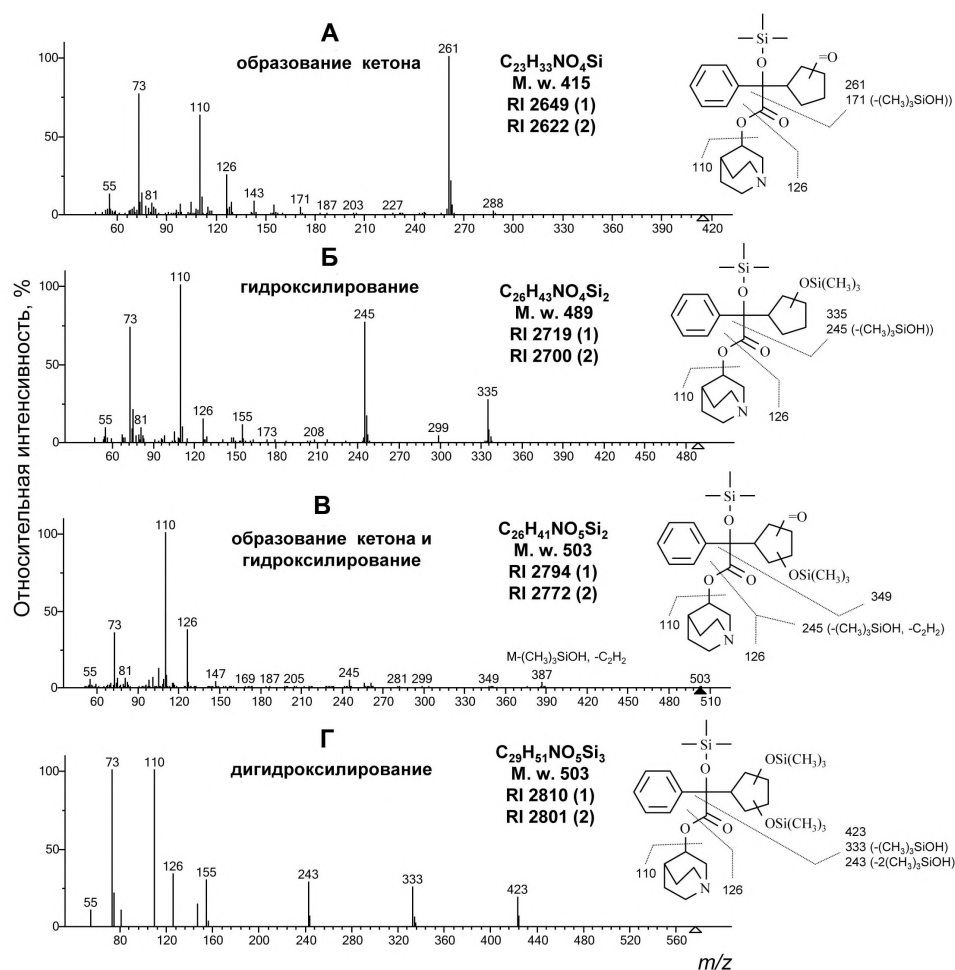


Рисунок 6 – ГХ-МС (ЭИ) масс-спектры метаболитов EA-3167 (TMC) и предполагаемые структуры.
M.w. – моноизотопная молекулярная масса; RI – индексы удерживания для двух температурных программ
(данные авторов)

использования в качестве маркеров по критериям интенсивности хроматографических пиков и сравнительной простоты структур.

Пути фрагментация двух оставшихся веществ – продукта гидроксилирования и образования кетогруппы, а также дигидроксилирования цикlopентильного остатка (рисунки 6B и 6Г соответственно) проходят так же, как и у рассмотренных выше веществ. Масс-спектры всех рассмотренных веществ содержат пики ионов, образованных элиминированием триметилсиланола.

Заключение

В спиртосодержащих напитках, доставленных из зоны проведения специальной военной операции, был обнаружен ряд наркотических веществ, оборот которых запрещен в РФ. Кроме того, в напитках идентифицировали EA-3167, редкое психоак-

тивное вещество, являющееся структурным аналогом инкапаситанта BZ, входящего в список 2 КЗХО. В одном из напитков концентрация EA-3167 составила 910 мкг/мл; вещество также было найдено в промывных водах желудка, доставленных вместе со спиртосодержащими жидкостями. Было найдено, что EA-3167 подвержен интенсивному метаболизму. В моче крыс, экспонированных EA-3167, обнаружили ряд метаболитов фазы I, являющихся продуктами моно- и дигидроксилирования алифатических остатков исходного вещества, а также образования карбонильных групп. Исходное вещество, продукты его моногидроксилирования и образования карбонильной группы на цикlopентильном остатке были найдены наиболее удобными маркерами для подтверждения отравления методами газовой и жидкостной хроматомасс-спектрометрии.

Список источников/References

1. Ellison DH. *Handbook of Chemical and Biological Warfare Agents*. 2nd ed. New York: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2008. 762 p.
2. Sternbach LH, Kaiser S. Antispasmodics. II. Esters of Basic Bicyclic Alcohols. *J Am Chem Soc*. 1952;74(9):2219–21.
<https://doi.org/10.1021/ja01129a020>
3. Palmer WG. *Field-Water Quality Standards for BZ. Technical Report*. U S Army Biomedical Research & Development Laboratory. Fort Detrick, 1990. Available from: <https://apps.dtic.mil/sti/citations/ADA220896>
4. Григорьев АМ, Фатеенков ВН. Современные психоактивные вещества и их обнаружение в биомедицинских пробах. *Вестник войск РХБ защиты*. 2022;6(4):320–41.
Grigoryev AM, Fateenkov VN. Modern Psychoactive Substances and Their Detection in Biomedical Samples. *Journal of NBC Protection Corps*. 2022;6(4):320–41. EDN: EUKKMS.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-4-320-341>
5. Rzeszotarski WJ, Gibson RE, Eckelman WC, et al. Analogs of 3-quinuclidinyl benzilate. *J Med Chem*. 1982;25(9):1103–6.
<https://doi.org/10.1021/jm00351a020>
6. Gibson RE, Rzeszotarski WJ, Eckelman WC, Jagoda EM, Weckstein DJ, Reba RC. Differences in affinities of muscarinic acetylcholine receptor antagonists for brain and heart receptors. *Biochem Pharmacol*. 1983;32(12):1851–6.
[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(83\)90049-7](https://doi.org/10.1016/0006-2952(83)90049-7)
7. He Liu, Xiang-yu Han, Bo Wu, Bo-hua Zhong, Ke-liang Liu. Synthesis and crystal structure of quinuclidin-3-yl 2-cyclopentyl-2-hydroxy-2-phenylacetate. *J Chem Res*. 2005;(12):787–8.
<https://doi.org/10.3184/030823405775147068>
8. Flanagan RJ, Cuypers E, Maurer HH, Whelpton R. *Fundamentals of analytical toxicology*. New York: John Wiley & Sons, Ltd; 2020. 599 p.
9. Maurer HH. Screening Procedures for Simultaneous Detection of Several Drug Classes Used for High Throughput Toxicological Analyses and Doping Control. A Review. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2000;3(6):467–80.
<https://doi.org/10.2174/1386207003331355>
10. Maurer HH, Chapter 12. Forensic screening with GC-MS. In: Bogusz MJ, Eds. *Handbook of Analytical Separations*. Amsterdam: Elsevier; 2008;6:425–45. [https://doi.org/10.1016/S1567-7192\(06\)06012-8](https://doi.org/10.1016/S1567-7192(06)06012-8)
11. Drummer OH. Chromatographic screening techniques in systematic toxicological analysis. *J Chromatogr A*. 1999;733(1-2):27–45.
[https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(99\)00265-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(99)00265-0)
12. Li Z, Huang X, Wang X, Ren J, Xu B, Luo C, et al. Establishment and application of a screening method for 354 organic toxicants in blood and urine with high-performance liquid chromatography-high-resolution orbitrap mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2023;415(3):493–507.
<https://doi.org/10.1007/s00216-022-04432-6>
13. Byrd GD, Paule RC, Sander LC, Sniegowski LT, White E, Bausum HT. Determination of 3-quinuclidinyl Benzilate (QNB) and Its Major Metabolites in Urine by Isotope-Dilution Gas-Chromatography Mass-Spectrometry. *J Anal Toxicol*. 1992;16:182–7.
<https://doi.org/10.1093/jat/16.3.182>
14. Zhang D, Luo G, Ding X, Lu C. Preclinical experimental models of drug metabolism and disposition in drug discovery and development. *Acta Pharm Sin B*. 2012;2(6):549–61.
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2012.10.004>
15. Costa A, Sarmento B, Seabra V. An evaluation of the latest in vitro tools for drug metabolism studies. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2014;10(1):103–19.
<https://doi.org/10.1517/17425255.2014.857402>
16. Граник ВГ. *Метаболизм экзогенных соединений*. М.: Вузовская книга; 2015. 526 с.
Granik VG. *Metabolism of exogenous compounds*. Moscow: «Vuzovskaya Kniga»; 2015. 526 с.
17. Заикина ОЛ, Шилов ВВ, Лодягин АН, Глушков СИ, Григорьев АМ. Установление структур свободных и глюкуронидированных метаболитов α-пирролидиноалерофенона в моче человека методом жидкостной хромато-масс спектрометрии при измерении точных масс. *Журн аналит химии*. 2019;74(5):381–96.
<https://doi.org/10.1134/S0044450219020130>
Zaikina OL, Shilov VV, Lodyagin AN, Glushkov SI, Grigoryev AM. Determination of the structures of free and glucuronidated metabolites of α-pyrrolidinoaleroophenone in human urine by liquid chromatography-mass spectrometry for measuring accurate masses. *Journal of Analytical Chemistry*. 2019;74(5):381–96.
<https://doi.org/10.1134/S0044450219020130>

18. Grigoryev A, Kavanagh P, Labutin A, Pechnikov A, Dowling G, Shevyrin V, Krupina N. Tentative identification of the metabolites of (1-(cyclohexylmethyl)-1H-indol-3-yl)-(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl) methanone, and the product of its thermal degradation, by in vitro and in vivo methods. *Drug Test Anal.* 2019;11(9):1387–402.
<https://doi.org/10.1002/dta.2668>

Вклад автора / Author contribution

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.М. Григорьев** – формирование концепции статьи, написание текста рукописи; **В.А. Яшкир** – редактирование текста рукописи; **В.И. Крылов** – составление рисунков; **Н.А. Колосова** – доработка текста, работа с табличным материалом; **В.Н. Фатеенков** – доработка текста, окончательное утверждение версии рукописи для публикации / All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contribution were as follows: **A.M. Grigoryev** – elaboration of the concept of the paper, writing of the article; **V.A. Jashkir** – editing of the article; **V.I. Kryliv** – prepared the figures, **N.A. Kolosova** – revision of the text, tabular work; **V.N. Fateenkov** – editing of the article, approval of the final version of the article for publication.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах/ Authors

Григорьев Андрей Михайлович. Старший научный сотрудник. Доктор химических наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5971-5989>

Яшкир Вадим Анатольевич. Старший научный сотрудник. Кандидат химических наук.

Крылов Владислав Игоревич. Научный сотрудник.

Колосова Наталья Александровна. Старший научный сотрудник. Кандидат биологических наук.

Фатеенков Владимир Николаевич. Начальник отдела. Кандидат военных наук, доцент, профессор АВН.

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

Контактное лицо: Григорьев Андрей Михайлович; 27nc_1@mil.ru

Federal State Budgetary Establishment “27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky” of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Entuziastov Passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation.

Andrej M. Grigoryev. Senior Researcher. Dr Sci. (Chem).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5971-5989>

Vadim A. Jashkir. Senior Researcher. Cand. Sci. (Chem).

Vladislav I. Krylov. Researcher.

Nataliya A. Kolosova. Senior Researcher. Cand. Sci. (Chem).

Vladimir N. Fateenkov. Chief of the Department. Cand. Sci. (Mil.). Professor AMS.

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

Contact person: Andrey M. Grigoryev; 27nc_1@mil.ru



Биологические свойства бактериальных токсинов

М.В. Супотницкий✉

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации,
111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19
✉ e-mail: 27nc_1@mil.ru

Знания по биологическим свойствам бактериальных токсинов постоянно обновляются. В последние два десятилетия интерес исследователей смещался в направлении от природных токсинов к их генетически измененным производным. **Цель работы** – обобщение знаний по биологическим свойствам бактериальных токсинов, накопленных в англоязычной научной литературе за последние годы. **Метод исследования** – аналитический. **Источниковая база исследования** – в основном англоязычная научная литература, доступная через глобальную сеть «Интернет». **Результаты**. В работе рассмотрены: организация и общий механизм действия молекул бактериальных токсинов; достоверность показателей их токсичности, приведенных в научной литературе; токсическое действие токсинов различных групп, различающихся по механизму действия; получение гибридных и модифицированных токсинов; выявление искусственных токсинов. **Выводы**. Среди бактериальных токсинов наибольшую опасность представляют бинарные токсины. Бинарный состав экзотоксинов бактерий, хорошая изученность их субъединиц, функциональных доменов, механизмов сборки и внутриклеточного действия позволяют вести их модификацию в направлении изменения спектра целей, токсичности, механизма поражающего действия и иммуногенности. Для выявления генетически измененных токсинов, малоизученных аналогов и изоформ природных токсинов могут быть использованы специальные программы, основанные на машинном обучении.

Ключевые слова: бинарный токсин; ботулинический; гибридный; дифтерийный; мембраноповреждающий; модифицированный; рекомбинантный; стафилококковый; столбнячный; токсин.

Для цитирования: Супотницкий М.В. Биологические свойства бактериальных токсинов. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(1):34–64. EDN:jtrfxo.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-34-64>

Прозрачность финансовой деятельности: автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: автор является заместителем главного редактора журнала (с 2017 г.).

Финансирование: федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ).

Поступила 30.12.2023 г. Принята к публикации 27.03.2024 г.

The Biological Properties of Bacterial Toxins

Mikhail V. Supotnitskiy✉

Federal State Budgetary Establishment “27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky”
of the Ministry of Defence of the Russian Federation
Entuziastov Passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation
✉ e-mail: 27nc_1@mil.ru

Knowledge of the biological properties of bacterial toxins is constantly being updated. Over the past two decades, the research interest has shifted from natural toxins to their genetically modified derivatives. **The purpose of the work** is to summarize the knowledge of the biological properties of bacterial toxins accumulated in the English-language scientific literature in recent years. **The research method** is analytical. **The source base for the research** is English-language scientific literature, accessible through the global Internet. **Results.** The work examines: the organization and general mechanism of action of bacterial toxin molecules; the reliability of their toxicity indicators given in the scientific literature; toxic effects of toxins of various groups, differing in their mechanism of action; obtaining hybrid and modified toxins; identification of artificial toxins. **Conclusions.** Among bacterial toxins, binary toxins are the most dangerous. The binary composition of bacterial exotoxins, a good understanding of their subunits, functional domains, assembly mechanisms and intracellular action, make it possible to modify them in the direction of changing the range of targets, toxicity, mechanism of damaging action and immunogenicity. To identify genetically modified toxins, poorly studied analogues and isoforms of natural toxins, special programs based on machine learning can be used.

Keywords: binary toxin; botulinum; diphtheria; hybrid; membrane damaging; modified; recombinant; staphylococcal; tetanus; toxin.

For citation: Supotnitskiy M.V. The Biological Properties of Bacterial Toxins. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(1):34–64. EDN:jtrfxo.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-34-64>

Financial Disclosure: The author has no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: The author is deputy Editor-in-Chief of the journal since 2017.

Funding: Federal State Budgetary Establishment “27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky” of the Ministry of Defence of the Russian Federation (27 SC MD RF).

Received 30 December 2023. Accepted 27 March 2024

Токсины бактерий – один из факторов, определяющих их патогенность. Некоторые из бактериальных токсинов полностью ответственны за основные клинические симптомы инфекционной болезни (дифтерия, коклюш, холера, сибирская язва, ботулизм, столбняк, гемолитический уремический синдром и др.). У отдельных бактериальных токсинов летальные дозы, определенные на экспериментальных животных, на порядки меньше, чем у боевых отравляющих веществ (например, ботулинический, стафилококковый токсин В), поэтому они рассматриваются как потенциальные поражающие агенты биологического оружия (БО). Знания по бактериальным токсинам постоянно обновляются. В последние два десятилетия интерес исследователей смещался в направлении от природных токсинов к их генетически измененным производным с ранее неизвестными свойствами. Поэтому крайне важно иметь представление о том, на основе каких биологических свойств токсинов могут идти такие исследования.

Цель работы – обобщение знаний по биологическим свойствам бактериальных токсинов, накопленных в англоязычной научной литературе за последние годы.

Метод исследования – аналитический.

Источниковая база исследования – в основном англоязычная научная литература, доступная через глобальную сеть «Интернет».

В работе рассмотрены: организация и общий механизм действия молекул бактериальных токсинов; достоверность показателей их токсичности, приведенных в научной литературе; токсическое действие токсинов различных групп, различающихся по механизму действия; получение гибридных и модифицированных токсинов; выявление искусственных токсинов.

Общие знания о бактериальных токсинах. Бактерии производят два вида токсинов: липополисахаридные и белковые. *Липополисахаридные токсины* – это токсичные субстанции липополисахаридной природы, высвобождаемые из клеточной стенки бактерии после ее разрушения. Их еще называют эндотоксинами – в данной работе не рассматриваются. *Белковые токсины* синтезируются внутри бактериальных клеток, выделяются в окружающую среду (экзотоксины) и через свои высокоспецифичные рецептор-связывающие субъединицы взаимодействуют с клетками-мишенями. Экзотоксины представляют собой либо отдельные сложные белки, специфически формирующие поры в цитоплазма-

тической мембране клетки, либо белковые комплексы, организованные в АВ-структуры (АВ toxins), где А-субъединица в цитоплазме клетки проявляет ферментативные (токсические) свойства; В-субъединица определяет ее лиганд-рецепторное взаимодействие с клеткой. Токсины такого типа сегодня рассматриваются учеными как своего рода природные заготовки токсинов с новыми мишенями.

Ю.В. Вертиев [1] обратил внимание ученых на сходство бактериальных токсинов, интерферонов, бактериоцинов и гормонов в отношении целого ряда важных свойств: 1) синтезируются одним типом клеток, в то время как воздействуют на другие типы клеток; 2) действуют на клетки в чрезвычайно низкой концентрации (10^{-11} – 10^{-14} М); 3) обладают сходной молекулярной организацией: т.е. состоят как минимум из двух функционально и структурно различных белков (доменов) – энзиматического и рецепторного (АВ-структура молекулы токсина, см. ниже); 4) имеют сходные звенья молекулярного механизма действия (связывание с рецепторами, активация, транслокация внутрь клетки и модификация клеточных мишеней и сигнальных путей); 5) обнаруживают сходную кинетику биологического эффекта – одноударный эффект; 6) все эти вещества токсичны.

Двухкомпонентный состав и одноударность действия бактериальных токсинов, закрепленные естественным отбором, можно объяснить, сделав предположение, что способность синтезировать токсины позволяла бактериям еще на заре многоклеточной жизни реализовывать какую-то сигнальную функцию в их экосистемах. Преимущество такой структуры для передачи сигналов заключается в том, что при ее распространении из центра сигнал не ослабляется на большом расстоянии. Если бы передача сигнала осуществлялась структурами, не способными к лиганд-рецепторному взаимодействию, то сигнал ослабевал бы по мере диффузии сигнальных молекул. Отсюда, как следствие, способность воздействовать на другие типы клеток в чрезвычайно низких концентрациях [1].

К настоящему времени накоплены данные, показывающие возможность выполнения бактериальными токсинами функций, не имеющих отношения к инфекционным процессам у людей и животных. Среди них: использование бактериями токсинов как средства антагонизма в микробных сообществах (холерный токсин оказывает ингибирующее действие на ряд бактерий); участие токсинов в авторегуляторных процессах в

бактериальных популяциях (энтеротоксин *Clostridium perfringens*) и др. [2]. Рассмотрение таких функций также не входит в задачу данной работы.

Организация и общий механизм действия молекул бактериальных токсинов. S.M. Bezrukov и E.M. Nestorovich [3] по механизму действия на клетки делят токсины на две большие группы: мембраноповреждающие (мембраноперфорирующие) и действующие с помощью каталитического домена на мишени в цитозоле клетки. Как те, так и другие, используют порообразующие или каналообразующие домены в своем составе.

Токсическое действие мембраноповреждающих токсинов проявляется в нарушении целостности мембраны клетки. Для проявления токсичности им не нужен каталитический домен. После связывания с рецептором на поверхности клетки они олигомеризуются с образованием поры, внедряющейся непосредственно в плазматическую мембрану. Сформированные в мембране каналы приводят к нарушению ионного обмена клетки с окружающей ее средой, создается осмотический дисбаланс, и клетка гибнет.

Действие токсинов на мишени в цитозоле клетки заключается в ферментативной модификации этих мишеней и осуществляется путем введения ферментативных субъединиц через сформированные ими же каналы. Структура таких токсинов предполагает наличие двух компонентов: А- и В-субъединиц, где А-субъединица (каталитический домен) проявляет энзиматическую (токсическую) активность в клетке хозяина; В-субъединица «узнает» клетку-мишень и доставляет А-субъединицу в цитозоль клетки-мишени через формируемую пору в мембране. Поэтому такие токсины еще называют *бинарными*.

В-субъединица состоит из двух функциональных доменов: *рецептор-связывающего* домена, определяющего тропизм молекулы токсина к определенным клеткам; и *транслокационного* домена, доставляющего А-субъединицу через липидный бислой на плазматическую мембрану или в эндосому клетки-мишени. Структура В-субъединиц тесно связана со структурой рецепторов-мишеней, с которыми взаимодействует токсин. Рецепторы токсинов обычно распределены на плазматической мембране в *липидных рафтах*, обогащенных холестерином и гликофинголипидами. Они обеспечивают молекулярную платформу для кластеризации белков, участвующих в передаче сигнала в клетку, запускающего эндоцитоз ферментативной субъединицы и ее последующий

ретроградный транспорт через ранние эндосомы в эндоплазматический ретикулум (ЭР) и через аппарат Гольджи. А-субъединицы более консервативны, чем В-субъединицы, особенно в участках, критических для проявления их ферментативной активности. Большинство бинарных токсинов изначально синтезируются в виде неактивных токсинов (двух отдельных полипептидов) и для их активизации необходим протеолитический процессинг, сходный с тем, который обеспечивает проникновение в клетку вирусов¹ [4–6].

Процесс интоксикации требует участия факторов хозяина, таких как клеточные рецепторы, фуриновые протеазы, факторы трафика и факторы транслокации А-субъединицы и др. Генетические скрининги соматических клеток выявили двенадцать генов хозяина, необходимых для интоксикации цитолетальным токсином, вызывающим растяжение клеток (cytotoxic distending toxin, CDT), и растительным токсином – рицином [7, 8].

Кроме взаимодействия с рецептором клетки-мишени, по мнению Ю.В. Вертиева [1], В-субъединица имеет еще одну важную функцию – предохранителя, предотвращающего «случайный выстрел». Она экранирует ферментативную субъединицу, предотвращая ее случайное взаимодействие с субстратом в клетке-мишени и за ее пределами². Активация токсической субъединицы происходит после протеолитического расщепления В-субъединицы (В-прекурсора), наступающего после ее взаимодействия с клеткой-мишенью.

Бинарные токсины, как правило, являются крупными функциональными белковыми агрегатами. Эволюционно образование таких агрегатов возможно путем объединения двух или более белков в результате как нековалентных взаимодействий (си-

биреязвенный, коклюшный и другие токсины), так и путем образования ковалентной связи между ними (ботулинические и столбнячные токсины). В свою очередь отдельные субъединицы токсинов так же состоят из некогда различных белков, объединенных в пептид, проявляющий несколько активностей сразу. Например, тяжелые цепи ботулинического и столбнячного токсина содержат два домена – регион, необходимый для транслокации токсина, и регион, необходимый для связывания с клеткой. Белки такого типа образовались в эволюционном прошлом слиянием соответствующих генов в один ген, кодирующий полипептидную цепь.

Для бактериальных токсинов характерен «феномен экономии генов», проявляющийся в сходстве их субъединиц на молекулярном и макромолекулярном уровнях, но различным участием в инфекционном процессе. Холерный токсин (СТ-токсин) и относящийся к его семейству температуролабильный энтеротоксин кишечной палочки (LT-токсин) имеют по пяти идентичных В-субъединиц, а коклюшный токсин имеет четыре различных В-субъединицы, но две из В-субъединиц коклюшного токсина свертываются аналогично В-субъединичным пентамерам семейств холерного токсина и шига-токсина [10]. Внекишечная патогенная кишечная палочка (Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*; ExPEC), представитель семейства *Enterobacteriaceae*, продуцирует коклюшноподобный токсин (*Escherichia coli* pertussis-like toxins; EcPlt)³, который на 50–70 % идентичен белкам *Salmonella* ArtA⁴ [12]. По крайней мере пять АДФ-рибозилирующих токсинов (коклюшный, холерный и дифтерийный токсины, температуролабильный токсин кишечной палочки и экзотоксин *A* псевдомонад) имеют общий НАД-связывающий сайт [10]. Участок протяженностью в 100 аминокислот ферментативного до-

¹ Например, *фурин* и подобные ему сериновые эндопротеазы на поверхности клетки-мишени, необходимы для отделения узнающей специфический рецептор субъединицы гликопротеина оболочки ВИЧ, вирусов гриппа, лихорадки Денге, SARS-CoV-2, от той, которая обеспечивает проникновение его нуклеиновой кислоты в клетку [9].

Частным случаем АВ-структур являются трехкомпонентные токсины типа сибиреязвенного со структурой типа А1-В-А2, где В – это субъединица, участвующая в связывании токсина с рецептором; А1 и А2 – субъединицы, проявляющие различную энзиматическую (токсическую) активность в клетке хозяина. Трехкомпонентные токсины используют общую В-субъединицу, обеспечивающую ферментативным субъединицам единый механизм проникновения в цитозоль. Такая организация молекулы токсина необходима для проявления синергидного эффекта токсического действия ферментативных субъединиц.

² Сходным образом организованы гликопротеины вирусов, выполняющие функцию узнавания и слияния с клеткой [11].

³ Коклюшноподобные токсины, продуцируемые другими бактериями, менее изучены, механизмы их патогенного действия неясны [12].

⁴ Гены *ArtA* и *ArtB*, кодируемые профагом *S. typhimurium* DT104, являются гомологами генов, кодирующих компоненты коклюшного токсина, включая его субъединицу АДФ-рибозилтрансферазы [17].

мена цитотоксического некротизирующего фактора первого типа (cytotoxic necrotising factor I, CNF1), гомологичен участку ферментативного домена дермoneкротического токсина бордетелл. Оба одинаковых участка выполняют одинаковую функцию – активируют Rho⁵ [13].

Обнаружено сходство между ферментативными субъединицами токсинов бактерий и ферментами эукариот. Отечный фактор сибиреязвенного микроба представляет собой аденилатциклазу, по кинетическим и по антигенным свойствам имеющую сходство с действующей на ту же мишень кальмодулин-зависимой аденилатциклазой эукариотических клеток [14, 15].

Особенности процесса самосборки субъединиц на мембране клетки-мишени позволяют разделить бинарные токсины на группы: АВ-токсины, А+В- и токсины АВ_х,

где х – количество субъединиц В (обычно 2, 5 или 7).

В *одноцепочечных АВ-токсинах* стехиометрия АВ составляет 1:1, и токсин синтезируется бактерией в виде одной полипептидной цепи. Обе субъединицы связаны межцепочечной дисульфидной связью. Это связывание через *восстановление дисульфидной связи*⁶ нарушается по пути их проникновения в эндолизосомы, что приводит к высвобождению каталитического домена в цитозоль клетки-мишени. Примерами таких токсинов являются *ботулинический* (BoNT) и *столбнячный* (TeNT) нейротоксины; *дифтерийный* токсин (Dt); *рициновый токсин* (Rtx) и *экзотоксин А псевдомонад* [16]. На *рисунке 1* показаны особенности структуры АВ-токсинов.

Токсины АВ₂ и АВ₅ состоят из двух и пяти идентичных В-субъединиц соответ-

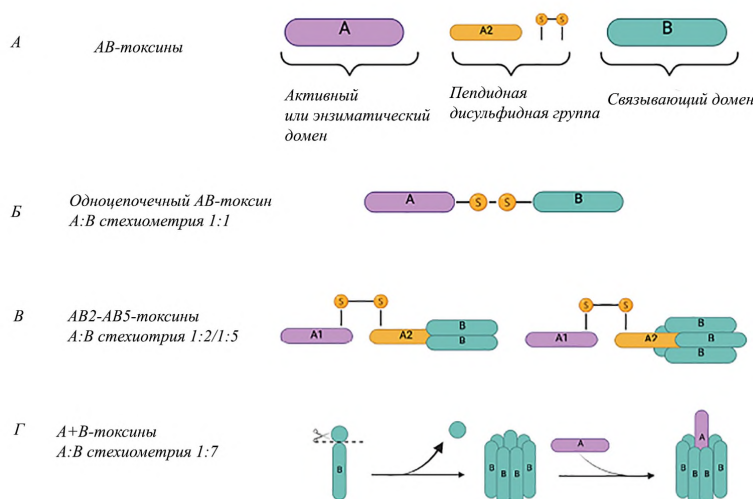


Рисунок 1 – Общая схема активных форм различных типов бинарных токсинов. А – А-субъединица обладает энзиматической активностью, В-субъединица связывает молекулу токсина с рецептором на поверхности клетки-мишени. В зависимости от типа бинарного токсина между субъединицами может находиться линкер, включающий пептидную и/или дисульфидную группу. АВ-токсин становится активным в результате протеолитического расщепления между А- и В-субъединицами или в их пределах. Такие токсины классифицируют в соответствии с их стехиометрией. Б – одноцепочечный АВ-токсин синтезируется бактерией в виде отдельной полипептидной цепи. Его стехиометрия 1:1 А:В. Обе субъединицы соединены через межцепочечную дисульфидную связь. В – А- и В- субъединицы продуцируются бактерией в виде отдельных белков и собираются в голотоксин уже после их синтеза. В активной форме протеолитическое расщепление имеет место в пределах А-домена, образуя А1- и А2-домены, которые остаются связанными через дисульфидную группу. Г – в токсинах типа А+В, субъединицы А и В собираются в активированную форму после того, как фрагмент В подвергнется протеолитическому расщеплению. В этом случае голотоксин обычно находится в форме АВ₇. Члены семейства токсинов АВ_х состоят из семи порообразующих субъединиц В, которые действуют как молекулярный шприц для перемещения ферментативных фрагментов А в цитозоль клеток-мишеней [16]

⁵ Субсемейство маленьких ГТФ-связывающих белков, участвующих в модификации регуляторов актина цитоскелета.

⁶ Восстановление дисульфидной связи – разрыв ковалентной связи между атомами серы (—S—S—).

ственно, связанных с одной каталитической А-субъединицей без образования ковалентной связи между ними. Их домены А и В синтезируются независимо друг от друга и собираются путем формирования водородных связей, электростатических и гидрофобных взаимодействий в олигомер, состоящий из одной молекулы А, связанной с димером или пентамером из В-субъединиц. Голотоксин⁷ собирается сразу после синтеза обеих субъединиц. Примечательной особенностью каталитической А-субъединицы токсинов АВ₅ является то, что, хотя это один полипептид, после протеолитического расщепления образуются два домена (А1 и А2), связанных между собой дисульфидной связью. А1 представляет собой каталитическую часть, а

А2 – α-спиральный линкерный домен, связывающий субдомен А1 с пентамером В. Он нековалентно вставляется в центральную пору, образующуюся при образовании пентамера из В-субъединиц, и доставляется в цитозоль клетки. Токсины АВ₅ подразделяются на четыре различных семейства в соответствии с гомологией последовательностей А-субъединиц и их каталитической активностью: семейство холерного токсина (Ctx), семейство коклюшного токсина (PТ), семейство шига-токсина (Stx) и субтилазный цитотоксин (SubAB) [5, 16]. Сравнительный механизм действия бинарных токсинов разного типа самосборки показан на рисунке 2.

Токсины А+В синтезируются бактериальной клеткой в виде двух отдельных поли-

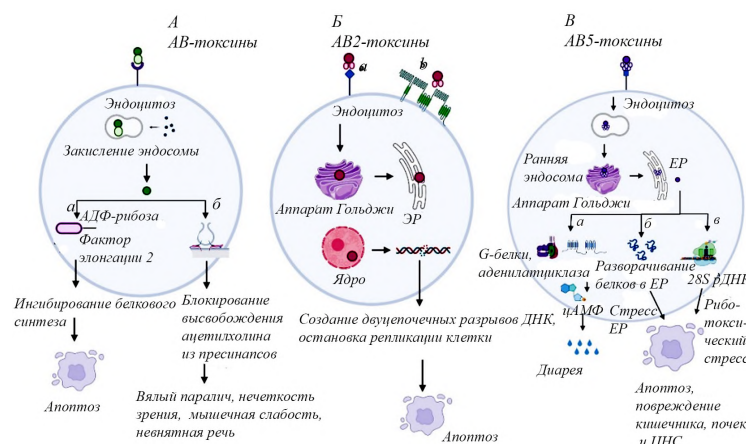


Рисунок 2 – Сравнительный механизм действия бинарных токсинов различных типов самосборки. А – АВ-токсины. Субъединица В токсинов АВ-типа связывается с целевыми рецепторами клеток-хозяев, инициируя рецептор-опосредованный эндоцитоз. Затем внутренняя среда эндосомы закисляется и субъединицы А и В диссоциируют. В случае дифтерийного токсина и экзотоксина *P. aeruginosa*, субъединица А нацелена на фактор элонгации 2, ингибируя синтез белка клетки-хозяина и вызывая апоптоз клетки (а). Субъединица А (легкая цепь) ботулинических нейротоксинов расщепляет специфические белки в комплексах растворимый N-этилmaleимид-чувствительный фактор-активирующий белок-рецептор (SNARE), блокируя высвобождение ацетилхолина из пресинаптических нервных окончаний (б). Слияние везикул, содержащих нейромедиаторы, с пресинаптическими мембранами не происходит, что приводит к вялому параличу, мышечной слабости, нечеткости зрения и невнятной речи; Б – Токсины АВ₂ – CDT. Субъединица В токсинов АВ₂ связывается со специфическими ганглиозидными рецепторами клетки-хозяина (а) или с микродоменами мембранного липидного рафта (б), что позволяет субъединице А подвергаться эндоцитозу. Затем субъединица А локализуется в ядре через аппарат Гольджи и эндоплазматический ретикулум (ЭР) и использует свою ДНКазную активность типа I для создания двухцепочечных разрывов в хромосомной ДНК клетки-хозяина, необратимо останавливая клетку в фазе G2/M клеточного цикла с последующей индукцией апоптоза; В – Токсины АВ₅ – холерный, коклюшный, шига-токсины. Голотоксин связывается со специфическими рецепторами на поверхности клеток-хозяев, подвергается эндоцитозу и ретроградному транспорту через ранние эндосомы в ЭР и через аппарат Гольджи. В ЭР голотоксин расщепляется, позволяя субъединице А проявлять свои цитотоксические эффекты. Субъединица А токсинов АВ₅ воздействует на G-белки и аденилатциклазу, что увеличивает внутриклеточные уровни цАМФ и приводит к секреции жидкости в кишечник и диарее (а). Также она нацелена на белки-шапероны ЭР, что приводит к накоплению развернутых белков в ЭР и активирует стрессовую реакцию ЭР (б). Затем субъединица А связывает целевые остатки в 28S рРНК, в результате ингибируется синтез белка, инициируются реакция риботоксического стресса (в) и апоптоз клетки [5]

⁷ Голотоксин – любой белковый токсин со структурой, собранной из нескольких субъединиц.

пептидов. Чтобы собраться в олигомерную форму домен В должен подвергнуться обработке фуриновыми протеазами хозяина, расположенными на поверхности клетки-мишени. Олигомеризуясь он рекрутирует фрагмент А – формируется голотоксин. Стехиометрия АВ₇ означает наличие семи одинаково процессированных фрагментов В, нековалентно связанных с одной субъединицей А (рисунок 1Г). Так обстоит дело с токсином возбудителя сибирской язвы (Atx) и токсином С2 бактерии *Clostridium botulinum* [18, 19].

Достоверность показателей токсичности бактериальных токсинов в научной литературе. Следует учитывать, что количественные показатели токсичности, приведенные в научной литературе, могут иметь ограничения, обусловленные множеством факторов [20]:

- в разных отчетах использовались токсины различной чистоты, особенно в прошлом, когда методы определения химической и физической однородности белковых препаратов не были стандартизированы;

- в старых работах токсичность выражалась как минимальная смертельная доза, которая определяется как минимальная доза токсина, способная вызвать гибель животного (либо всех животных группы – LD₁₀₀, либо половину группы – LD₅₀ и др.), но у разных экспериментаторов существуют различия в количестве используемых животных и времени, проходящем от введения токсина до гибели животного;

- количество белковых токсинов в прошлом часто измерялось не в единицах массы токсина, используемой для эксперимента, а в флокулирующих единицах или в миллиграммах азота⁸;

- большинство данных получены в результате экспериментов на мышах, но ток-

сичность того или иного токсина сильно зависит от вида животного;

- в разных лабораториях использовались разные линии одного вида животных;

- использовались различные пути заражения животных и сами животные содержались в разных условиях;

- токсичность, зарегистрированная в лаборатории, всегда ниже, чем соответствующая токсичность, встречающаяся в дикой природе (например, даже незначительные нарушения зрения у экспериментального животного, которые являются первыми очевидными симптомами ботулизма, не влияют на выживаемость в вольере⁹, но смертельны в дикой природе, когда животное становится беззащитным перед хищником).

Поэтому данные о токсичности того или иного токсина необходимо собирать в виде диапазонов или интервалов, суммирующих данные из разных отчетов или понимать, что они отражают конкретные условия, существовавшие в лаборатории на момент их определения или определять самому под конкретные задачи.

Классификация бактериальных токсинов. Выше мы рассмотрели классификацию токсинов по типам самосборки на клеточной мембране. Наиболее оптимальной для цели данной работы нам представляется классификация С. Schmitt с соавт. [21], подразделяющая все токсины на пять групп по механизму действия, и упрощающая понимание их поражающего действия в качестве потенциальных агентов БО и их прекурсоров (таблица 1 и рисунок 3).

Порообразующие токсины (pore-forming toxins, PFTs) – принадлежат к самому большому семейству факторов вирулентности патогенных бактерий и представляют собой наиболее характерные классы порообразующих белков (pore-forming proteins, PFPs)¹⁰.

⁸ Определение белка по содержанию азота основано на том, что содержание азота в большинстве белков практически одинаково и может быть принято равным 16 %. По количеству найденного азота во взятой пробе рассчитывают содержание белка в лекарственном средстве, используя коэффициент пересчета азота на белок, равный 6,25. На результаты определения будут оказывать влияние другие азотсодержащие вещества, присутствующие в испытуемом образце (ОФС.1.2.3.0012.15. Определение белка. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018).

⁹ То же произойдет с человеком в условиях боевых действия или при каких-либо других катастрофических событиях, исключающих своевременную медицинскую помощь.

¹⁰ Порообразующие белки идентифицированы во всех царствах живых организмов (животные, растения, грибы, бактерии, протисты и археи). У животных – как часть их иммунной системы [25]. Например, архитектура поры, образованная перфорином млекопитающих (продуцируется цитотоксическими Т-клетками и натуральными киллерами), сходна архитектурой поры, образованной бактериальными токсинами из подсемейства холестеринзависимых цитолизин. У некоторых видов животных порообразующие белки играют роль в антибактериальной защите. В кожных выделениях, в крови и тканях, связанных с иммунной системой лягушек (*Bombina orientalis*), идентифицирован аэролизин-подобный белок, способный противодействовать микробной инфекции, вызывая быстрые и эффективные врожденные иммунные реакции хозяина [26]. Порообразующие белки рассматриваются в качестве антибактериальных токсинов [27].

Таблица 1 – Характеристика бактериальных токсинов

Микроорганизм / Токсин	Механизм действия	Мишень	Заболевание	Участие токсина в болезни	LD ₅₀ / кг
Повреждающие мембраны					
<i>Aeromonas hydrophila</i> / Аэролизин	Пороформирующий	Гликопротеин	Диарея	(да)	~7мкг (м)
<i>Clostridium perfringens</i> / Перфринголизин О	То же	Холестерин	Газовая гангрена	?	
<i>Escherichia coli</i> / Гемолизин ^d	То же	Плазматическая мембрана	Инфекция уринарного тракта	(да)	-
<i>Listeria monocytogenes</i> / Листерииолизин О	То же	Холестерин	Системные пищевые инфекции, менингиты	(да)	3-12 мкг (м)
<i>Staphylococcus aureus</i> / альфа-токсин	То же	Плазматическая мембрана	Абсцессы ^c	(да)	40-60 нг (м)
<i>Staphylococcus pneumoniae</i> / Пневмолизин	То же	Холестерин	Пневмония ^c	(да)	~1,5 мкг (к)
<i>Streptococcus pyogenes</i> / Стрептолизин О	То же	Холестерин	Стрептококковая ангина, скарлатина ^c	?	~8 мкг (м) 1-2 мкг (к)
Ингибиторы белкового синтеза					
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> / Дифтерийный токсин	АДФ-рибозил-трансфераза	Фактор элонгации-2	Дифтерия	Да	~1,6 мкг (м) 100 нг (ч)
<i>E. coli</i> / <i>Shigella dysenteriae</i> / Шига-токсин	N-гликозидаза	28SpPHK	Геморрагический колит, гемолитический уремический синдром	Да	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / экзотоксин А	АДФ-рибозил-трансфераза	Фактор элонгации-2	Пневмония ^c	(Да)	~3 мкг (м)
Активаторы путей вторичных мессенджеров					
<i>E. coli</i> : Цитотоксический никротизирующий фактор	Деамидаза	Rho G-белки	Инфекция уринарного тракта	?	-
Термолабильный токсин	АДФ-рибозил-транс-фераза	G-белки	Диарея	Да	-
Температурно стабиль-ный токсин ^d	Стимуляция гуани-латциклазы	Гуанилатциклаз-ный рецептор	То же	Да	-
Цитолетальный токсин, вызывающий растя-жение клеток – CDT (Cytolethal Distending Toxin) ^d	Блокирование G2	Неизвестна	То же	(Да)	-
EAST	ST-подобный?	Неизвестна	То же	?	-
<i>B. anthracis</i> / Отечный фактор	Аденилатциклаза	АТФ	Сибирская язва	Да	-
<i>Bordetella pertussis</i> / Коклюшный токсин	АДФ-рибозил-трансфераза	G-белки	Коклюш	Да	21 мкг (м)
Дермонекротический токсин	Деамидаза	Rho G-белки	Риниты	(Да)	-
<i>Clostridium botulinum</i> / C2-токсин	АДФ-рибозил-трансфераза	Мономерный G-актин	Ботулизм	?	-
<i>C. botulinum</i> / C3 токсин	То же	RhoG-белок	Ботулизм	?	-
<i>Clostridium difficile</i> / Токсин А	Гликозилтрансфе-раза	RhoG-белок(и)	Диарея / РС	(Да)	-
Токсин В	То же	То же	То же	?	-
<i>Vibrio cholerae</i> / Холерный токсин	АДФ-рибозил-трансфераза	G-белок(и)	Холера	Да	~250 мкг (м)
Активаторы иммунного ответа					
<i>S. aureus</i> / Энтеротоксины	Суперантиген	TCR и МНС II	Пищевое отравление	Да	20-50 мкг (о)

Продолжение таблицы 1

Микроорганизм / Токсин	Механизм действия	Мишень	Заболевание	Участие токсина в болезни	LD ₅₀ / кг
Эксфолиативный токсин	Суперантиген (и сериновая протеаза?)	То же	Синдром шелушения кожи	Да	-
<i>S. pyogenes</i> / Пирогенный экзотоксин	То же	То же	Скарлатина / синдром токсического шока ^с	Да	3–6 мг (м)
Токсин синдрома токсического шока	Суперантиген	То же	Синдром токсического шока ^с	Да	-
Протеазы					
<i>B. anthracis</i> / Летальный фактор	Металлопротеаза	MAPKK1/MAPKK2	Сибирская язва	Да	<114 мкг (м)
<i>C. botulinum</i> / Нейротоксины А-С	Цинк-металлопротеазы	VAMP / синаптобrevин, SNAP-25, синтаксин	Ботулизм	Да	0,5–1,2 нг (м)
<i>Clostridium tetani</i> / Столбнячный токсин	То же	VAMP / синаптобrevин	Столбняк	Да	~1 нг (м)

Таблица составлена автором по данным С. Schmitt с соавт. [21].

Примечание.

Да – строго доказанная связь между токсином и болезнью; (Да) – роль в патогенезе была показана на животных моделях или клеточных культурах; ? – неизвестно; с – другие болезни также ассоциированы с этим организмом; d – токсин продуцируется и другими семействами бактерий; (м) – мышь; (к) – кролик; (ч) – человек; (о) – обезьяны.

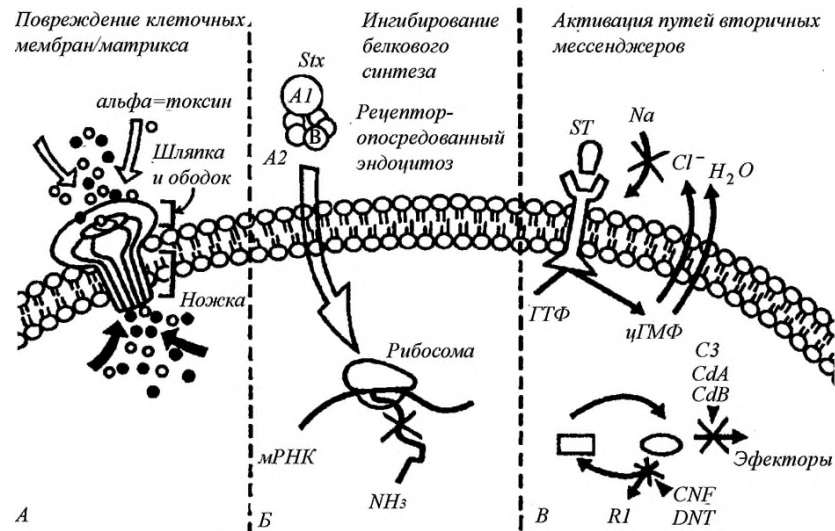


Рисунок 3 – Сопоставление механизма действия бактериальных токсинов. А – Повреждение клеточных мембран альфа-токсином *S. aureus*. После связывания и олигомеризации, ножка похожего на шампиньон гептамера альфа-токсина вставляется в мембрану клетки-мишени и вызывает приток, или наоборот, отток из клетки ионов (обозначены как темные и светлые кружки соответственно). В – Ингибирование белкового синтеза клетки шига-токсином. Голотоксин, состоящий из энзиматически активной субъединицы (А) и пяти связывающих субъединиц (В), входит в клетку через глоботриазилцерамидный рецептор (Gb3). Затем А-субъединица, обладающая N-гликозидной активностью, отсекает аденозиновый остаток с 28S рибосомальной РНК, что останавливает белковый синтез. С – Примеры бактериальных токсинов, активирующих пути вторичных мессенджеров. Связывание температурно-стабильного энтеротоксина (ST) с рецептором гуанилатциклазы приводит к увеличению количества цГМФ, который обращает в обратную сторону ток электролитов. Посредством АДФ-рибозилирования или гликозилирования (соответственно) экзоэнзим C3 *C. botulinum* и токсины А (CdA) и В (CdB) *C. difficile* инактивируют небольшие Rho ГТФ-связывающие белки. Цитотоксический некротизирующий фактор (CNF) *E. coli* и дермонекротический токсин (DNT) бактерий рода *Bordetella*, активируют Rho через дезаминирование. Для всех токсинов характерна «мультидоменная» структура. Это означает, что разные их части состоят из некогда отдельных глобулярных белков, объединенных естественным отбором в ходе конвергентной эволюции. По С. Schmitt с соавт. [21]

К ним относят бактериальные токсины, функционирующие посредством вставки в плазматическую мембрану хозяина и формирующие в ней трансмембранные поры (каналы), приводящие клетку к лизису. Порообразующие токсины распространены как у грамотрицательных, так и у грамположительных бактерий, также они продуцируются археями и эукариотами. Всего их не менее шести семейств с подсемействами (колицины, гемолизины, аэролизины, актинопорины, цитолизины, RTX-токсины¹¹), различающимися по рецепторам узнавания клеток-мишеней, механизмам формирования поры, структурой поры, патологическому действию и другими особенностями. В полимикробных нишах бактерии используют порообразующие белки для конкуренции с другими микробами [22].

Участие в патогенезе болезни человека. Заключается в разрушении эпителиальных барьеров; модулировании или уничтожении клеток иммунной системы; способствовании распространению и росту бактерий; в формировании биопленок; изменении клеточных сигнальных путей, управляющих пролиферацией клеток, воспалительными реакциями, секрецией цитокинов и межклеточными взаимодействиями [23, 24].

Механизмы образования пор порообразующими токсинами. В эукариотических и в прокариотических клетках плазматическая мембрана состоит из двух листов амфипатических фосфолипидов, образующих полупроницаемый физический барьер, отделяющий цитоплазму от внеклеточной среды. Мембрана избирательно проницаема благодаря действию трансмембранных белков, участвующих в различных процессах, от передачи сигнала до транспорта ионов и питательных веществ. Ее целостность необходима для выживания и устойчивости клеток. Разрушение плазматической мембраны считается одним из древних механизмов уничтожения клеток и механизмом проникновения бактерий в многоклеточные организмы [24, 28].

Первый этап образования пор состоит в связывании протомеров токсина с рецептором на поверхности мембраны клетки-мишени. Рецепторами могут быть липиды, гликаны или белки. Связывание с рецептором обычно выполняет две функции: повышения локальной концентрации токсина и его олигомеризация. По механизму порообразования в зависимости от того, состоит

ли структура, принятая их трансмембранной областью, из α -спиралей или амфипатических β -цепей, такие токсины можно разделить на два класса: α -PFT и β -PFT [22].

Большинство α -PFT связываются со специфическими рецепторами. Они одновременно встраиваются в мембрану и олигомеризуются с образованием конечной поры. Механизм образования пор может приводить к образованию незавершенной поры, которая, тем не менее, сохраняет свою функцию. Олигомеризация и мембранная вставка α -PFT обычно сопутствуют, что приводит к более гибкой молекулярной организации α -PFT и делает этот класс токсинов гетерогенным по своей структуре [28].

В альтернативном пути – β -PFT, сначала происходит стадия олигомеризации с последовательным добавлением мономеров на границе мембраны для создания промежуточной структуры, называемой *препорой*. Как только олигомеризация завершена, препоровые субъединицы претерпевают конформационные изменения, чтобы согласованно встроиться в мембрану. В конечной активной поре одна или несколько β -цепей каждого мономера способствуют образованию β -ствола (цилиндра), проходящего через мембрану. Внутри β -цилиндрической структуры устанавливаются водородные связи между боковыми цепями аминокислот различных мономеров, что в конечном итоге придает порам высокую структурную жесткость и стабильность. Стехиометрия и, следовательно, конечный размер просвета пор, образуемых представителями разных семейств токсинов, могут существенно различаться. Поры, формируемые PFT, варьируют от мономерных, вызывающих небольшие повреждения мембран, до очень больших пор, таких как наблюдаемые для холестеролизисимых цитолизин (cholesterol-dependent cytolysins, CDC), состоящих из 30–50 субъединиц [28].

Способность пор различать разные ионы определяется фильтрами селективности. Селективность фильтра диктуется природой аминокислот, выстилающих наиболее узкую часть просвета поры и специфически взаимодействующих с транспортируемыми ионами [29]. Схематическое изображение механизмов образования пор порообразующими токсинами приведено на рисунке 4.

Образование пор приводит к выходу из клетки калия и АТФ. Снижение концен-

¹¹ Токсины RTX (repeats-in-toxin) – суперсемейство, насчитывающее более тысячи цитолизин и цитотоксинов, продуцируемых грамотрицательными бактериями. Получили такое название из-за характерных, богатых глицином и аспаратом, нонапептидных повторов: GGXG(N/D)DX(L/I/V/W/Y/F)X, который образует β -ролл и участвует в связывании ионов кальция, важного для фолдинга некоторых RTX.

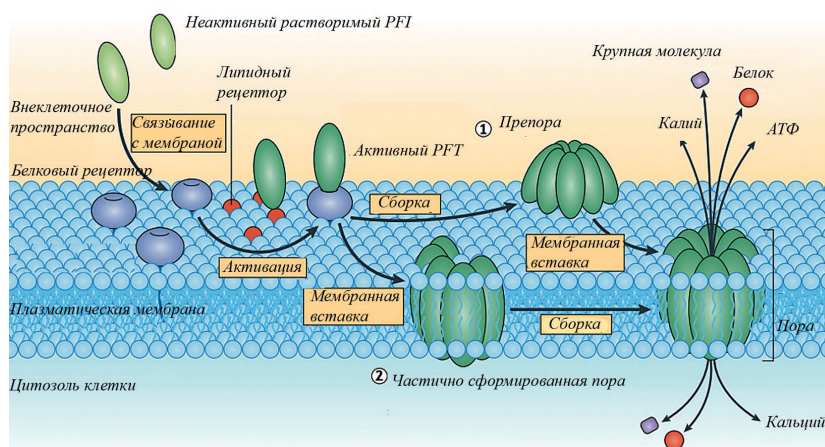


Рисунок 4 – Схематическое изображение механизмов образования пор порообразующими токсинами.

Растворимые PFT рекрутируются на мембрану клетки-мишени хозяина с помощью белковых рецепторов и/или специфических взаимодействий с липидами (например, сфингомиелин для актинопоринов или стерина для холестерин-зависимых цитотоксинов). При связывании с мембраной токсины концентрируются и начинают процесс олигомеризации, который обычно идет по одному из двух путей. По пути, которому следует большинство β -PFT, олигомеризация происходит на поверхности мембраны клетки, образуя промежуточную структуру, известную как препора (механизм 1), которая, в конечном итоге, претерпевает конформационные перестройки, приводящие к ее внедрению в мембрану. По пути, которому следует большинство α -PFT, вставка PFT в мембрану происходит одновременно с механизмом последовательной олигомеризации, который может привести к образованию либо частично сформированной, но активной поры (механизм 2), либо к образованию полных пор. При формировании α -PFT и β -PFT конечным результатом является образование трансмембранной поры с различной архитектурой, стехиометрией, размером и особенностями проводимости, способствующих притоку или оттоку ионов, малых молекул и белков через мембрану клетки и запускающих различные вторичные реакции, связанные с восстановлением мембраны клетки [22]

трации внутриклеточного калия вызывает образование липидных капель (lipid droplet), дефосфорилирование гистонов и остановку синтеза белка. Это последнее событие в сочетании с аутофагией¹² позволяет клеткам при незначительном повреждении мембраны перейти в режим низкого потребления энергии, что может обеспечить им выживание до восстановления мембраны [22].

Многие формируемые поры проницаемы для кальция в направлении через плазматическую мембрану в клетку. Поскольку кальций является мощным вторичным мессенджером, результирующее увеличение концентрации внутриклеточного кальция запускает активацию различных сигнальных каскадов, таких как высвобождение кальция из внутриклеточных запасов и активация каскада Ca^{2+} -зависимых цистеиновых кальпаиновых протеиназ и других протеолитических каскадов, что приводит к нерегулируемой деградации внутриклеточных структур и усилению кальпаинзависимых путей клеточной гибели [22, 23].

Механизм действия β -PFT на мембраны хорошо прослеживается на примере альфа-токсина *S. aureus*, рассматриваемого как прототип олигомеризующегося пороформирующего цитотоксина [21]. Альфа-токсин кодируется одним генетическим локусом, *hla*, и секретируется в виде водорастворимого мономера, синтезируется как прекурсорная молекула из 319 аминокислот, содержащая N-терминальную последовательность из 26 аминокислот. Секретируемый бактерией «зрелый токсин» (протомер), является гидрофильной молекулой с массой 33 кДа, утратившей цистеиновые остатки [30]. Протомер «узнает» клетку-мишень по высокоаффинным рецепторам или неспецифически сорбируется в участках плазматической мембраны, содержащих фосфатидилхолин или холестерин [23].

При связывании своей клетки-мишени α -токсин олигомеризуется до структуры предпор, впоследствии атакуя клеточную мембрану путем экструзии β -цилиндра через липидный бислой с образованием ги-

¹² Аутофагия – процесс, при котором внутренние компоненты клетки доставляются внутрь ее лизосом или вакуолей и подвергаются в них деградации.

дропильного трансмембранного канала. На мембране семь протомерных токсинов собираются в пору, формируя грибоподобный гептамер (232 кДа), включающий три различных домена. Полностью собранный токсин имеет ширину 100 Å и высоту 100 Å, а минимальный внутренний диаметр поры составляет 14 Å [23].

Образовавшаяся неселективная пора позволяет маленьким молекулам и ионам двухстороннее движение, что, в конечном итоге, приводит клетку к вздутию и гибели от осмотического шока. Цитолитическое действие α-токсина проявляется в отношении различных типов клеток (рисунок 5).

В условиях *in vivo* α-токсин *S. aureus* способен лизировать моноциты, лимфоциты, эритроциты, тромбоциты, и эндотелиальные клетки человека [30].

Восстановление целостности плазматической мембраны. Были предложены три основных механизма восстановления мембран после повреждения, вызванного порообразующими токсинами [22]:

- разборка порообразующего комплекса, но это маловероятно для пор, подобных тем, которые образуются аэролизинем, стабильность которых паразитична;

- поглощение пор путем эндоцитоза с целью разрушения пор в лизосомах или их секреции во внеклеточное пространство через экзосомы;

- отщепление мембранных участков, содержащих PFT, посредством образования внеклеточных везикул – наиболее вероятный механизм.

Токсины, ингибирующие синтез белка. Субстратами для них служат факторы элонгации, обеспечивающие непрерывную полимеризацию белка в рибосоме; и рибосомальная РНК, осуществляющая считывание информации с мРНК. Дифтерийный токсин (DT) и экзотоксин А псевдомонад (PE) относятся к АВ-типу, их А-субъединицы являются дифтамид-специфическими АДФ-рибозилтрансферазами, рибозилирующими фактор элонгации-2 (EF2)¹³. Инактивируя EF2 они подавляют синтез белка в клетке. Дифтамид – неcodируемая, посттрансляционно модифицированная аминокислота гистидин, содержащаяся в EF2. Дифтамидом она названа «в честь токсина», вырабатываемого бактерией *Corynebacterium diphtheriae*, нацеленного на эту аминокислоту, т.е. DT. На него так же и таким же образом воздействует экзотоксин А, продуцируемый *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка). Дифтамид – единственная мишень обоих токсинов.

Дифтерия – воздушно-капельная инфекция. DT – хорошо изученный и первый описанный в научной литературе бинарный токсин. Продуцируется токсигенными штаммами *C. diphtheriae*. Возбудитель фиксируется в месте внедрения, там же размножается,

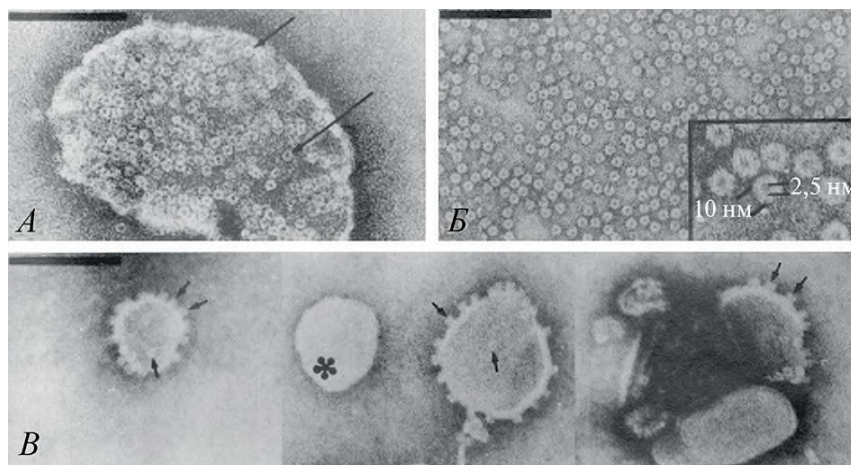


Рисунок 5 – Действие α-токсина *S. aureus* на эритроциты кролика и искусственные липидные мембраны. А – негативно окрашенный фрагмент эритроцита кролика, лизированный α-токсином *S. aureus*. На поверхности мембраны наблюдаются многочисленные кольцообразные структуры размером 10 нм (показаны стрелками). Б – изолированные гексамеры токсина в растворе детергента. В – лектиновые липосомы, включающие реинкорпорированные гексамеры токсина (последние выглядят как штырьки вдоль краев липосомной мембраны – показаны стрелками). Звездочкой показана липосома, избежавшая включения молекул α-токсина. Черные полосы соответствуют 100 мкм [31]

¹³ То есть АДФ-рибозильный остаток переносится на дифтамид.

выделяя DT. В процессе жизнедеятельности коринебактерии продуцируют и другие биологически активные вещества: гиалуронидазу, нейраминидазу, некротизирующий и диффузионный факторы, облегчающие проникновение DT в ткани и кровь.

Патологические изменения в организме заболевшего дифтерией – интоксикация, местный воспалительный процесс, ранние и поздние осложнения – обусловлены повреждающим действием DT, блокирующего синтез белка клеткой. Следствием местного воздействия токсина является коагуляционный поверхностный некроз эпителия, в результате чего усиливается проникновение в глубокие ткани различных токсических субстанций. Происходит паралитическое расширение сосудов с резким повышением проницаемости их стенок и пропотеванием экссудата, богатого фибриногеном. В остром периоде дифтерии в результате воспалительного процесса повышается концентрация фибриногена в крови. Фибриноген под влиянием тромбокиназы, высвобождающейся из некротизированной ткани, свертывается и превращается в фибрин. Так образуется фибринозная пленка – густой серо-белый налет на гортани, носовых ходах и языке, вызывающий затруднение дыхания и глотания. Такая пленка – наиболее характерный признак дифтерии [32]. Из-за локализации инфекционного процесса в гортани, DT проявляет себя болями в горле, опуханием шейных лимфатических узлов, образованием отека [6].

DT синтезируется бактериальной клеткой в форме предшественника, который затем отщепляется от сигнальной последовательности из 25 аминокислот и высвобождается в культуральную среду в виде белковой цепи в 535 аминокислот с молекулярной массой (ММ) 58 кДа. Рецептором входа для DT является про-НВ-EGF (heparin-binding EGF-like growth factor). Токсин состоит из трех доменов: С-домена, обладающего АДФ-рибозилтрансферазной активностью (21 кДа); Т-домена, или транслокационного домена (20 кДа), способного пересекать мембрану эндосомы и проникать в цитозоль клетки; а также R-домена (17 кДа) – связывающего токсин с рецептором на поверхности клеток-мишеней и способствующий прохождению С-домена (через транслокационный домен) в цитозоль клетки. С-домен соответствует субъединице А бинарного токсина, а домены Т и R соответствуют субъединице В. Субъединицы А и В соединены дисульфидной связью. Попав внутрь эндосомы, комплекс сталкивается с кислой средой, и

Т-домен встраивается в мембрану эндосомы, образуя канал и позволяя каталитической А-субъединице выйти в цитозоль, где она катализирует НАД⁺-зависимое АДФ-рибозилирование EF-2, ингибируя синтез белка. В качестве второго субстрата токсину необходим кофермент никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺) [6]. Дифтерийный токсин чрезвычайно опасен. Для уничтожения клетки требуется только одна молекула, достигшая цитозоля [33].

Фиксация токсина в тканях приводит к характерным поражениям нервной и сердечно-сосудистой систем человека. В миокарде рано возникает паренхиматозное перерождение мышечных волокон вплоть до полного миолиза и глыбчатого распада. Характерно жировое перерождение с последующей деструкцией миофибрилл и формированием диффузного склероза. Изменения в периферической нервной системе протекают по типу паренхиматозного неврита с преимущественным поражением миелиновой и шванновской оболочек без вовлеченности аксона [32].

P. aeruginosa (синегнойная палочка) – зоокоммиальный патоген, обнаруживается в абсцессах, гнойных и ожоговых ранах, ассоциирован с энтеритами и циститами; особенно часто поражает лиц с ослабленным иммунным статусом. До 1960-х гг. считалось, что в патогенезе синегнойной инфекции ведущую роль играл эндотоксин. Экзотоксин А, как фактор патогенности *P. aeruginosa*, впервые описан P.V. Liu в 1966 г. Его ММ ~ 66–72 кДа [34, 35].

Экзотоксин А без особых технических проблем можно получить в специальной жидкой питательной среде при интенсивной аэрации, используя штаммы *P. aeruginosa* с низкой протеазной активностью (РА-103 и РА-7), затем очистить методами аффинной хроматографии. При местном введении очищенного токсина животному возникает характерная реакция – безэритематозный отек, некротизирующий в течение 2–3 сут. При внутрибрюшинном введении 0,1 мкг токсина мыши погибают через 40–50 ч после инъекции. На других экспериментальных моделях, дающих возможность изучить физиологические параметры реакции организма на введение экзотоксина А (собаках, обезьянах), патологические изменения выявляются через 2–3 мин. Наступает резкое повышение давления в системе воротной вены печени с последующим падением периферического кровяного давления. Животные погибают на следующий день при явлениях сосудистого коллапса, метаболического ацидоза и

дыхательной недостаточности. В сыворотке крови животных резко повышается уровень аминотрансфераз, щелочной фосфатазы и катехоламинов. Клинические проявления отравления и сравнительно длительный период времени, предшествующий гибели животного, свидетельствуют о том, что в основе патологического процесса лежат глубокие нарушения клеточного метаболизма. Прямым подтверждением этого служат данные о подавлении синтеза белка во всех органах и тканях. Уже через два часа после введения экзотоксина А белковый синтез в печени подавляется на 50 %, а к моменту гибели животного он блокируется во всех органах. У погибших животных при вскрытии обнаруживают выраженный гепатоцеллюлярный некроз, геморрагические поражения в легких и тубулярный некроз почечной ткани [36].

Организация молекулы токсина биурная. Домен А отвечает за каталитическую активность, а домен В представляет собой рецептор-связывающий фрагмент, который взаимодействует с белком 1, родственным рецептору липопротеинов низкой плотности (LRP1 или CD91). LRP1 также является рецептором токсина *C. perfringens* TpeL [37]. Действие токсина *P. aeruginosa* проявляется в общем токсическом эффекте синегнойной инфекции¹⁴ у госпитализированных иммуноослабленных пациентов (отеки, некрозы, нейтропения, артериальная гипотензия с последующим коллапсом, метаболический ацидоз, дыхательная недостаточность и др.) [36, 38, 39].

Шига-токсин (Stx-токсин, веротоксин) относится к семейству АВ₅-токсинов, продуцируется грамотрицательной бактерией *Shigella dysenteriae* первого серотипа и Stx-штаммами *E. coli* (STEC). Шига-токсин обнаружен японским бактериологом доктором Киёси Сига (1871–1957), описавшим дизентерийную палочку в 1897 г. Токсины-аналоги, продуцируемые кишечными палочками, называются Stx1 и Stx2. Stx1 отличается от Stx в субъединице А на одну аминокислоту, тогда как аминокислотная последовательность Stx2 сходна с последовательностью Stx на 56 % [40].

Эти токсины могут убивать клетки Vero, поэтому их еще называют цитотоксинами Vero или веротоксинами. Для проникновения в клетку веротоксины распознают нейтральный гликофинголипид – глобо-

триаозилцерамид (Gb3/CD77), принадлежащий к группе глобозидов. У человека Gb3 присутствует в эпителии и эндотелии почек, микрососудистых эндотелиальных клетках собственной пластинки кишечника, миофибробластах кишечника, гладкомышечных клетках пищеварительного тракта, мочеполовой системы, плаценте, эндотелиальных клетках, ганглиозных клетках дорсальных корешков периферических клеток нервной системы, а также эндотелиальных клеток и нейронов ЦНС [41].

Stx имеет ферментативную субъединицу А (StxA; 32 кДа), действующую как N-гликозидаза, расщепляющая рибосомальную РНК хозяина. Она состоит из доменов А1 и А2, связанных дисульфидной связью, и пять идентичных субъединиц В (StxB; 7,7 кДа), образующих пентамер, связывающийся с рецептором на поверхности клетки-мишени. Субъединицы А и В соединяются нековалентно путем вставки С-концевой области А-субъединицы в центральное отверстие пентамера. На каждую В-субъединицу приходится три сайта связывания, поэтому один Stx может одновременно связывать до 15 Gb3 [6, 40].

Stx проникает в клетки путем эндоцитоза, включающего кластеризацию рецепторов Gb3 на плазматической мембране клеток-мишеней. Экспрессия Gb3 у людей строго ограничена почками, нервной системой, микрососудистым эндотелием и субпопуляцией В-клеток зародышевого центра [40].

Субъединица А подвергается процессингу фурином и фуриноподобными протеазами хозяина, в результате чего образуются полипептидные фрагменты А1 и А2, которые остаются связанными с субъединицей В. Субъединицы А1 и А2 между собой связаны через одну дисульфидную связь. Домен А1 обладает ферментативной активностью N-гликозидазы. Отщепляя один остаток аденина от 28S рРНК, входящей в 60S-субъединицу рибосомы, он ингибирует ее связывание с доставляющими аминокислоты в рибосому молекулами аминоацил-тРНК. В результате в процессе трансляции нарушается удлинение полипептидной цепи, и синтез белка в клетке ингибируется [6].

Заражение шигеллами и продуцирующей токсин кишечной палочкой может произойти при попадании бактерий в организм

¹⁴ *P. aeruginosa* продуцирует еще один экстрацеллюлярный белок с АДФ-рибозилтрансферазной активностью – экзотоксин S, цитотоксины, гемолизины (фосфолипаза С, термостабильный гемолизин), энтеротоксины, нейраминазу, протеолитические ферменты (эластаза, щелочная протеаза), адгезины и др. Более подробно о факторах патогенности синегнойной палочки см. в работах А.Ф. Мороз с соавт. [36] и А.В. Лазаревой с соавт. [38].

через зараженную пищу или воду. Опасность Stx-токсинов усугубляется отсутствием их ингибиторов и эффективного лечения поражений. Первые симптомы попадания токсина Шига в кишечник включают ощущение боли в эпигастральной области и водянистую диарею. Токсин поражает мелкие кровеносные сосуды пищеварительного тракта, почек и легких. Тяжелые, опасные для жизни случаи, характеризуются геморрагическим колитом. Специфической мишенью токсина является гликофинголипид – глоботриаозилцерамид (Gb3) сосудистого эндотелия клубочков почки, т.е. их фильтрующей структуры. Просвет капилляров клубочка сужается за счет набухших и поврежденных эндотелиальных клеток, которые отслаиваются от подлежащей базальной мембраны – гистопатологический признак диарейного гемолитико-уремического синдрома. Это приводит к локальной продукции цитокинов и хемокинов, вторичной активации коагуляции и синтезу фибрина. Поврежденные эндотелиальные клетки также могут вызывать отложение тромбоцитов в микрососудистых тромбах, что приводит к тромботической микроангиопатии и разрушению эритроцитов в окклюзионных капиллярах. Сужение капилляров клубочков снижает приток крови к почкам, снижает скорость фильтрации. Дальнейшее повреждение почек происходит вследствие тубулярного некроза с деструкцией канальцевого эпителия почек, приводящего к острой почечной недостаточности и смерти. Повреждение микрососудистых эндотелиальных клеток может также поражать головной мозг, поджелудочную железу и миокард, приводя к развитию энцефалопатии, сахарного диабета (особенно у взрослых), кардиомиопатии, геморрагического колита. Было показано, что StxB способствует развитию тромботической тромбоцитопенической пурпуры, стимулируя секрецию фактора фон Виллебранда в эндотелиальных клетках пупочной вены человека и способствуя адгезии тромбоцитов [5].

Токсины, генерирующие образование вторичных мессенджеров (посредников). Бактериальные токсины могут влиять на функцию отдельных белков эукариотической клетки, не приводя ее к гибели. Для этого они активируют так называемых вторичных посредников (циклический АМФ, циклический ГМФ, инозитолтрифосфат, диацилглицерин, кальций, оксид азота(II) и др.), способных усиливать и искажать клеточную реакцию на внеклеточные сигналы [21]. Рассмотрим механизм действия таких токсинов на примере холерного и коклюшного токсинов.

Холерный токсин (CT, Ctx) – токсин АВ₅-типа, пять субъединиц которого собраны в кольцеобразную структуру, а С-конец субъединицы А выступает через центральную пору. Ctx – классический пример бактериального токсина, влияющего на активность аденилатциклазы. Продуцируется возбудителем холеры, болезни, эндемичной в более чем в 50 странах. Существование Ctx впервые постулировано Р. Кохом (нем. Heinrich Hermann Robert Koch; 1843–1910) в 1886 г. Он полагал, что симптомы холеры вызваны «ядом», выделенным холерной бактерией. Открытия Ctx пришлось ждать более полувека. С. Де (англ. Sambhu Nath De; 1915–1985) в 1959 г. сообщил, что бесклеточный фильтрат культуры *V. cholerae* способен вызывать массовое накопление жидкости в виде «рисовой воды» в перевязанных петлях подвздошной кишки взрослых кроликов [42, 43].

Структура Ctx похожа на структуру Stx. Токсин состоит из крупной субъединицы CtxA (240 аминокислот; ММ 28 кДа) – расположена в центре гомопентамерной субъединицы CtxB с ММ 55 кДа (103 аминокислоты; ММ 11 кДа каждая). CtxA образован двумя доменами: токсичным А1 (CtxA1) и нетоксичным А2 (CtxA2). Центральная пора CtxB нековалентно связывается с α -спиралью CtxA2 и собирается в гетерогексамерный голотоксин. Разница между CtxB и StxB заключается в том, что CtxB имеет дополнительную α -спираль и более длинные вторичные структурные элементы. Пять идентичных мономеров субъединицы CtxB взаимодействуют с пятью рецепторами GM1 (моносиалоганглиозид GM1) в клетках млекопитающих [6, 44].

Достигнув ER, CtxA диссоциирует от субъединицы В и вызывает АДФ-рибозилирование белка G (другое название – гуанин-нуклеотид-связывающий белок), расположенного на внутренней поверхности клеточной мембраны и связанного с рецептором, реагирующим на токсин. Его конформация меняется активируя расположенные ниже эффекторы, такие как аденилатциклаза, фосфодиэстераза, фосфолипаза С и ионные каналы. В клетках кишечного эпителия начинается интенсивный синтез цАМФ, что стимулирует выход воды и ионов. Возникает электролитный дисбаланс. Его следствием становится тяжелая диарея и рвота – основные клинические признаки холеры. Диарея, если ее не лечить, приводит к тяжелому обезвоживанию, электролитным нарушениям, метаболическому ацидозу, почечной недостаточности, почти неизбежно приводящими человека к смерти [43].

Установлены энтеропатогены, экспрессирующие токсины аналогичного действия, включая *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Citrobacter freundii*, а также респираторные патогены, такие как *Bordetella pertussis* [43].

Коклюшный токсин (pertussis toxin, PT, Ptx) – секретируется возбудителем коклюша, грамотрицательной палочковидной неподвижной бактерией *B. pertussis*. Его вклад в летальный исход болезни описан сравнительно недавно, в 1984 г. [45]. Относится к АВ₅-типу и представляет собой аденозиндифосфат (АДФ)-рибозилирующий белковый токсин. Он ингибирует в клетках млекопитающих передачу сигналов через подмножество рецепторов GPCR¹⁵, связанных с G-белками – трансмембранными рецепторами, выполняющими функцию активатора внутриклеточных путей передачи сигналов. Прохождение таких сигналов в итоге приводит к множественному клеточному ответу: увеличению цАМФ; изменению функции калиевых и кальциевых каналов; лейкоцитозу; нарушению функции макрофагов; изменению трафика лейкоцитов; гиперинсулинемии; повышению чувствительности к гистамину, брадикинину и серотонину [46].

РТ состоит из ферментативной субъединицы – А-протомера PTS1 (субъединица 1 коклюшного токсина), и четырех различных В-субъединиц: PTS2, PTS3, PTS4 и PTS5 в соотношении 1:1:2:1. В-пентамер, состоящий из субъединиц РТ с 2-й по 5-ю и PTS1, собирается посредством нековалентных связей в периплазме¹⁶ бактерий с образованием голотоксина РТ, формирующего пирамидальную структуру поры. Голотоксин секретируется системой секреции IV типа. В-пентамер связывается с поверхностью клетки через сиалогликопротеины, находящиеся на поверхности большинства эукариотических клеток. Конкретный рецептор пока не идентифицирован. Схематическое изображение клеточного поглощения и механизма действия РТ показана на рисунке 6.

Для успешной колонизации мерцательного эпителия дыхательных путей человека *B. pertussis* необходимы факторы адгезии,

такие как нитевидный гемагглютинин (filamentous hemagglutinin, FHA) и фимбрии. Другими токсинами, помимо РТ, изменяющими физиологические функции верхних дыхательных путей, являются трахеальный цитотоксин, поражающий и убивающий мерцательные клетки эпителия; и аденилатциклаза, ингибирующая фагоцитоз за счет избыточной генерации цАМФ в фагоцитах, тем самым защищая бактерии от элиминации иммунной системой¹⁷. Точная роль РТ и других факторов вирулентности, а также их взаимодействие в патогенезе *B. pertussis* подробно не выяснены. Например, до конца не понятно, как возникает тяжелая патология кашля при коклюше. Введение очищенного РТ экспериментальным животным не вызывает кашлевой патологии. Но и при заражении экспериментальных животных штаммами *B. pertussis*, не продуцирующими РТ, кашлевого эффекта не происходит. Предполагается, что патология кашля является продуктом сложной реакции организма хозяина на инфекцию продуцирующих РТ *B. pertussis* в сочетании с активностью других выделяемых токсинов [48, 49].

Коклюш заразен, *B. pertussis* передается воздушно-капельным заражением верхних дыхательных путей. Наиболее тяжело болезнь проявляется у младенцев в возрасте <3 месяцев. Характерный симптом – сильный, продолжительный приступообразный кашель. В тяжелых случаях – пневмония, энцефалопатия, судороги или апноэ, кровоизлияния в мозг, смерть. Лейкоцитоз является характерным признаком тяжелого коклюша и коррелирует с плохим прогнозом. Также плохой прогноз у младенцев, у которых на ранней стадии инфекции наблюдается коклюшная пневмония. Описано образование лейкоцитарных тромбов в мелких легочных кровеносных сосудах и предполагается, что окклюзия таких сосудов, вызванная лейкоцитозом, приводит к повышению давления в легочной артерии и развитию легочной гипертензии. Судороги обычно возникают после эпизодов цианоза и, как полагают, являются результатом аноксии. Однако боль-

¹⁵ Рецепторы, сопряженные с G-белком (англ. G-protein-coupled receptors, GPCRs), также известные как миспиральные рецепторы или серпантинные рецепторы, составляют большое семейство трансмембранных рецепторов. GPCR выполняют функцию активаторов внутриклеточных путей передачи сигнала, приводящими в итоге к клеточному ответу.

¹⁶ Периплазматическое пространство представляет собой пространство, заключенное между плазматической и внешней мембранами бактерий. Содержимое периплазматического пространства называется периплазмой или периплазматическим пространством.

¹⁷ Видимо этот механизм был отработан в ходе эволюции жизни еще до появления многоклеточных организмов предшественниками фагоцитов – одноклеточными простейшими.

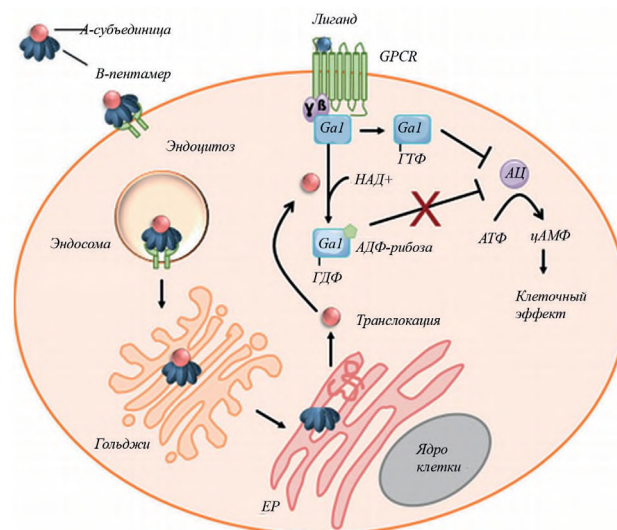


Рисунок 6 – Схематическое изображение поглощения клеткой коклюшного токсина и механизма его внутриклеточного действия. Токсин связывается через свою В-субъединицу с поверхностью клетки и после эндоцитоза следует ретроградным путем через аппарат Гольджи к эндоплазматической сети (ЭР). В физиологических условиях PTS1 термически нестабилен, что приводит к его разворачиванию. Так как гомотоксин РТ движется по так называемому пути «деградация белков, связанных с эндоплазматическим ретикуломом» (ERAD), нацеленным на неправильно свернутые белки, то попавшая в нее А-субъединица PTS1 диссоциирует от В-олигомера и транслоцируется в цитозоль. Здесь PTS1 АДФ-рибозилирует ингибирующие α-субъединицы (Gai) GPCR, тем самым инактивируя их. Таким образом, если соответствующий GPCR активирован, Gai больше не способен ингибировать аденилатциклазу (АЦ), что приводит к усилению и нарушению передачи сигналов цАМФ [47]

шинство форм патологии головного мозга связаны с нарушением целостности гематоэнцефалического барьера. Исследования *in vitro* показали, что РТ проникает в микрососудистые клетки головного мозга человека и усиливает трансмиграцию макрофагов и моноцитов через эндотелиальный слой микрососудов головного мозга человека [50].

Таксономически *B. pertussis* тесно связан с *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica*. *B. parapertussis* вызывает аналогичную, но более легкую версию болезни у людей и овец, а *B. bronchiseptica* заражает многих млекопитающих, включая собак и свиней, но очень редко заражает человека. Но только *B. pertussis* синтезирует РТ. *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica* имеют гомологичные области молчащих структурных генов, кодирующие функциональный РТ, и они могут быть экспрессированы при вставке промоторной области от РТ *B. pertussis*. Движущие силы естественного отбора, способствующие потере экспрессии РТ *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica*, неизвестны [46].

В мире бактерий широко распространены гены, кодирующие коклюшный токсин [12, 17]. *Salmonella enterica*, кишечный патоген, секретирует токсин, аналогичный РТ, называемый ArtAB. Впервые он обнаружен у бак-

терий серовара *S. enterica typhimurium* DT104. Представляет собой АДФ-рибозилирующий токсин, кодируемый профагами, такими как PhInv-1b и Gifsy-1. ArtAB классифицируется как член семейства коклюшных токсинов из-за гомологии между А-субъединицами Art и РТ [51].

Цитолетальные токсины, вызывающие растяжение клеток (cytolethal distending toxins, CDTs) – продуцируются грамотрицательными патогенными бактериями, такими как *E. coli*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Haemophilus ducreyi*, *S. dysenteriae*, *Salmonella enterica* и отдельными представителями видов *Campylobacter* sp., *Helicobacter* sp. Впервые описаны в 1988 г. W.M. Johnson и Н. Lior, обнаружившими, что в культуральных фильтратах, полученных из клинических изолятов *Campylobacter* spp., *E. coli* и *Shigella dysenteriae*, содержатся белковые вещества, вызывающие прогрессирующее вздутие клеток CHO, Hep-2, Vero и HeLa в течение 96 ч и в конечном итоге приводящие к потере их жизнеспособности между 96 и 120 ч от момента экспонирования [52].

CDT являются уникальными и мощными факторами вирулентности бактерий, способными ослаблять защиту инфицированного ими хозяина следующими путями: разру-

шением эпителиальных барьеров; подавлением приобретенного иммунитета; стимулированием провоспалительных реакций. Они играют ключевую роль персистенции бактерий по организму инфицированного человека. CDT – первые, ставшие известными, бактериальные *генотоксины*, действующие в ядре клетки-мишени и вызывающие повреждение ДНК и злокачественное перерождение клетки [53, 54].

CDT состоят из трех полипептидов, обозначенных CdtA, CdtB и CdtC, ММ 25–35, 28–30, 20–21 кДа соответственно [55]. По типу самосборки CDT представляют собой токсины А-В₂ типа, где субъединицы CdtA и CdtC необходимы для опосредования связывания на поверхности клеток-мишеней ферментативной субъединицы CdtB. Тем самым они обеспечивают ее интернализацию в клетку. На основании структурной гомологии с ДНКазой I млекопитающих CDT считают функционально гомологичной дезоксирибонуклеазе I [56]. У большинства бактерий, синтезирующих CDT, кластер генов, кодирующий субъединицы CDT, состоящий из соседних или слегка перекрывающихся генов *cdtA*, *cdtB* и *cdtC*, расположен на хромосоме. Исключения встречаются у некоторых штаммов *E. coli*, у которых оперон находится на большой конъюгативной плазмиде, названной pVir [52].

Природа поверхностного рецептора (рецептора входа) CDT все еще плохо охарактеризована, однако известно, что для связывания с клеткой таким токсинам необходимы интактные липидные рафты (богатые сфинголипидами и холестерином области на мембране клетки). Субъединицы CdtA и CdtC представляют собой молекулы лектинового типа, имеющие структурную гомологию с повторами В-цепи растительного токсина рицина. Их суммарная роль типичная для В-субъединиц бинарных токсинов, но индивидуальная заметно менее ясна, что можно объяснить трудностью очистки каждого белка по отдельности из-за их склонности соединяться с внешней мембраной бактерий. В целом структура голотоксина CDT имеет сходство со структурой растительных токсинов – рицина и абрина [57].

После связывания голотоксина CDT с клеткой CdtA остается на мембране, а CdtB и CdtC проникают в ранние эндосомы, где комплекс распадается. В поздние эндосомы попадает только CdtB. Через комплекс Гольджи и эндоплазматический ретикулум он транспор-

тируется в ядро. Попадая в ядерный компартмент, CdtB оказывает токсическое действие на клетку через повреждение ДНК. Активация ответов на поврежденную ДНК увеличивает геномную нестабильность и приводит к необратимой остановке деления клеток-мишеней в фазах G1 и/или G2 клеточного цикла. Тип остановки клеточного цикла, индуцируемой CDT, аналогичен индуцируемому ионизирующим излучением. Когда повреждение ДНК становится слишком разрушительным, клетки, не способные восстановить повреждения ДНК, подвергаются апоптозу [58]. Так как CDT модулируют цикл эукариотических клеток путем приостановки перехода фазы G2/M, их определили, как *цикломодулины*¹⁸ [59].

Протеолитические токсины. Столбняк и ботулизм – болезни человека и животных, вызываемые нейротоксинами спорогенных бактерий рода *Clostridium*. Клостридии присутствуют в анаэробных средах, окружающих человека, и в кишечнике животных преимущественно в виде спор. Продуцируемые ими ботулинический (BoNT) и столбнячный токсины (TeNT) – цинк-металлоэндопротеазы, специфически расщепляющие белки, осуществляющие слияние внутриклеточных транспортных везикул с клеточной мембраной или органеллой-мишенью (sensitive factor attachment protein receptor, SNARE), необходимых для высвобождения через синаптическое пространство между нейронами нейротрансмиттеров, обеспечивающих связь между нейронами. В опытах на животных они обнаруживают наименьшую из известных LD₅₀ [60].

Высокая токсичность клостридиальных нейротоксинов обусловлена уникальным сочетанием двух факторов: очень быстрого связывания с нейронами, функционирование которых важно для выживания человека или животного, а также их ферментативной активности, высокоспецифичной для трех белков SNARE. Расщепления любого из них достаточно, чтобы блокировать экзоцитоз синаптических пузырьков и высвобождение нейромедиатора с последующим развитием нейропаралича [20]. Это очевидно для позвоночных, но также верно и для беспозвоночных, особенно для летающих насекомых, о чем свидетельствует совсем недавнее открытие BoNT-подобного нейротоксина, специфичного для комаров *Anopheles* [61].

Известно несколько изоформ столбнячного нейротоксина и множество изоформ

¹⁸ Цикломодулины – бактериальные токсины, которые препятствуют клеточному циклу эукариотических клеток.

ботулинического нейротоксина, сгруппированных в один серотип TeNT и в 8 серотипов BoNT (обозначены буквами A, B, C, D, E, F, G, DC и X; изоотипы обозначаются арабскими цифрами, следующими за заглавной буквой серотипа). Серотипы включают множество изоотипов, различающихся аминокислотной последовательностью, что влияет на их нейротоксичность и нейтрализацию поликлональными и моноклональными антителами серотипирующих антисывороток [62]. Различные типы BoNT блокируют различные белки SNARE в холинергических нервных окончаниях, вызывая блокаду холинергических нервно-мышечных и вегетативных синапсов. Исследования на животных указывают на наибольшую продолжительность действия BoNT типа A (BoNTA), за которым следуют типы B, F и E [63].

Изоформы TeNT и BoNT очень похожи по аминокислотным последовательностям, трехмерной структуре и биохимическому механизму действия внутри нейронов. Тем не менее, TeNT и BoNT вызывают две разные формы нейропаралича: *спастический* и *вялый* соответственно, поскольку они действуют на разные типы нейронов: TeNT парализует центральные тормозные интернейроны спинного мозга, тогда как BoNT парализуют периферические холинергические нейроны и могут влиять на центральные холинергические нейроны [60].

Также они различаются путями проникновения. Например, ботулинические токсины проникают в организм человека энтерально, столбнячный же токсин с поверхностей ран, колонизированных *C. tetani* [10].

BoNT, как и TeNT, не убивают интоксцированные нейроны, и, если пациент преодолевает дыхательный дефицит с помощью искусственной вентиляции легких, то в конечном итоге выздоравливает более или менее полностью. Фактически, оба этих нейротоксина внутри нейронов имеют ограниченное время жизни, которое зависит от нескольких факторов, включая чувствительность нейронов, вид животных и восприимчивость нейротоксинов к системам внутриклеточной деградации белков. В целом продолжительность паралича у людей варьируется от 2 нед. после поражения BoNT/E1, и до 3–4 мес. после поражения BoNT/A1 [64, 65].

Но эти наблюдения отражают естественное возникновение и течение отравления ботулиническим и столбнячным токсинами, знакомое специалистам. Их диапазон действия гораздо шире. Например,

при введении столбнячного токсина в область четверохолмий головного мозга или в блуждающий нерв на шее, животные погибают в короткое время при явлениях острого отека легких без типичных признаков столбняка. При инъекции в область теменной зоны коры головного мозга у животных, помимо своеобразных двигательных расстройств, развиваются кровоизлияния в области конечностей [66].

BoNT и TeNT, являясь самыми смертельными, имеют и наиболее сложные молекулы среди известных токсинов. Синтезируются в виде неактивных полипептидов массой 150 кДа и высвобождаются из лизировавшихся клеток. Включают легкую (light chain; L, 50 кДа) и тяжелую цепи (heavy chain; H, 100 кДа), связанные одной дисульфидной связью [67].

L-цепь представляет собой Zn^{2+} -зависимую эндопептидазу, специфичную для одного или нескольких из трех белков SNARE (VAMP, SNAP-25, синтаксин). Эти белки образуют гетеротримерный комплекс SNARE, являющийся ядром наномашины, которая опосредует нейроэкзоцитоз и высвобождение нейротрансмиттеров. *Тяжелые цепи* обоих токсинов содержат два домена – регион, необходимый для транслокации токсина (*N-терминальная последовательность*, *HN-домен*) и регион, необходимый для связывания с клеткой (*C-терминальная последовательность*, *CN-домен*) [68].

Ботулинические токсины связываются с рецепторами на поверхности пресинаптической мембраны моторных нейронов периферической нервной системы и вызывают протеолиз белков в нейронах, приводящий к ингибированию высвобождения ацетилхолина и к предотвращению мышечных сокращений – возникает вялый паралич [69]. Столбнячный токсин сначала связывается с рецепторами на пресинаптической мембране моторных нейронов, но затем, путем ретроградного везикулярного транспорта, он перемещается в нейроны спинного мозга. Спастический паралич возникает из-за того, что рассечение везикуло-ассоциированных белков и синаптобrevина в нейронах, нарушает высвобождение глицина и гамма-амино-бутириковой кислоты, прекращающих мышечное сокращение [67].

Анализ доступной литературы показал, что токсичность TeNT и BoNT зависят от вида животных, на которых ее определяют; от серотипа и изоформы токсина. Значения LD_{50} для BoNT/A1 у мышей при внутрибрюшинном введении составляют от 0,02 до 5 нг/кг.

Фактически, лишь немногие из десятков изоформ BoNT были изучены с точки зрения токсичности у различных животных, в том числе потому, что многие из них были идентифицированы только с помощью компьютерной геномики [20, 70].

Ботулотоксины уже несколько десятилетий считаются эффективными терапевтическими средствами для лечения состояний, обусловленных гиперактивностью холинергических нервных окончаний [71, 72]. Поэтому они хорошо изучены и будут изучаться дальше. Высокая токсичность ботулотоксинов для человека стала основанием для их включения в категорию А американского списка потенциальных агентов биотерроризма¹⁹. Столбнячный токсин пока не рассматривался для такого использования из-за повсеместной профилактики столбняка с помощью эффективных противостолбнячной вакцины и антисывороток [60].

Активаторы иммунного ответа (суперантигены). Термин «суперантиген» (superantigen, SAg) был введен в 1999 г. J. White с соавт. [73] для описания группы бактериальных белков, нацеленных в качестве непроцессированных молекул на переменную часть β -цепи рецептора Т-клеток (T cell receptor, TCR) и молекулы главного комплекса гистосовместимости типа II (major histocompatibility complex type II molecules, MHC-II), экспрессируемые на антигенпрезентирующих клетках. В результате их одновременного взаимодействия происходит массовая активация иммунной системы наряду с интенсивной пролиферацией Т-клеток, либо CD4⁺, либо CD8⁺. Следствие Т-клеточной экспансии – массивное высвобождение интерлейкинов (1, 2 и 6 типов), гамма-интерферона, факторов некроза опухолей (альфа и бета) [21, 74].

Хотя термин «суперантиген» введен в 1989 г., эти токсины были описаны в начале 1980-х гг., как причина высоклетального синдрома токсического шока (toxic shock syndrome, TSS) у женщин в возрасте 17–30 лет, длительно использовавших суперадсорбирующие гигиенические тампоны во время месячных. Позже синдром был объяснен дисрегуляцией иммунной системы, вызванной суперантигенами, продуцируемыми золотистым стафилококком (*S. aureus*) и пиогенным

β -гемолитическим стрептококком группы А (*Streptococcus pyogenes*) [75].

Суперантигены могут подавлять иммунитет и его стимулировать одновременно. Парадокс иммунного ответа – интенсивная иммунная стимуляция, вызванная SAg, как и его подавление, могут способствовать распространению и дальнейшей колонизации патогеном инфицированного хозяина [4].

Суперантигены продуцируются грамположительными бактериями, такими как *S. aureus*, *S. pyogenes*, β -гемолитическими стрептококками, коагулазонегативными стафилококками; и грамтрицательными бактериями – *Yersinia pseudotuberculosis*, *Pseudomonas fluorescens*, микоплазмами (*Mycoplasma arthritidis*). Кроме того, описаны суперантигены, кодируемые экзогенными ретровирусами мыши и человека [4] и, даже, эндогенными ретровирусами человека семейства HERV-K18 [76].

Среди вызываемых ими патологических состояний следующие: синдром токсического шока; инфекционный эндокардит; пневмония; стафилококковое пищевое отравление; различные аутоиммунные патологии (сахарный диабет, болезнь Кавасаки, ревматоидный артрит); атопический дерматит; генерализованная полиорганная недостаточность, вызванная провоспалительным цитокиновым штормом [4].

Самое большое семейство секретируемых токсинов данного типа называют *пирогенными токсинами-суперантигенами* (PTSAg)²⁰. Это стабильные и устойчивые к протеазам суперантигены, способные выдерживать температуру 60 °C и выше, а также экстремальные значения pH. Их ММ в пределах от 22 до 30 кДа. К ним относятся стафилококковые энтеротоксины серотипов А–Е, G и H; пирогенные экзотоксины стрептококков группы А серотипов А–С и F; стафилококковый TSST-1 [21]. С 1950-х гг. стафилококковый экзотоксин В рассматривается зарубежными военными в качестве нелетального агента БО, в начале 1960-х гг. он стоял на вооружении американской армии²¹.

Гибридные и модифицированные токсины. К ним относятся токсины, состоящие из субъединиц разных токсинов или включающие модифицированные субъединицы²². На сегодняшний день такие токсины конструи-

¹⁹ *Medical aspects of chemical and biological warfare*. Sidell FR, Tafuqi ET, Franz DR, Eds. Washington; 1997.

²⁰ Более подробно о них см. работу А.Ф. Шамсутдинова и Ю.А. Тюрина [79].

²¹ *Medical aspects of chemical and biological warfare*. Sidell FR, Tafuqi ET, Franz DR, Eds. Washington; 1997.

²² Их общее название – «рекомбинантные токсины».

ируют из различных биологических источников и используют для создания препаратов с противоопухолевой активностью; лечения нейродегенеративных заболеваний; разработки вакцин и других целей [77]. В данной работе мы рассматриваем подходы к получению токсинов с *повышенным поражающим действием*. Эксперименты по конструированию таких токсинов стали возможными еще в 1990-е гг. Сначала они распространялись на инсектицидные токсины, в начале нулевых годов появились публикации по токсинам бактерий, вызывающих инфекционные процессы у людей. При описании экспериментов по созданию гибридных и модифицированных бактериальных токсинов, исследователи единодушно проявляли скромность в отношении публикации данных по их поражающему действию, когда оно количественно оценивается на лабораторных животных. В тоже время этими данными они обстоятельно делились в тех случаях, когда такие токсины создавались для более эффективного истребления насекомых, поэтому мы остановимся и на них.

Повышение поражающего действия токсинов. Методические подходы, использованные для вмешательства в структуру молекул токсинов, включают [78]:

- делеции отдельных регионов токсина;
- сайт-направленный мутагенез отдельных доменов токсина;
- конструирование гибридных токсинов из разных доменов токсинов и лигандов;
- внедрение в молекулу токсина сайтов для расщепления протеазами.

В их рамках разработчики новых токсинов решают три технические задачи:

- увеличивают их токсичность в отношении конкретных видов животных;
- расширяют спектр поражающего действия токсинов;
- повышают избирательность действия токсинов на отдельные органы и ткани;

Повышение токсичности ботулинического токсина серотипа В. Как это не покажется странным, у исследователей, занимающихся разработкой медицинских препаратов, существует неудовлетворенность токсичностью самых токсичных бактериальных токсинов – ботулинических. В связи с низким сродством к человеческому синаптотатагмину II приме-

нение ботулинического токсина серотипа В (BoNT/B) для лечения ряда патологий, требует более высоких доз, что, в свою очередь, может усиливать побочные эффекты²³. Поскольку проведенные клинические исследования BoNT/B позволяют предположить, что он может иметь определенные преимущества перед BoNT/A, в настоящее время проводятся работы по его модификации в сторону увеличения нейротоксичности [72].

Способ, точечного мутагенеза, который использовался М. Pirazzini с соавт. [60] для повышения нейротоксичности BoNT/B, сходен с тем, который ранее пользовались S.J. Wu с соавт. [80] и X.S. Liu с соавт. [81] для повышения токсичности в отношении насекомых Cry2-токсина *B. thuringiensis*. В основе повышения токсичности BoNT/B – усиление связывания ферментативного домена токсина с мембраной эндосомы пораженной клетки.

Ботулинические нейротоксины транслоцируют в цитоплазму нейрона ферментативный домен через мембраны эндосом. Молекулярные триггеры этого процесса неизвестны. Было установлено, что среди консервативных отрицательно заряженных остатков легкой (ферментативной) цепи BoNT/B, основные препятствия для транслокации через отрицательно заряженную мембрану эндосомы, создают отрицательные заряды аминокислот Glu-48, Glu-653 и Asp-877. Их нейтрализация облегчает контакт легкой цепи BoNT/B с кальциевым сенсором эндосомы – синаптотатагмином II. Эндосома распадается и BoNT/B проникает в цитозоль нейрона, блокируя выброс нейромедиатора в синаптическую щель. В физиологических условиях клетки это достигается закислением внутренней среды эндосомы. Исследователями идентифицирована серия из трех точечных мутаций в легкой цепи BoNT/B, улучшающих связывание с синаптотатагмином II человека за счет удаления с поверхности молекулы отрицательного заряда. Полученный тройной мутант продемонстрировал повышенную нейротоксичность. Новый вариант ботулинического токсина, названный BoNT/B-TM, в экспериментальных моделях (*in vitro*) показал более быструю транслокацию легкой цепи BoNT/B в нейроны-зерна мозжечка. Время наступления паралича было сокращено по сравнению с исходным вари-

²³ Клинические преимущества BoNT/B перед BoNT/A установлены при лечении таких расстройств, как сплюнотечение, гипергидроз и некоторые спазматические нарушения, связанные с гладкими мышцами. Кроме того, BoNT/B, в отличие от BoNT/A, не распространяется за пределы участка введения, и он необходим в качестве альтернативы для лечения пациентов, у которых появились нейтрализующие антитела к BoNT/A. Клинические наблюдения показывают, что для достижения у пациента того же эффекта, BoNT/B необходимо использовать в дозах примерно в 60-100 раз более высоких, чем BoNT/A [82, 83].

антом токсина – с 99 до 88 мин при концентрации токсина 0,1 нМ. Это соответствует увеличению нейротоксичности примерно в 1,6 раза [60].

Аналогичный подход в повышении токсичности BoNT/B, но с большим успехом, использовали L. Тао с соавт. [84]. Полученный ими мутантный BoNT/B, демонстрирует в условиях *in vitro* примерно в 11 раз более высокую эффективность в блокировании нейротрансмиссии в нейронах, экспрессирующих человеческий синаптотаксин II, чем BoNT/B дикого типа. Обе исследовательские группы не сочли возможным оценить либо опубликовать самое интересное – LD₅₀ полученных рекомбинантных нейротоксинов в опытах на экспериментальных животных.

Таргетные токсины. Их идея состоит в том, что клеточно-связывающий домен токсина (В-субъединица) заменяется лигандом или антителом (одноцепочечной Fv-частью антитела), определяющими каталитическому домену токсина (А-субъединица) новую клеточную мишень. Современные исследования ведутся в направлении поверхностных рецепторов раковых клеток, но ими потенциал технологии не исчерпывается [37]. Разрабатываются различные типы таргетных токсинов, причем нередко с изощренным изобретательским замыслом и многовариантным исполнением [85]:

- лиганд-токсинные конструкции (ligand toxin constructs) – вместо В-субъединицы токсина используются лиганды, имеющие рецепторы на клетках-мишенях, например, цитокины, S1-субъединицы белков слияния вирусов (например, S1-субъединица спайкового белка SARS-CoV-2), биологически активные вещества (инсулины, интерфероны и др.);

- подменные конструкции – их суть состоит в подмене ферментативной субъединицы, способной проникать в цитоплазму клетки по специфическому для нее пути, но не вызывающей гибели клетки, на смертельную субъединицу другого токсина.

- иммунотоксины (immunotoxins) – химерные токсины, включающие два домена, один из которых обладает свойствами антитела, а другой свойствами ферментативной субъединицы токсина. Первый домен обеспечивает связывание химерного белка со специфической молекулой или клеткой, второй инактивирует молекулу-мишень или убивает клетку.

Направление создания таргетных гибридных токсинов опасно обнаружением рецепторов, характерных для определенных рас и этносов и, соответственно, подбора лигандов, взаимодействующих с этими рецепторами и доставляющих в клетку ферментативные субъединицы токсинов. Их дальнейшая эволюция уже идет в направлении суицидной генной терапии, когда в клетку доставляются не ферментативные субъединицы токсинов, а гены, кодирующие их синтез²⁴.

Лиганд-токсинные конструкции. Рассмотрим, как выглядит их получение на примере денилейкин дифтитокса – первого препарата для лечения кожной Т-клеточной лимфомы, одобренного Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA)²⁵. Препарат представляет собой слитый белок цитокина с токсином, позволяющий направлять ферментативную субъединицу дифтерийного токсина через цитокиновый модуль на иммунные клетки, экспрессирующие рецептор интерлейкина IL-2 [86] (рисунки 7).

Благодаря высокой биологической активности компонентов, подход, использованный для получения денилейкин дифтитокса, оказался перспективным для разработки других химерных токсинов, способных оказывать токсическое воздействие на клетку. IL-2 активирует свой рецептор при пикомолярных концентрациях. Но он только один из 130 цитокинов, управляющих иммунной системой человека, поэтому возможности такого подхода по специфическому нацеливанию токсинов далеко не исчерпаны [88]. LD₅₀ дифтерийного токсина для человека 100 нг/кг (таблица 1). Подобные исследования ведутся уже не менее 30 лет. Подробный разбор таких препаратов см. в работах А. Antignani с соавт. [85], А. Contet с соавт. [88] и R.J. Kreitman с соавт. [89].

Подменные конструкции. На рисунке 8 показана упрощенная схема конструирования токсина по данной технологии с измененным механизмом поражающего действия.

В интоксигированной клетке субъединица Ста1 холерного токсина достигает цитоплазмы для взаимодействия со своими субстратами, однако ее «недостаток» в том, что она не убивает клетку [90]. Группа С.Р. Guimaraes с соавт. [91] использовала метод мечения сортазой, позволяющий прикре-

²⁴ Для понимания технологий суицидной генной терапии можно ознакомиться с работой М. Ardini с соавт. [87].

²⁵ DRUGS A-Z LIST. URL: https://www.rxlist.com/drugs/alpha_a.htm (дата обращения: 23.12.2023).
Инструкция по применению. URL: <https://medum.ru/denilejkin-diftitoks> (дата обращения: 23.12.2023).

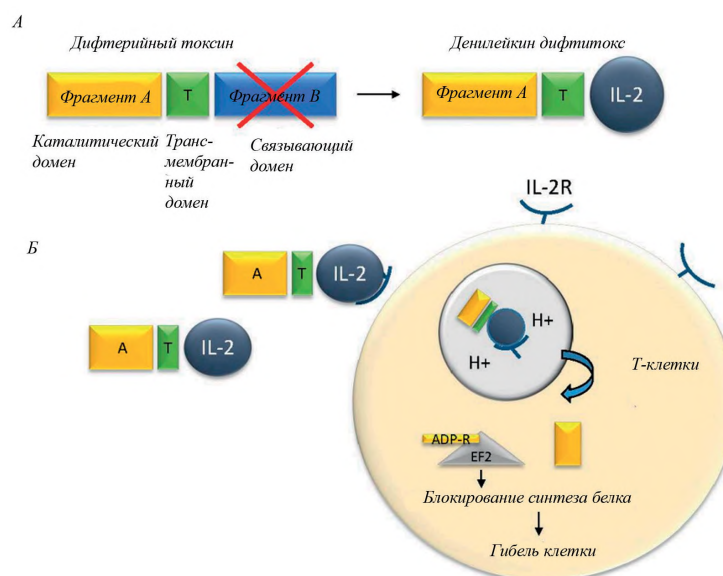


Рисунок 7 – Строение и действие денилейкин дифтитокса. А – дифтерийный токсин состоит из трех доменов: каталитического домена (А), трансмембранного домена и рецепторсвязывающего домена. В денилейкин дифтитоксе рецептор-связывающий домен заменен на человеческий интерлейкин 2 (IL-2) для специфического взаимодействия с рецептором IL-2. Б – денилейкин дифтитокс распознает рецептор IL-2 на трансформированных Т-клетках и интернализуется в эндосомах. После закисления эндосомы каталитическая часть высвобождается в цитозоль и АДФ-рибозилирует фактор элонгации 2 (EF-2), тем самым ингибируя синтез белка и вызывая гибель клеток [37]

пить к СТА1 каталитическую субъединицу дифтерийного токсина в качестве токсичного инструмента (у авторов «warhead» – боеголовка), превращая таким образом холерный токсин, только повышавший уровни цАМФ, в цитолетальный токсин, останавливающий белковый синтез в клетке.

Сортаза А – бактериальный фермент из *S. aureus*, распознает и расщепляет специфический короткий пептидный мотив LPXTG (Leu-Pro-any-Thr-Gly) (где Х представляет собой любую аминокислоту), присоединенный к интересующему белку. Расщепление происходит между остатками треонина и глицина с одновременным образованием промежуточного звена между ферментом и его субстратом. Этот промежуточный продукт может быть разделен путем нуклеофильной атаки добавленным пептидом олигоглицина, что приводит к образованию ковалентной связи с LPXTG-содержащим белком в месте расщепления. Поскольку олигоглициновый пептид допускает декорирование любым заместителем по выбору, конечный продукт можно пометить флуорофором, фотоаффинным зондом, липидами, фотосшивающими агентами или даже другими полипептидами. В описываемом эксперименте С.Р. Guimaraes с соавт. [91] использовали ферментативную субъединицу дифтерийного токсина. Однако

только ей «ассортимент» подмен в известных токсинах не исчерпывается.

Иммунотоксины. Появление иммунотоксинов вызвано трудностями прицельного терапевтического воздействия на злокачественно переродившиеся клетки крови. Первым таким средством были немеченые мАт, индуцировавшие апоптоз клеток-мишеней после взаимодействия с их рецепторами или вызывавших их гибель по другим механизмам (rituximab и alemtuzumab). Однако выяснилось, что более чем у половины пациентов раковые клетки устойчивы к действию мАт. Тогда их стали конъюгировать с радионуклидами. Эти агенты оказались эффективными для лечения пациентов со злокачественными новообразованиями, резистентными к мАт, но не могли использоваться широко из-за их дозозависимой токсичности для клеток костного мозга. Третий тип препаратов для прицельного терапевтического воздействия на злокачественные клетки представлял собой мАт, конъюгированными с химиопрепаратами. Они оказались более эффективными и вызывали меньшее количество неспецифических осложнений при лечении острой миелоидной лейкемии (acute myelogenous leukemia, AML), чем мАт, конъюгированные с радионуклеотидами. Но и к ним были обнаружены резистентности.

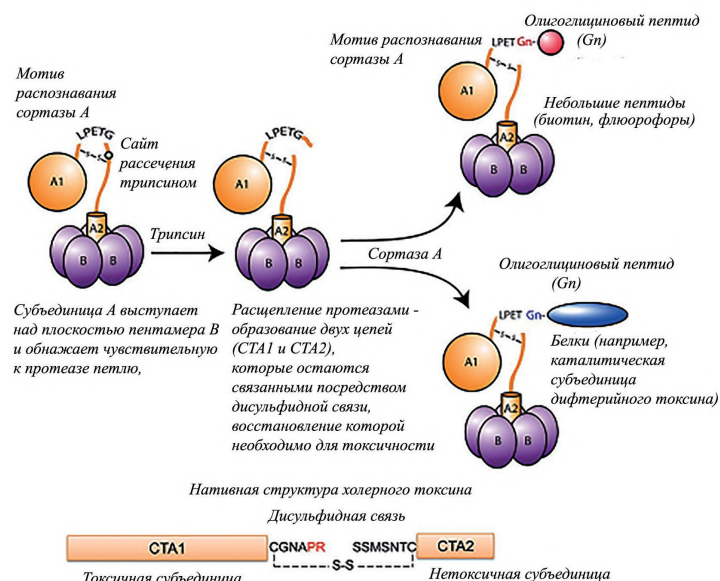


Рисунок 8 – Схема конструирования холерного токсина со свойствами дифтерийного. Показано присоединение каталитической субъединицы дифтерийного токсина (G5DTA) к цепи CTA1 предварительно собранного голотоксина СТх. Ферментативная субъединица дифтерийного токсина, обладающего АДФ-рибозилтрансферазной активностью, достигла цитоплазмы клетки, «двигаясь» через ЭР по «маршруту» CTA1 холерного токсина. Результат – остановка белкового синтеза и гибель клетки. Подробно см. в работе С.Р. Guimaraes с соавт. [91]

стентные опухолевые клетки, что потребовало дальнейшего совершенствование препаратов, действующих через специфическое узнавание рецепторов на поверхности опухолевых клеток [39].

Способность иммунотоксинов к прицельному уничтожению раковых клеток начинается с одной молекулы ферментативной субъединицы токсина, доставленной к поверхности клетки-мишени специфическим антителом (см., например, работу М. Yamaizumi с соавт. [33]). Поэтому иммунотоксины представляют собой некий предел развития таких средств терапии злокачественных опухолей крови. В качестве ферментативной молекулы при конструировании иммунотоксинов используют ферментативные субъединицы (домены) токсинов, блокирующие белковый синтез в клетках. Среди растительных токсинов наиболее часто используются рицин и абрин; среди бактериальных – одноцепочечные токсины: дифтерийный и экзотоксин псевдомонад.

Разработчики иммунотоксинов учитывают то обстоятельство, что обе субъединицы токсина содержат большое количество углеводных групп, связывающих их с неизменными тканями, и, в частности, с тканями печени и почек. Поэтому прежде чем конъюгировать субъединицы с антителом,

их дегликозилируют различными способами (получая рекомбинантные формы токсина в кишечной палочке, химическим путем и др.). Оптимальным объектом для лечения иммунотоксинами являются опухолевые клетки, расположенные внутри сосудов и доступны для препарата при внутривенном введении. К тому же иммунная система таких пациентов часто утрачивает способность к эффективному антительному ответу на сам иммунотоксин. Конструирование иммунотоксинов, используемых в медицинских целях, предполагает повышение их специфичности именно к опухолевым клеткам и как можно большую их безопасность для клеток нормальных тканей. В клинике токсичность таких препаратов оценивают по так называемой максимальной переносимой дозе (maximum tolerated dose, MTD). Признаки ее превышения неспецифические: астения, подъем уровня печеночных трансаминаз в крови, гипотензия. При появлении таких симптомов дозу препарата снижают. При более высокой дозе иммунотоксина у пациента может развиваться синдром пропускания сосудов (vascular leak syndrome, VLS; Clarkson syndrome), вызванный высвобождением цитокинов после гибели в коже периваскулярных Т-клеток. Обычно VLS встречается без отека

легких. Количества иммунотоксинов, вызывающих осложнения, находятся в пределах десятков микрограммов на килограмм массы тела пациента [39]. Наиболее распространенными побочными эффектами, связанными с лечением Денилейкином дифтитоксом, стали нечеткость зрения или нарушение цветового зрения, тошнота, диарея, кожная сыпь и мышечная боль, гриппоподобные симптомы и, что наиболее важно, VLS [92].

Прогнозирование токсичности белков и выявление искусственных токсинов. Для прогнозирования токсичности белков *in silico* разработаны специальные программы (инструменты), основанные на машинном обучении (machine-learning) распознавания белковых последовательностей. Их же можно использовать для выявления искусственных токсинов [77] (рисунок 9):

веб-сервис *ThreatSEQ*, разработанный Battelle Memorial Institute, идентифицирует вызывающие озабоченность последовательности при сравнении с базой данных известных токсичных белков²⁶;

веб-сервис *ToxinPred2* позволяет обнаруживать токсичных бактериальных белков и пептидов с помощью методов машинного обучения, основанных на информации об аминокислотной последовательности²⁷;

веб-сервис *ClanTox* – машина для классификации токсинов и веб-сервер, основанный на извлечении признаков из первичной последовательности белка с последующим применением системы классификации, обученной на известных токсинах животных. Для заданного входного списка последовательностей, ядовитых или неядовитых, система прогнозирует, является ли каждая последовательность токсиноподобной используется выявления пептидных ингибиторов ионных каналов, среди которых много хорошо охарактеризованных токсинов²⁸;

веб-сервис *ToxClassifier* доступен для использования в виде веб-приложения или отдельного загружаемого инструмента для классификации токсинов из последовательностей нетоксичных белков. Позволяет просто и последовательно отличать токсины от нетоксичных последовательностей с точностью >99 % и сравнивать его с широко используемыми методами аннотации токсинов. Также сообщает о наиболее подходящей аннотации, позволяющей поместить токсин в наиболее подходящее семейство белков-токсинов, или связывает его с нетоксичным белком, имеющим наиболее близкую гомологию, что обеспечивает улучшенное управление существующими биологиче-

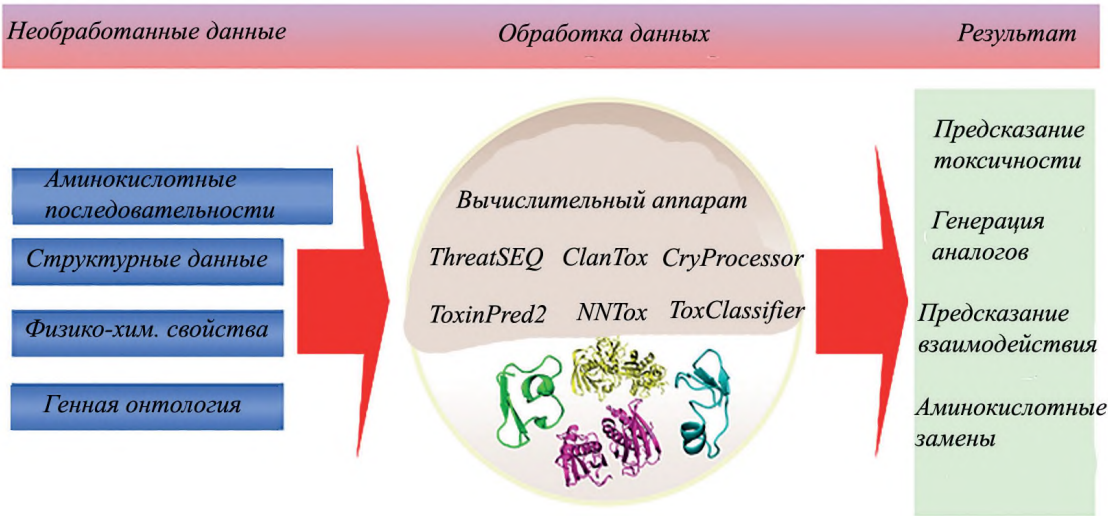


Рисунок 9 – Инструменты для создания и выявления новых токсических белков на основе методов машинного обучения распознавания белковой последовательности [77]

²⁶ Twist Bioscience Adopts Battelle’s ThreatSEQ™ DNA Screening Web Service for Advanced Biosecurity. URL: <https://www.businesswire.com/news/home/20190409005349/en/Twist-Bioscience-Adopts-Battelle%E2%80%99s-ThreatSEQ%E2%84%A2-DNA-Screening-Web-Service-for-Advanced-Biosecurity> (дата обращения: 05.12.2023).

²⁷ Welcome to ToxinPred2. URL: <https://webs.iiitd.edu.in/raghava/toxinpred2/> (дата обращения: 05.12.2023).

²⁸ ClanTox CClassifier of short ANimal TOXins. URL: <https://www.hsls.pitt.edu/obrc/index.php?page=URL1250871319> (дата обращения: 05.12.2023)

скими базами данных и новыми проектами по веномике²⁹;

веб-сервис *NNTox* – предсказание токсичности белка на основе нейронной сети. Основан на извлечении признаков из первичной последовательности белка с последующим применением системы классификации, обученной на известных токсинах животных. Для заданного входного списка последовательностей, ядовитых или неядовитых, система *ClanTox* прогнозирует, является ли каждая последовательность токсиноподобной. *ClanTox* предоставляет ранжированный список кандидатов с положительным прогнозом в соответствии со статистической достоверностью. Для каждого белка представлена дополнительная информация, включая наличие сигнального пептида, количество остатков цистеина и соответствующие функциональные аннотации, оценивающей потенциальную токсичность последовательности запрашиваемого белка на основе аннотации ресурса *gene ontology* (GO)³⁰;

веб-сервис *HybGPSO* – алгоритм гибридного роя генетической оптимизации. Позволяет точно прогнозировать функции слитых белков;

веб-сервис *CryProcessor* – написанный на Python инструмент для поиска и извлечения токсинов *Cry* из данных последовательностей *Illumina* или из файлов *Fasta* белков. Он включает в себя несколько частей: сканирование на основе *hmm* потенциальных токсинов *Cry*, получение информации о доменах, извлечение токсинов *Cry* только с 3 доменами

и сравнение обнаруженных токсинов с номенклатурой *Bt*³¹.

Доступ в эти сервисы свободен.

Среди бактериальных токсинов наибольшую опасность представляют бинарные токсины. Токсичность ботулинического токсина серотипов А и В превосходит аналогичный показатель боевых ОВ. Хорошо охарактеризованные бактериальные токсины – это только часть рисков, связанных с поражениями такими токсинами. У многих из них имеются малоизученные аналоги у других видов бактерий, гены которых либо экспрессированы, либо могут быть экспрессированы при вставке промоторной области. Методам компьютерной геномики установлены изоформы бактериальных токсинов, изучение биологических свойств которых еще не началось. Хорошая изученность структуры и функции, составляющих бинарные токсины субъединиц (функциональных доменов), позволяют их модификацию в направлении изменения спектра целей, повышения токсичности, изменения механизма поражающего действия и др. Такие токсины способны вызывать труднообъяснимые поражения людей и животных. Для прогнозирования токсичности белков в условиях *in silico* и для выявления искусственных токсинов и малоизвестных токсинов-аналогов, могут быть использованы специальные программы распознавания белковых последовательностей, основанные на машинном обучении (*machine learning*).

²⁹ ToxClassifier. URL: <https://github.com/rgacesa/ToxClassifier> (дата обращения: 05.12.2023).

³⁰ Ресурс «Генная онтология» (The Gene Ontology Resource, GO) – это общественный ресурс по биоинформатике. URL: <https://geneontology.org/> (дата обращения: 05.12.2023).

³¹ *CryProcessor*. URL: https://github.com/anton-shikov/cry_processor (дата обращения: 05.12.2023).

Список источников/References

1. Вертиев ЮВ. Бактериальные токсины: биологическая сущность и происхождение. *Журн микробиол эпидемиол иммунобил.* 1996;(3):43–6.
Vertiev JuV. Bacterial toxins: their biological essence and origin. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 1996;(3):43–6 (in Russian).
2. Бухарин ОВ, Литвин ВЮ. *Патогенные бактерии в природных экосистемах.* Екатеринбург; 1997.
Buharin OV, Litvin VJu. *Pathogenic bacteria in natural ecosystems.* Ekaterinburg; 1997 (in Russian).
3. Bezrukov SM, Nestorovich EM. Inhibiting bacterial toxins by channel blockage. *Pathog Dis.* 2016;74(2):ftv113. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftv113>
4. Rudkin JK, McLoughlin RM, Preston A, Massey RC. Bacterial toxins: Offensive, defensive, or something else altogether? *PLoS Pathog.* 2017;13(9):e1006452. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006452>
5. Biernbaum EN, Kudva IT. AB5 Enterotoxin-Mediated Pathogenesis: Perspectives Gleaned from Shiga Toxins. *Toxins (Basel).* 2022;14(1):62. <https://doi.org/10.3390/toxins14010062>

6. Márquez-López A, Fanarraga ML. AB Toxins as High-Affinity Ligands for Cell Targeting in Cancer Therapy. *Int J Mol Sci.* 2023;24(13):11227. <https://doi.org/10.3390/ijms241311227>
7. Bonifacino JS, Rojas R. Retrograde transport from endosomes to the trans-Golgi network. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7:568–79. <https://doi.org/10.1038/nrm1985>
8. Sandvig K, Skotland T, van Deurs B, Klok TI. Retrograde transport of protein toxins through the Golgi apparatus. *Histochem Cell Biol.* 2013;140:317–326.
9. Lukassen S, Chua R, Trefzer T, Kahn NC, Schneider MA, Muley Th, et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. *EMBO J.* 2020;39(10):e105114. <https://doi.org/10.15252/embj.20105114>
10. Finlay B, Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity. *Microbiol Rev.* 1997. 53(2);210–30. <https://doi.org/10.1128/mr.53.2.210-230.1989>
11. Sanyaolu A, Okorie Ch, Marinkovic A, Haider H. The emerging SARS-CoV-2 variants of concern. *Ther Adv Infect Dis.* 2021. <https://doi.org/10.1177/20499361211024372>
12. Littler DR, Ang SY, Moriel DG, Kocan M, Kleifeld O, Johnson MD, et al. Structure-function analyses of a pertussis-like toxin from pathogenic *Escherichia coli* reveal a distinct mechanism of inhibition of trimeric G-proteins. *J Biol Chem.* 2017;292(36):15143–58. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.796094>
13. Lemichez E, Flatau G, Bruzzone M, Boquet P, Gauthier M. Molecular localization of the *Escherichia coli* cytotoxic necrotizing factor CNF1 cell-binding and catalytic domains. *Mol Microbiol.* 1997;24(7):1061–70. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.4151781.x>
14. Petosa C, Collier P, Klimpel KR, Leppla SH, Liddington RC. Crystal structure of the anthrax toxin protective antigen. *Nature.* 1997;385(6619):833–38. <https://doi.org/10.1038/385833a0>
15. Trescos Y, Tournier J-N. Cytoskeleton as an emerging target of anthrax toxins. *Toxins.* 2012;4:83–97. <https://doi.org/10.3390/toxins4020083>
16. Zuverink M, Barbieri JT. Protein Toxins That Utilize Gangliosides as Host Receptors. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2018;156:325–54. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.11.010>
17. Uchida I, Ishihara R, Tanaka K, Hata E, Makino SI, Kanno T, et al. *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 ArtA-dependent modification of pertussis toxin-sensitive G proteins in the presence of [32P] NAD. *Microbiology (Reading).* 2009;155(Pt 11):3710–18. <https://doi.org/10.1099/mic.0.028399-0>
18. Pavlik BJ, Hruska EJ, Van Cott KE, Blum PH. Retargeting the *Clostridium botulinum* C2 toxin to the neuronal cytosol. *Sci Rep.* 2016;6:23707. <https://doi.org/10.1038/srep23707>
19. Friebe S, van der Goot F, Bürgi J. The Ins and Outs of Anthrax Toxin. *Toxins.* 2016;8:69. <https://doi.org/10.3390/toxins8030069>
20. Rossetto O, Montecucco C. Tables of Toxicity of Botulinum and Tetanus Neurotoxins. *Toxins (Basel).* 2019;11(12):686. <https://doi.org/10.3390/toxins11120686>
21. Schmitt CK, Meysick KC, Brien AD. Bacterial toxins: friends or foes? *Emerg Infect Dis.* 1999;5(2):224–34. <https://doi.org/10.3201/eid0502.990206>
22. Dal Peraro M, van der Goot FG. Pore-forming toxins: ancient, but never really out of fashion. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(2):77–92. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2015.3>
23. Berube BJ, Wardenburg J. *Staphylococcus aureus* α-toxin: nearly a century of intrigue. *Toxins (Basel).* 2013;5(6):1140–66. <https://doi.org/10.3390/toxins5061140>
24. Li Y, Li Y, Mengist HM, Zhang C, Wang B, Li T, et al. Structural Basis of the Pore-Forming Toxin/Membrane. *Interaction Toxins (Basel).* 2021;13(2):128. <https://doi.org/10.3390/toxins13020128>
25. Bischofberger M, Iacovache I, van der Goot FG. Pathogenic pore-forming proteins: function and host response. *Cell Host Microbe.* 2012;12(3):266–75. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.08.005>

26. Xiang Y, Yan C, Guo X, Zhou K, Li S, Gao Q, et al. Host-derived, pore-forming toxin-like protein and trefoil factor complex protects the host against microbial infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(18):6702–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321317111>
27. Galinier R, Portela J, Moné Y, Allienne JF, Henri H, Delbecq S, et al. Biophalysin, a new β pore-forming toxin involved in *Biomphalaria glabrata* immune defense against *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathog*. 2013;9(3):e1003216. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003216>
28. Ulhuq FR, Mariano G. Bacterial pore-forming toxins. *Microbiology (Reading)*. 2022;168(3):001154. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001154>
29. Dudev T, Lim C. Ion selectivity in the selectivity filters of acidsensing ion channels. *Sci Rep*. 2015;5:7864. <https://doi.org/10.1038/srep07864>
30. Bhakdi S, Bayley H, Valeva A, Walev I, Walker B, Kehoe M, et al. Staphylococcal alpha-toxin, streptolysin-O and *Escherichia coli* hemolysin: prototypes of pore-forming bacterial cytolysins. *Arch Microbiol*. 1996;165(1):73–9. <https://doi.org/10.1007/s002030050300>
31. Bhakdi S, Tranum-Jensen J. Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Rev*. 1991;55(4):733–51. <https://doi.org/10.1128/mr.55.4.733-751.1991>
32. Юшук НД, Кулагина МТ. Дифтерия: клиническое течение, диагностика и лечение. *Русский медицинский журнал*. 1997;(4):208–17.
33. Jushchuk ND, Kulagina MT. Diphtheria: clinical course, diagnosis and treatment. *Russkij Medicinskij Zhurnal*. 1997;(4):208–17 (in Russian).
34. Yamaizumi M, Mekada E, Uchida T, Okada Y. One molecule of diphtheria toxin fragment A introduced into a cell can kill the cell. *Cell*. 1978;15(1):245–50. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(78\)90099-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(78)90099-5)
35. Liu PV. The roles of various fractions of *Pseudomonas aeruginosa* in its pathogenesis. 3. Identity of the lethal toxins produced *in vitro* and *in vivo*. *J Infect Dis*. 1966;116(4):481–89. <https://doi.org/10.1093/infdis/116.4.481>
36. Liu PV. Toxins of *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Pseudomonas aeruginosa (clinical manifestation and current therapy)*. Doggett RG, Ed. N.Y.; 1979. P. 90–135.
37. Мороз АФ, Анциферова НГ, Баскакова НИ. Синегнойная инфекция. Мороз АФ, ред. М.; 1988.
38. Moroz AF, Anciferova NG, Baskakova NI. *Pseudomonas infection*. Moroz AF, Ed. Moscow; 1988 (in Russian).
39. McCluskey AJ, Collier RJ. Receptor-directed chimeric toxins created by sortase-mediated protein fusion. *Mol Cancer Ther*. 2013;12(10):2273–81. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-13-0358>
40. Лазарева АВ, Чеботарь ИВ, Крыжановская ОА, Чеботарь ВИ, Маянский НА. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. *Клин микробиол антимикроб химиотер*. 2015;17(3):170–86.
41. Lazareva AV, Chebotar' IV, Kryzhanovskaja OA, Chebotar' VI, Majanskij NA. *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenicity, Pathogenesis and Diseases. *Klin mikrobiol antimikrob himioter*. 2015;17(3):170–86 (in Russian).
42. Kreitman RJ, Siegall CB, Chaudhary VK, FitzGerald DJ, Pastan I. Properties of chimeric toxins with two recognition domains: interleukin 6 and transforming growth factor alpha at different locations in *Pseudomonas* exotoxin. *Bioconjug Chem*. 1992;3(1):63–8. <https://doi.org/10.1021/bc00013a010>
43. Tian S, Zhou N. Gaining New Insights into Fundamental Biological Pathways by Bacterial Toxin-Based Genetic Screens. *Bioengineering (Basel)*. 2023;10(8):884. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10080884>
44. Chan YS, Ng TB. Shiga toxins: From structure and mechanism to applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016;100:1597–610. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7236-3>
45. De SN. Enterotoxicity of bacteria-free culture-filtrate of *Vibrio cholera*. *Nature*. 1959;183(4674):1533–4. <https://doi.org/10.1038/1831533a0>
46. Bharati K, Ganguly NK. Cholera toxin: a paradigm of a multifunctional protein. *Indian J Med Res*. 2011;133(2):179–87. PMID: 21415492.
47. He X, Yang J, Ji M, Chen Y, Chen Y, Li H, et al. Potential delivery system based on cholera toxin: A macromolecule carrier with multiple activities. *J Control Release*. 2022;343:551–63. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.01.050>
48. Weiss AA, Hewlett EL, Myers GA, Falkow S. Pertussis toxin and extracytoplasmic adenylate cyclase as virulence factors of *Bordetella pertussis*. *J Infect Dis*. 1984;150:219–22. <https://doi.org/10.1093/infdis/150.2.2194>
49. Gregg KA, Merkel TJ. Pertussis Toxin: A Key Component in Pertussis Vaccines? *Toxins (Basel)*. 2019;11(10):557. <https://doi.org/10.3390/toxins11100557>

47. Ernst K. Novel Strategies to Inhibit Pertussis Toxin. *Toxins (Basel)*. 2022;14(3):187.
<https://doi.org/10.3390/toxins14030187>
48. Carbonetti NH. Contribution of Pertussis Toxin to the Pathogenesis of Pertussis Disease. *Pathog Dis*. 2015;73:ftv073.
<https://doi.org/10.1093/femspd/ftv073>
49. Kilgore PE, Salim AM, Zervos MJ, Schmitt H.-J. Pertussis: Microbiology, Disease, Treatment, and Prevention. *Clin Microbiol Rev*. 2016;29:449–86.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00083-15>
50. Scanlon K, Skerry C, Carbonetti N. Association of Pertussis Toxin with Severe Pertussis Disease. *Toxins (Basel)*. 2019;11(7):373.
<https://doi.org/10.3390/toxins11070373>
51. Saitoh M, Tanaka K, Nishimori K, Makino SI, Kanno T, Ishihara R, et al. The *artAB* genes encode a putative ADP-ribosyltransferase toxin homologue associated with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104. *Microbiology*. 2005;151:3089–96.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.27933-0>
52. Johnson TJ, DebRoy C, Belton S, Williams ML, Lawrence M, Nolan LK, et al. Pyrosequencing of the Vir Plasmid of Necrotogenic *Escherichia coli*. *Vet Microbiol*. 2010;144(1–2):100–9.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.12.022>
53. Scuron MD, Boesze-Battaglia K, Dlakić M, Shenker BJ. The Cytolethal Distending Toxin Contributes to Microbial Virulence and Disease Pathogenesis by Acting As a Tri-Perditious Toxin. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016;6:168.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00168>
54. Lai YR, Chang YF, Ma J, Chiu CH, Kuo ML, Lai CH. From DNA Damage to Cancer Progression: Potential Effects of Cytolethal Distending Toxin. *Front Immunol*. 2021;12:760451.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.760451>
55. Pickett CL, Cottle DL, Pesci EC, Bikah G. Cloning, sequencing, and expression of the *Escherichia coli* cytolethal distending toxin genes. *Infect Immun*. 1994;62:1046–51.
<https://doi.org/10.1128/iai.62.3.1046-1051.1994>
56. Grasso F, Frisan T. Bacterial Genotoxins: Merging the DNA Damage Response into Infection Biology. *Biomolecules*. 2015;5(3):1762–82.
<https://doi.org/10.3390/biom5031762>
57. Ceelen LM, Decostere A, Ducatelle R, Haesebrouck F. Cytolethal distending toxin generates cell death by inducing a bottleneck in the cell cycle. *Microbiol Res*. 2006;161(2):109–20.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.04.002>
58. Guerra L, Cortes-Bratti X, Guidi R, Frisan T. The biology of the cytolethal distending toxins. *Toxins (Basel)*. 2011;3(3):172–90.
<https://doi.org/10.3390/toxins3030172>
59. Nougayrede JP, Taieb F, De Rycke J, Oswald E. Cyclomodulins: Bacterial Effectors That Modulate the Eukaryotic Cell Cycle. *Trends Microbiol*. 2005;13(3):103–10.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.01.002>
60. Pirazzini M, Henke T, Rossetto O, Mahrhold S, Krez N, Rummel A, et al. Neutralisation of specific surface carboxylates speeds up translocation of botulinum neurotoxin type B enzymatic domain. *FEBS Lett*. 2013;587(23):3831–86.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.10.010>
61. Contreras E, Masuyer G, Qureshi N, Chawla S, Dhillon HS, Lee HL, Chen J, et al. A neurotoxin that specifically targets *Anopheles mosquitoes*. *Nat Commun*. 2019;10(1):2869.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-10732-w>
62. Peck MW, Smith TJ, Anniballi F, Austin JW, Bano L, Bradshaw M, et al. Historical perspectives and guidelines for botulinum neurotoxin subtype nomenclature. *Toxins*. 2017;9:38.
<https://doi.org/10.3390/toxins9010038>
63. Rosales RL, Bigalke H, Dressler D. Pharmacology of botulinum toxin: differences between type A preparations. *Eur J Neurol*. 2006;Suppl 1:2–10.
<https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2006.01438.x>
64. Megighian A, Pirazzini M, Fabris F, Rossetto O, Montecucco C. Tetanus and tetanus neurotoxin: from peripheral uptake to central nervous tissue targets. *J Neurochem*. 2021;158:1244–1253.
<https://doi.org/10.1111/jnc.15330>
65. Rao AK, Sobel J, Chatham-Stephens K, Luquez C. Clinical guidelines for diagnosis and treatment of botulism. *MMWR Recommendations Rep*. 2021;70:1–30.
<https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/70/rr/rr7002a1.htm>

66. Плечитный ДФ. Экспериментальное изучение патогенеза столбнячной интоксикации. М.; 1958. Plecitnyj DF. *Experimental study of the pathogenesis of tetanus intoxication*. Moscow; 1958 (in Russian).
67. Arnon S. Human tetanus and human botulism. In: *The clostridia: molecular biology and pathogenesis*. Rood JI, McClane BA, Songer JG, Titball RW, Eds. San Diego: Academic Press; 1997. P. 95–115. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-013118-111654>
68. Dong M, Masuyer G, Stenmark P. Botulinum and tetanus neurotoxins. *Annu Rev Biochem*. 2019;88:811–37. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-013118-111654>
69. Halpern J, Neale E. Neurospecific binding, internalization and retrograde axonal transport. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1995;195(1):221–41. https://doi.org/10.1007/978-3-642-85173-5_10
70. Doxey AC, Mansfeld MJ, Montecucco C. Discovery of novel bacterial toxins by genomics and computational biology. *Toxicon*. 2018;147:2–12. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.02.002>
71. Montecucco C, Molgó J. Botulinal neurotoxins: revival of an old killer. *Curr Opin Pharmacol*. 2005;5(3):274–279. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2004.12.006>
72. Шихкеримов РК, Истомина ЕВ. Рекомбинантные ботулотоксины как новый этап развития ботулинотерапии. Возможности и перспективы применения в неврологической практике. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2022;14(6): 103–9.
- Shikhkerimov RK, Istomina EV. Recombinant botulinum toxin as a new stage in the development of botulinum toxin therapy. Possibilities and perspectives of use in neurological practice. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2022;14(6): 103–9 (in Russian). <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2022-6-103-109>
73. White J, Herman A, Pullen AM, Hashimoto K, Sugaya K, Kubo M, et al. The Vβ-specific superantigen staphylococcal enterotoxin B: Stimulation of mature T cells and clonal deletion in neonatal mice. *Cell*. 1989;56:27–35. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(89\)90980-x](https://doi.org/10.1016/0092-8674(89)90980-x)
74. Schlievert P. Searching for superantigens. *Immunol Infect*. 1997;26(2):283–90. [https://doi.org/10.1016/0950-2688\(97\)90489-3](https://doi.org/10.1016/0950-2688(97)90489-3)
75. Blank C, Luz A, Bendigs S, Erdmann A, Wagner H, Heeg K. Superantigen and endotoxin synergize in the induction of lethal shock. *Eur J Immunol*. 1997;27(4):825–33. <https://doi.org/10.1002/eji.1830270405>
76. Sutkowski N, Conrad B, Thorley-Lawson D.A, Huber BT. Epstein-Barr virus transactivates the human endogenous retrovirus HERV-K18 that encodes a superantigen. *Immunity*. 2001;15(4):579–89. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(01\)00210-2](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(01)00210-2)
77. Efremenko E, Aslanli A, Lyagin I. Advanced Situation with Recombinant Toxins: Diversity, Production and Application Purposes. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5):4630. <https://doi.org/10.3390/ijms24054630>
78. Deist BR, Rausch MA, Fernandez-Luna MT, Adang MJ, Bonning BC. Bt toxin modification for enhanced efficacy. *Toxins (Basel)*. 2014;6(10):3005–27. <https://doi.org/10.3390/toxins6103005>
79. Шамсутдинов АФ, Тюрин ЮА. Белковые токсины *Staphylococcus aureus*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2014;91(2):113–20.
- Shamsutdinov AF, Tjurin JuA. Protein toxins of *Staphylococcus aureus*. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*. 2014;91(2):113–20 (in Russian).
80. Wu SJ, Koller CN, Miller DL, Bauer LS, Dean DH. Enhanced toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry3A delta-endotoxin in coleopterans by mutagenesis in a receptor binding loop. *FEBS Lett*. 2000;473:227–32. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(00\)01505-2](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)01505-2)
81. Liu XS, Dean DH. Redesigning *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa toxin into a mosquito toxin. *Prot Eng Design Selec*. 2006;19:107–11. <https://doi.org/10.1093/protein/gzj009>
82. Brin MF, Lew MF, Adler CH, Comella CL, Factor SA, Jankovic J, et al. Safety and efficacy of NeuroBloc (botulinum toxin type B) in type A-resistant cervical dystonia. *Neurology*. 1999; 53(7):1431–38. <https://doi.org/10.1212/wnl.53.7.1431>
83. Pappert EJ, Germanson T. Myobloc/Neurobloc European Cervical Dystonia Study Group. Botulinum toxin type B vs. type A in toxin-naïve patients with cervical dystonia: Randomized, double-blind, noninferiority trial. *Mov Disord*. 2008;23(4):510–17. <https://doi.org/10.1002/mds.21724>

84. Tao L, Peng L, Berntsson RP, Liu SM, Park S, Yu F, et al. Engineered botulinum neurotoxin B with improved efficacy for targeting human receptors. *Nat Commun.* 2017;8(1):53.
<https://doi.org/10.1038/s41467-017-00064-y>
85. Antignani A, Ho E, Bilotta MT, Qiu R, Sarnvosky R, FitzGerald DJ. Targeting Receptors on Cancer Cells with Protein Toxins. *Biomolecules.* 2020;10(9):1331.
<https://doi.org/10.3390/biom10091331>
86. Kiyokawa T, Shirono K, Hattori T, Nishimura H, Yamaguchi K, Nichols JC, et al. Cytotoxicity of interleukin 2-toxin toward lymphocytes from patients with adult T-cell leukemia. *Cancer Res.* 1989;49(14):4042–46. PMID: 2786749.
87. Ardini M, Vago R, Fabbrini MS, Ippoliti R. From Immunotoxins to Suicide Toxin Delivery Approaches: Is There a Clinical Opportunity? *Toxins (Basel).* 2022;14(9):579.
<https://doi.org/doi:10.3390/toxins14090579>
88. Contet A, Caussanel V, Beck A, Lowe P. Immunotoxines et immunocytokines [Immunotoxins and immunocytokines]. *Med Sci (Paris).* 2019;35(12):1054–61 (in French).
<https://doi.org/10.1051/medsci/2019205>
89. Kreitman RJ, Siegal CB, Chaudhary VK, FitzGerald DJ, Pastan I. Properties of chimeric toxins with two recognition domains: interleukin 6 and transforming growth factor alpha at different locations in *Pseudomonas exotoxin*. *Bioconjug Chem.* 1992;3(1):63–8.
<https://doi.org/10.1021/bc00013a010>
90. Fujinaga Y, Wolf AA, Rodighiero C. Gangliosides that associate with lipid rafts mediate transport of cholera and related toxins from the plasma membrane to endoplasmic reticulum. *Mol Biol Cell.* 2003;14:4783–93.
<http://dx.doi.org/10.1091/mbc>
91. Guimaraes CP, Carette JE, Varadarajan M, Antos J, Popp MW, Spooner E, et al. Identification of host cell factors required for intoxication through use of modified cholera toxin. *J Cell Biol.* 2011;195(5):751–64.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201108103>
92. Avarbock AB, Loren AW, Park JY, Junkins-Hopkins JM, Choi J, Litzky LA, et al. Lethal vascular leak syndrome after denileukin diftitox administration to a patient with cutaneous gamma/delta T-cell lymphoma and occult cirrhosis. *Am J Hematol.* 2008;83(7):593–5.
<https://doi.org/10.1002/ajh.21180>

Вклад автора / Author contribution

Разработка концепции статьи; сбор, анализ и систематизация научной литературы; написание статьи / Elaboration of the concept of the paper; collection, analysis, and systematization of scientific literature; writing and edition of paper.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторе/ Author

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации, 111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19.

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

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-3193-1032>

Контактная информация автора: 27nc_l@mil.ru

Federal State Budgetary Establishment “27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky” of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Entuziastov Passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation.

Mikhail V. Supotnitskiy. Senior Researcher. Chief Specialist. Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-3193-1032>

Contact information for author: Mikhail V. Supotnitskiy; 27nc_l@mil.ru



Обоснование архитектуры перспективной автоматизированной системы мониторинга радиационной, химической и биологической обстановки с использованием искусственного интеллекта

С.А. Шаров¹, Д.С. Батинов¹, М.А. Осипов², М.В. Домнин², С.А. Морозов²,
М.А. Голышев³, Ю.И. Хрипков³, А.В. Надеин³, И.В. Чебыкин⁴, В.Д. Васин⁵,
М.М. Бец⁶

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт» Министерства обороны
Российской Федерации,
412918, Российская Федерация, п. Шиханы-2, ул. Краснознаменная, д. 1

²Федеральное 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

³Федеральное государственное бюджетное учреждение
«27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны
Российской Федерации,
111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19
✉ e-mail: 27nc1@mil.ru

⁴Войсковая часть 29753,
412918, Российская Федерация, п. Шиханы-2, ул. Краснознаменная, д. 2

⁵Войсковая часть 71432,
412918, Российская Федерация, п. Шиханы-2, ул. Краснознаменная, д. 4

⁶Войсковая часть 19889,
142438, Российская Федерация, Московская обл., Ногинский район, д. Большое Буньково

Наиболее прогрессивным направлением выявления и оценка радиационной, химической и биологической (РХБ) обстановки является внедрение технологий на основе искусственного интеллекта. **Цель работы** – разработка архитектуры перспективной системы мониторинга радиационной, химической и биологической обстановки с использованием искусственного интеллекта. **Информационная база исследования.** Публикации по применению математических моделей в ИИ, доступные через сеть «Интернет». **Метод исследования** – аналитический, от общего к частному. Рассматривали особенности использования искусственного интеллекта в автоматизированных системах управления. **Результаты и обсуждение.** Конфронтации с Украиной под протекторатом Запада носят многовариантный пространственный характер, и требуют постоянного мониторинга в условиях недостатка конкретной информации. Применение технологий ИИ позволит выйти за рамки простого отображения текущей ситуации, предоставляя инструменты прогнозирования развития событий. Предлагаемая архитектура перспективной системы предполагает создание единой базы данных, наполняемой верифицированной информацией из открытых источников. Разработанная структура веб-приложения, представляющего собой интерактивный интерфейс для анализа и реагирования на изменения РХБ обстановки, включающая в себя возможность между информационными слоями и получение данных в режиме реального времени. **Вывод.** Применение нейросетевых технологий войсками РХБ защиты позволит осуществлять поиск

Шаров С.А., Батинов Д.С., Осипов М.А., Домнин М.В., Морозов С.А., Голышев М.А. и др.
 Sharov S.A., Batinov D.S., Osipov M.A., Domnin M.V., Morozov S.A., Golyshev M.A., et al.

по заданным параметрам и проводить ретроспективный анализ данных, тем самым качественно повлияет на эффективность мониторинга РХБ угроз для войск и населения Российской Федерации.

Ключевые слова: автоматизированная система мониторинга; базы данных; безопасность; информационные технологии; искусственный интеллект; машинное обучение; моделирование; нейронные сети; угрозы.

Для цитирования: Шаров С.А., Батинов Д.С., Осипов М.А., Домнин М.В., Морозов С.А., Голышев М.А., Хрипов Ю.И., Надеин А.В., Чебыкин И.В., Васин В.Д., Бец М.М. Обоснование архитектуры перспективной автоматизированной системы мониторинга радиационной, химической и биологической обстановки с использованием искусственного интеллекта. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(1):65–77. EDN:zyeoiх. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-65-77>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: нет.

Финансирование: федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ).

Поступила 14.02.2024 г. Исправленный вариант 20.03.2024 г. Принята к публикации 27.03.2024 г.

Justification of the Architecture a Promising Automated System for Monitoring Radiation, Chemical and Biological Environment Using Artificial Intelligence

Sergey A. Sharov¹, Dmitrii S. Batinov¹, Mikhail A. Osipov², Mikhail V. Domnin²,
 Sergey A. Morozov², Maxim A. Golyshev³✉, Yuri I. Khripkov³, Aleksey V. Nadein³,
 Ilya V. Chebykin⁴, Vasily D. Vasin⁵, Mikhail M. Bets⁶

¹Federal State Budgetary Institution
«33 Central Research Testing Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation,
412918, Russian Federation, v. Shikhany-2, st. Krasnoznamennaya, 1

²Federal State Treasury Military Educational Institution of Higher Education «Military Academy of Radiation, Chemical and Biological Defense named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko» Ministry of Defense of the Russian Federation,
156015, Russian Federation, Kostroma, st. Gorkogo, 16

³Federal State Budgetary Institution
«27 Scientific Center Named after Academician N.D. Zelinsky»
Ministry of Defense of the Russian Federation,
111024, Russian Federation, Moscow, Entuziastov Proezd, 19
✉ e-mail: 27nc1@mil.ru

⁴The Military unit 29753,
412918, Russian Federation, v. Shikhany-2, St. Krasnoznamennaya, 2

⁵The Military Unit 71432,
412918, Russian Federation, Shikhany-2, St. Krasnoznamennaya, 4

⁶The Military Unit 19889,
142438, Russian Federation, Moscow region, Noginsky district, Bolshoye Bunkovo village

The most progressive direction for identifying and assessing the chemical warfare situation is the introduction of technologies based on artificial intelligence. **The goal of the work** is to develop the architecture of a promising system for monitoring the radiation, chemical and biological situation using artificial intelligence. **Research information base.** Publications on the use of mathematical models in artificial intelligence (AI), available via the Internet. **The research method** is analytical, from general to specific. We considered the features of using artificial intelligence in automated control systems. **Results and discussion.** Confrontations with Ukraine and NATO are multivariate and spatial in nature, and require constant monitoring in the face of a lack of specific information about attacks being prepared and already carried out. The use of AI technologies will allow us to go beyond simply displaying the current situation, providing tools for predicting the development of events. The proposed architecture of a promising system involves the creation of a single database filled with verified information from open sources. The developed structure of the web application, which is an interactive interface for analyzing and responding to changes in the chemical warfare situation, will allow flexible switching between information layers and obtaining data in real time. **Conclusion.** The use of neural network technologies by NBC protection troops will make it possible to search according to specified parameters and conduct retrospective data analysis, which will significantly simplify monitoring of NBC threats for the troops and population of the Russian Federation.

Keywords: artificial intelligence; automated monitoring system; databases; information technology; machine learning; modeling; neural networks; security.

For citation: Sharov S.A., Batinov D.S., Osipov M.A., Domnin M.V., Morozov S.A., Golyshev M.A., Khripkov Yu.I., Chebykin I.V., Nadein A.V., Vasin V.D., Bets M.M. Justification of the Design and Requirements for a Promising Automated System for Monitoring the Radiation, Chemical and Biological Situation Using Artificial Intelligence. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(1):65–77. EDN:zyeoux.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-65-77>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: The authors declare no conflict of interest.

Funding: Federal State Budgetary Establishment “27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky” of the Ministry of Defence of the Russian Federation (27 SC MD RF).

Received February 14 2024. Corrected version March 20 2024. Accepted for publication March 27 2024

Технологии искусственного интеллекта (ИИ) в последние годы претерпели значительные изменения, став одной из наиболее динамично развивающихся областей военной науки и техники. Основные направления развития ИИ в Российской Федерации закреплены в Национальной стратегии развития на период до 2030 года, утвержденной Указом Президента Российской Федерации от 10 октября 2019 г. № 490 «О развитии искусственного интеллекта в Российской Федерации»¹.

Современные тенденции международных отношений свидетельствуют о сложной военно-политической обстановке, которая обуславливает реальное нарастание вызовов и угроз, связанных, в том числе, с радиационной, химической и биологической (РХБ) безопасностью страны, актуальных в условиях военной конфронтации с Украиной, вы-

полняющей все указания политического руководства США.

Цель работы – разработка архитектуры перспективной системы мониторинга радиационной, химической и биологической обстановки с использованием искусственного интеллекта.

Информационная база исследования. Публикации по применению математических моделей в ИИ, доступные через сеть «Интернет».

Метод исследования – аналитический, от общего к частному.

Решались следующие задачи: анализировались современные угрозы РХБ характера; на основе этого анализа проводилось обоснование архитектуры автоматизированной системы мониторинга РХБ обстановки с использованием технологий ИИ.

¹ Национальная стратегия развития искусственного интеллекта на период до 2030 года, утверждена Указом Президента РФ от 10.10.2019 № 490. URL: <https://ai.gov.ru/national-strategy/> (дата обращения: 07.03.2024).

Современные угрозы РХБ характера

В современном мире существует огромное количество угроз РХБ направленности, представляющих опасность для здоровья населения любой страны, а также оказывающих негативное воздействие на состояние окружающей среды на планете. К таким угрозам, в частности, относятся РХБ опасные объекты, которые могут привести к катастрофическим последствиям в результате аварий, террористических актов или природных происшествий.

В мире насчитывается огромное количество ядерных, химических и биологических объектов. Эти объекты расположены на различных континентах земного шара, что делает их уязвимыми для всей номенклатура современных угроз.

Многие из этих объектов не имеют достаточных мер безопасности. Авария на атомной электростанции (АЭС) «Фукусима-1» в Японии в 2011 году², вызванная землетрясением и цунами, является примером катастрофических последствий, которые могут возникнуть в результате таких событий. Землетрясение магнитудой 9,0 и последовавшее цунами привели к автоматической остановке реакторов на АЭС «Фукусима-1», но волна цунами разрушила системы охлаждения, что привело к серии взрывов и выбросу радиоактивных материалов. В результате, более 160 тысяч человек были эвакуированы из зоны 20 км от АЭС, а радиация навсегда отравила почву и воду в близлежащих городах.

Примером угрозы химической безопасности является распространение облака токсичного дыма от горения оборонного предприятия в Германии в сторону жилой застройки в 2024 году³. В частности, масштабный пожар на заводе Diehl Metal Applications в Берлине, произошедший 3 мая 2024 г., привел к распространению токсичного облака дыма над городом (рисунок 1). Огонь полностью охватил 4-х этажное здание, внутри которого находились ядовитые химикаты, включая синильную кислоту, которая смертельно опасна для человека. Жителям Берлина было рекомендовано оставаться в помещениях, закрыть окна и отключить кондиционеры, чтобы предотвратить воздействие токсичного дыма на здоровье.



Рисунок 1 – Крупный пожар на заводе Diehl в Берлине
(URL: <https://abbv.ru/news/obshchestvo/v-germanii-pozharnye-prervali-tushenie-ognya-na-zavode-diehl/>;
дата обращения: 07.03.2024)

Биологические угрозы также представляют собой значительную опасность. Например, в 2019 году в Китае произошла вспышка заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, который быстро распространился по всему миру, вызвав пандемию COVID-19⁴ (рисунок 2). Это событие подчеркнуло важность готовности к биологическим угрозам и необходимости в развитии эффективных мер реагирования на такие инциденты.

Рассмотренные примеры наглядно демонстрируют, что моделирование чрезвычайных ситуаций для возможности предотвращения РХБ угроз является необходимым шагом в



Рисунок 2 – Вспышка заболевания в Китае, вызванного вирусом SARS-CoV-2
(URL: <https://flectone.ru/vspiyshka-bolezni-v-kitae.html>;
дата обращения: 07.03.2024)

² Авария на АЭС «Фукусима-1»: причины и хронология катастрофы. URL: <https://ren.tv/longread/1135370-avariia-na-aes-fukusima-1-prichiny-i-khronologiya-katastrofy> (дата обращения: 07.03.2024).

³ В Берлине загорелся завод Diehl, производящий ракеты IRIS-T и снаряды для HIMARS. URL: <https://www.dp.ru/a/2024/05/03/v-berline-zagorelsja-zavod> (дата обращения: 07.03.2024).

⁴ Мертвое живое. Как начиналась пандемия COVID-19. URL: <https://www.techinsider.ru/science/658543-mertvoe-zhivoe-kak-nachinalas-pandemiya-covid-19/> (дата обращения: 07.03.2024).

обеспечении безопасности населения и территорий. Кроме того, в период конфронтации с Украиной у США и их спутников стоит задача укрепить и усилить свое влияние во всех сферах на международной арене любыми возможными способами [1]. Следует понимать, что, если будет необходимо западным акторам перейти к реализации любой из составляющих или всего комплекса РХБ угроз, это будет сделано в самый неподходящий для Российской Федерации момент.

Это подчеркивает важность разработки и внедрения, эффективных мер предупреждения и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций. Моделирование чрезвычайных ситуаций позволяет оценить риск и ущерб, связанные с РХБ угрозами, и разработать адекватные меры реагирования на такие инциденты. Кроме того, моделирование позволяет планировать и проводить мероприятия по предупреждению и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций заблаговременно, что может значительно уменьшить ущерб и риск для населения и территорий.

Обоснование необходимости разработки автоматизированной системы мониторинга РХБ обстановки

Рассмотренные РХБ угрозы диктуют нашей стране необходимость опережающих действий, основанных на сборе, обработке и анализе информации о РХБ обстановке на территории Российской Федерации и сопредельных государств. Одним из инструментов парирования возникающих угроз может выступить автоматизированная система мониторинга РХБ обстановки на основе ИИ.

Важной способностью систем ИИ является возможность решения неструктурированных и слабо структурированных задач и приведения их к структурированным формам, удобным для алгоритмизации и программирования, поддержки и принятия решений, планирования и управления [2].

О важности технологий ИИ как инструмента будущих военных конфликтов свидетельствует тот факт, что в США постоянно разрабатываются дополнения к «Стратегии национальной безопасности США» по расширению спектра выполняемых задач ИИ в интересах безопасности государства⁵.

Свидетельством активного совершенствования систем ИИ за рубежом служит создание большого количества программных проектов с открытым кодом [3], имеющих двойное назначение, включающие развитие сверточных нейронных сетей [4–8], машинного обучения [8–11] и пр. Вместе с тем, зарубежные специалисты НАТО отмечают, что существуют проблемы по реструктуризации и развитию рассматриваемого направления [12].

Технологии в данной области открывают совершенно новый вектор развития [13], и формируют новые направления с потенциалом фундаментального изменения, в системе РХБ защиты Российской Федерации.

Архитектура автоматизированной системы мониторинга РХБ обстановки с использованием технологий ИИ

Разработка любого программного обеспечения начинается с его архитектуры. Применительно для мониторинга РХБ обстановки она может состоять из следующих модулей:

- модуль исходных данных;
- модуль интеграции в единую систему;
- модуль ИИ;
- модуль интерфейса пользователя;
- модуль базы данных.

Рассмотрев структуру, проведем анализ специфики и функциональности каждого модуля, что позволит сформировать целостное представление о системе и подходах к ее разработке.

В настоящее время существует множество программных решений⁶, которые позволяют собирать и анализировать данные о чрезвычайных ситуациях РХБ характера. Эффективность этих решений определяется, прежде всего, своевременностью поступления той или иной информации, наивысшей эффективностью будут обладать программные решения, осуществляющие анализ информации в режиме реального времени.

Исходя из изложенного, для повышения эффективности обеспечения информационной поддержки принятия решений, а также устойчивого функционирования перспективной автоматизированной системы целесообразно подключение различных информационных слоев.

Основу информационных слоев могут составлять сеть датчиков, размещенных на

⁵ Справка о Стратегии национальной безопасности США (октябрь 2022 г.). URL: https://rdc.grfc.ru/2022/10/usa_national_security_strategy/ (дата обращения: 07.03.2024).

⁶ Автоматизированные системы мониторинга РХБ обстановки. URL: <https://www.rnt.ru/ru/solutions/detail.php?ID=73> (дата обращения: 07.03.2024).

территории Российской Федерации. Датчики должны непрерывно отслеживать параметры окружающей среды. Кроме этого, для повышения эффективности принимаемых решений в предлагаемой информационной системе можно использовать готовые технологические решения по мониторингу СМИ, камер наблюдения, загрязнений атмосферного воздуха («Waki.info»), распространения заболеваний («HealthMap.org»), распространения пожаров (данные спутникового мониторинга), сейсмической активности (данные Европейско-Средиземноморского сейсмологического центра), метеобстановки («VentuSky»), дорожной сети (данные «Росавтодор»), плотности населения (данные demography-map.ru) и пр.

Полученную информацию предлагается передавать на центральный сервер, где она должна обрабатываться и анализироваться с помощью алгоритмов машинного обучения и нейронных сетей.

С помощью библиотеки \$.ajax на сервере необходимо реализовать разработанную циклическую функцию, посылающую запрос к источнику через заданный промежуток времени. После получения ответа предполагается запускать модуль обработки данных, который должен передавать информацию в формате JSON на интерактивную карту и в модуль ИИ.

Важной особенностью работы ИИ в рассматриваемой системе является анализ данных, получаемых из открытых источников информации, что позволит спрогнозировать потенциальные последствия РХБ угроз, и, соответственно, предпринять меры для минимизации ущерба на начальных стадиях развития кризисной ситуации.

Реализация данных технологических решений, возможна при создании модуля ИИ, способного к комплексной обработке и интерпретации информации из различных источников, включая текстовые данные и изображения, который объединяет семантический анализ текста, технологии компьютерного зрения и обученную генеративную языковую модель.

Семантический анализ включает в себя конвейеризацию для дальнейшего выстраивания весов нейронной сети [14]. Так для анализа значимости слов в открытых источниках используется подход, описываемый выражением (1):

$$tf(t, d) = \frac{n_t}{\sum_k n_k}, \quad (1)$$

где n_t – количество слов с t в текстовом документе, а в знаменателе n_k – общее количество слов.

Для более точной классификации необходимо использовать уникальность слова в пределах точной коллекции обрабатываемых данных (2):

$$d_i f(t, D) = \log \frac{|D|}{|\{d_i \in D \mid t \in d_i\}|}, \quad (2)$$

где $|D|$ – количество документов в коллекции;

$|\{d_i \in D \mid t \in d_i\}|$ – количество документов из коллекции D , в которых встречается t (когда $n_t \neq 0$).

Предлагаемый метод обеспечивает высокую точность весов каждого слова даже при низкой частоте их употребления. В рамках развития концепций конвейеризации, направленных на повышение уровня параллелизма в процессе выполнения команд, существуют различные подходы [15–18]. Среди них наиболее популярными являются методы конвейерной и суперскалярной обработки данных.

Суперскалярная обработка данных заключается в наличии нескольких исполнительных устройств внутри процессора, позволяющих одновременно выполнять две и более скалярных операций, т.е. команд обработки пары чисел. Этот метод позволяет дублировать устройства процессора. Составление программ для подобных процессоров не требует никаких специальных усилий, ответственность за параллельное выполнение операций возлагается в основном на аппаратные средства. Схема суперскалярной архитектуры с двумя конвейерами представлена на рисунке 3.

Проблемой, которая ограничивает эффективность суперскалярной обработки, является задержка загрузки данных из памяти. В суперскалярном конвейере результат команды загрузки не может быть использован в том же самом и в следующем такте. Это оз-



Рисунок 3 – Схема суперскалярной архитектуры с двумя конвейерами

(URL: <https://studfile.net/preview/9453184/page:5/>;
дата обращения: 07.03.2024)

начает, что следующие три команды не могут использовать результат команды загрузки без приостановки. Задержка перехода также становится длиной в три команды, поскольку команда перехода должна быть первой в паре команд. Чтобы эффективно использовать параллелизм, доступный на суперскалярной машине, нужны более сложные методы планирования потока команд, используемые компилятором или аппаратными средствами, а также более сложные схемы декодирования команд. Кроме параллелизма на уровне команд существует параллелизм на уровне данных, реализация этого вида параллелизма требует применения многопроцессорной архитектуры.

В этой связи, конвейерная обработка данных является более предпочтительной. Ее принцип подразумевает, что в каждый момент времени процессор работает над различными стадиями выполнения нескольких команд, причем на выполнение каждой стадии выделяются отдельные аппаратные ресурсы. По очередному тактовому импульсу каждая команда в конвейере продвигается на следующую стадию обработки, выполненная команда покидает конвейер, а новая поступает в него.

Рассматриваемая технология позволяет разделить сложную задачу на более мелкие подзадачи, каждая из которых может быть решена отдельным инструментом или моделью. Каждый слой представляет собой обученную модель, состоящую из нескольких нейронов, способных обрабатывать данные при помощи семантического анализа (рисунок 4). Кроме того, конвейерная обработка данных облегчает процесс разработки и тестирования, так как каждый этап может быть проверен отдельно.

Применение конвейеров, управляемых событиями, обеспечивает:

- оптимизацию использования ресурсов, сводя к минимуму затраты, связанные с ручной обработкой данных;
- перемещение данных из одной системы в другую, а также их интеграцию из различных источников;
- гибкость и масштабируемость процесса обработки данных;
- непрерывную обработку данных, а также обработку данных в режиме реального времени, генерируемых устройствами в сети «Интернет»;
- повышение качества данных и точность их анализа для принятия правильного решения.

Анализ видеопотоков с помощью нейронных сетей представляет собой сложную

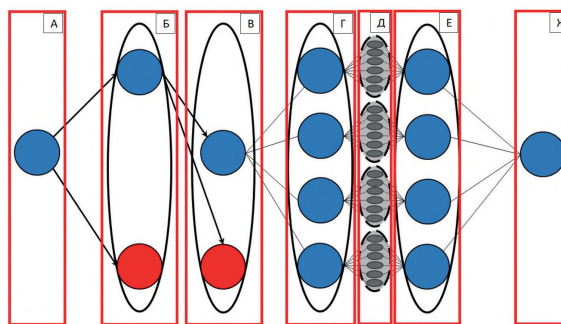


Рисунок 4 – Пример использования конвейерной обработки данных для парсинга новостной информации из открытых источников в интересах войск РХБ защиты (рисунок авторов). А – входной слой (запрос); Б – слой грубого разделения информационных данных; В – слой разделения информационных данных на представляющие интерес для войск РХБ защиты и не представляющие; Г – слой классификации отобранной информации по основным категориям; Д – слой классификации отобранной информации по подкатегориям, входящим в состав основной категории, Е – слой выбора информационного ресурса; Ж – слой вывода найденной информации с ее детальной классификацией

задачу, требующую комплексного подхода к подготовке данных и выбору подходящей архитектуры модели.

Современные исследования в области компьютерного зрения предлагают разнообразные архитектуры глубокого обучения [19], разработанные специально для анализа видеоданных, основные из них представлены в таблице 1.

Исходя из анализа преимуществ и недостатков архитектур наиболее оптимальным для разработки является модель ResNet-50. Глубокая архитектура выбранной модели с 50 слоями и остаточными соединениями позволяет извлекать сложные нелинейные признаки, обеспечивая высокую точность детектирования объектов. При этом, ResNet-50 предлагает хороший компромисс между точностью и скоростью, что особенно важно при работе с видеопотоками, где важна производительность. Выбор данной модели обусловлен также его сходством с передовыми архитектурами обнаружения объектов, такими как Faster R-CNN и RetinaNet, которые используют сверточные сети для извлечения признаков и демонстрируют высокую точность. Гибкость ResNet-50 позволяет интегрировать его в различные модули, а предобученность на ImageNet (база данных изображений) ускоряет процесс обучения. В сравнении с некоторыми моделями, ResNet-50 требует меньше вы-

Таблица 1 – Основные архитектуры глубокого обучения для анализа видеоданных (данные авторов)

Архитектура	Преимущества	Недостатки
R-CNN	Высокая точность (первая модель, заложившая основу для дальнейшего развития обнаружения объектов)	Медленная скорость работы; требует значительных вычислительных ресурсов
Fast R-CNN	Использование сверточных сетей для извлечения признаков, что повышает эффективность нейросети	Медленная скорость; требует значительных вычислительных ресурсов
Faster R-CNN	Скорость и точность значительно выше, чем у R-CNN и Fast R-CNN	Сложная архитектура; требует значительных вычислительных ресурсов
YOLO	Высокая скорость работы	Менее точная, чем Faster R-CNN; трудности с обнаружением маленьких объектов
SSD	Высокая скорость работы	Менее точная, чем Faster R-CNN; трудности с обнаружением маленьких объектов
FPN	Обнаружение объектов разных размеров	Добавляет сложности к используемой модели; не может функционировать самостоятельно
RetinaNet	Высокая точность работы; обнаруживает объекты разных размеров; может работать в режиме реального времени	Сложная архитектура

числительных ресурсов, что делает ее подходящей для устройств с ограниченными возможностями.

Модуль ИИ также должен включать генеративную языковую модель, например, «Deep Seek». Данная модель, должна быть обучена на обширном массиве данных о РХБ обстановке, понимать естественный язык, отвечать на вопросы, предоставлять информацию и рекомендации.

Пользователь может задавать вопросы о текущем состоянии РХБ обстановки в определенном районе, о прогнозах развития ситуации, о необходимых мерах защиты. Система анализирует запрос, используя свои знания и данные датчиков, и формирует понятный и информативный ответ.

Взаимодействие происходит в формате диалога: пользователь может уточнять свои вопросы, просить детализацию или выражать свои сомнения, а система адаптирует свои ответы, учитывая контекст беседы.

Математически это реализовано через представление слов и документов в виде векторов [20]. Слова с похожим значением имеют близкие векторы, что позволяет системе находить релевантную информацию по запросу пользователя. «Deep Seek», благодаря своей архитектуре и обучению, способна генерировать текст, имитируя человеческую речь, делая взаимодействие с системой максимально естественным и эффективным.

Используя метод регрессионного анализа, может быть определена градация зависимости величины рисков от каждого из применяемых мероприятий, при помощи метода парной регрессии. После процедуры масштабирования данных должны быть опре-

делены весовые коэффициенты каждого из мероприятий. Таким образом, определяя вес каждого мероприятия для настройки модели нейронной сети, получается массив входных данных с определенным набором параметров.

В последующем после сбора данных с использованием вышеописанных технологических решений, наступает этап их комплексного анализа и формируется прогноз возможной реализации РХБ угрозы. Варианты возможных сценариев и масштабов, влияющих на экологическую обстановку, на примере распространения загрязняющих веществ, представлены на рисунке 5.

В рамках концепции единого информационного пространства предлагается разработка веб-приложения, представляющего собой интерактивный интерфейс для анализа и реагирования на изменения РХБ обстановки (рисунок 6). Основой приложения станет модульная структура, предоставляющая оператору возможность гибкого переключения между информационными слоями и получения данных в режиме реального времени.

Применение технологий ИИ позволит выйти за рамки простого отображения текущей ситуации, предоставляя инструменты прогнозирования развития событий. При возникновении событий, система будет автоматически генерировать всплывающие окна с анализом обстановки и предлагаемыми вариантами реагирования. В случае потенциальной опасности, оператор получит предупреждение о возможном развитии событий, что позволит принять своевременные меры.

Подобный подход к организации информационного пространства минимизирует

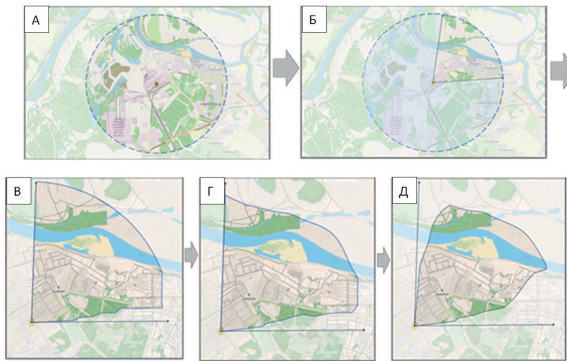


Рисунок 5 – Вариант возможных сценариев и масштабов распространения загрязняющих веществ (рисунок авторов). А – прогноз, учитывающий количество аварийно химически опасных веществ (АХОВ); Б – прогноз, учитывающий количество АХОВ и метеорологические условия; В – прогноз, учитывающий количество АХОВ, метеорологические условия и рельеф местности; Г – прогноз, учитывающий количество АХОВ, метеорологические условия, рельеф и ландшафт местности; Д – прогноз, учитывающий количество АХОВ, метеорологические условия, рельеф местности, ландшафт и инфраструктуру

нагрузку на оператора, обеспечивая простоту использования и повышая эффективность принятия решений. Функционал приложения может быть расширен за счет интеграции дополнительных модулей. Визуализация данных на интерактивных картах, графиках и диаграммах обеспечит наглядное представление информации, а внедрение инструментов моделирования позволит прогнозировать распространение РХБ загрязнений и оценивать возможные последствия. Автоматизация рутинных операций, таких как формирование отчетов, оповещение ответственных лиц и запуск прото-



Рисунок 6 – Вариант интерфейса перспективной автоматизированной системы мониторинга РХБ обстановки (рисунок авторов). А – модуль учетной записи; Б – новостной модуль; В – модуль взаимодействия с федеральными органами исполнительной власти; Г – геоинформационный модуль; Д – модуль управления системой базы данных

колов реагирования, снизит нагрузку на оператора и минимизирует влияние человеческого фактора. Реализация мультипользовательского доступа с разграничением прав обеспечит возможность одновременной работы нескольких операторов, а интеграция обучающих материалов и симуляций позволит повысить квалификацию персонала. В результате, предлагаемое веб-приложение станет эффективным инструментом для анализа и прогнозирования РХБ обстановки, способствуя повышению уровня безопасности и оперативности реагирования на возникающие угрозы.

Ключевым аспектом является обеспечение непрерывности коммуникации, даже при возникновении сбоев в работе связи. В настоящее время решение данной проблемы может быть найдено в использовании систем широкополосной цифровой радиосвязи отечественного производителя (рисунок 7).

Предлагаемая архитектура перспективной системы предполагает создание единой базы данных, наполняемой верифицированной информацией из открытых источников. Применение нейросетевых технологий позволит не только осуществлять поиск по заданным параметрам, но и проводить ретроспективный анализ данных, что существенно упростит исследовательскую деятельность (рисунок 8).

Ключевым преимуществом такой базы данных является обеспечение исследователя актуальной информацией, подкрепленной ссылками на первоисточники. Это исключает необходимость самостоятельного поиска и верификации данных, позволяя сосредоточиться на анализе и интерпретации. Более того, нейросетевые алгоритмы способны выявлять взаимосвязи и закономерности, не-

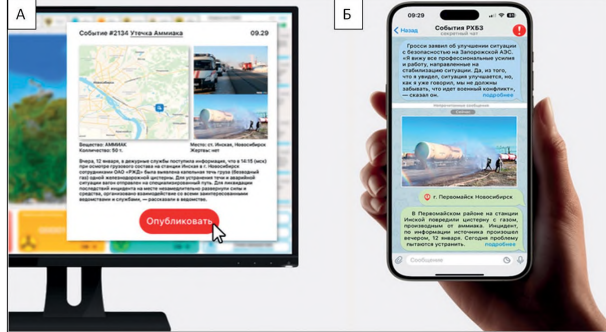
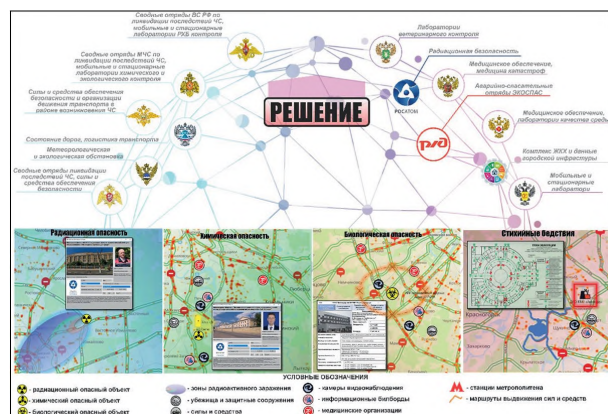


Рисунок 7 – Демонстрация возможностей работы автоматизированной системы через цифровую радиосвязь (рисунок авторов). А – ознакомление оператора с содержанием события и решением, предложенным ИИ, Б – передача информации должностным лицам через цифровую радиосвязь

Для обеспечения эффективного функционирования и дальнейшего развития автоматизированной системы требуется ее интеграции с муниципальными органами, федеральными органами исполнительной власти, научно-исследовательскими институтами и другими организациями, что позволит всем участникам данного экосистемного пространства внести свой вклад в процесс ее эволюции и модернизации (рисунк 9).



5. Предлагаемая архитектура перспективной системы предполагает создание единой базы данных, наполняемой верифицированной информацией из открытых источников. Применение нейросетевых технологий позволит осуществлять поиск по заданным параметрам и проводить ретроспективный анализ данных, что существенно упростит мониторинг РХБ угроз.

Список источников/References

1. Kallenborn Z, Bleek PC. Swarming destruction: drone swarms and chemical, biological, radiological, and nuclear weapons. *The Nonproliferation Review*. 2018;25(5–6):523–43.
<https://doi.org/10.1080/10736700.2018.1546902>
2. Borgonovi F, Calvino F, Criscuolo C, Nania J, Nitschke J, O’Kane L, et al. Emerging trends in AI skill demand across 14 OECD countries. *OECD Artificial Intelligence Papers*. 2023; No. 2, OECD Publ, Paris.
<https://doi.org/10.1787/7c691b9a-en>
3. Filippucci F, Gal P, Jona-Lasinio C, Leandro A, Nicoletti G. The impact of Artificial Intelligence on productivity, distribution and growth: Key mechanisms, initial evidence and policy challenges, *OECD Artificial Intelligence Papers*, 2024; No. 15, OECD Publ, Paris.
<https://doi.org/10.1787/8d900037-en>
4. Guo X, Liu X, Zhu E, Yin J. Deep Clustering with Convolutional Autoencoders. In: Liu D, Xie S, Li Y, Zhao D, El-Alfy ES, Eds. *Neural Information Processing*. Vol. 10635. Cham: Springer; 2017. P. 373–82.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-70096-0_39
5. Vasudevan SK, Pulari SR, Vasudevan S. CNN – Convolutional Neural Networks: A Complete Understanding. In: *Deep Learning*. Chapman and Hall/CRC; 2021. P. 81–120.
<http://doi.org/10.1201/9781003185635-5>.
6. Chuan Z, du y. *Early Identification Methods for Emerging Technologies Based on Weak Signals*. 2022.
<http://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2291140/v1>
7. Ghayoumi M. Deep Convolutional Generative Adversarial Networks (DCGANs). In: *Generative Adversarial Networks in Practice*. New York: Chapman and Hall/CRC; 2023. P. 220–57.
<http://doi.org/10.1201/9781003281344-8>
8. Layton J, Hu F. Attacks on Deep Reinforcement Learning Systems: A Tutorial. In: *AI, Machine Learning and Deep Learning*. CRC Press; 2023. P. 79–82.
<http://doi.org/10.1201/9781003187158-6>
9. Бурков А. *Машинное обучение без лишних слов*. СПб.: Питер; 2020. 192 с.
Burkov A. *Machine learning without further ado*. St. Petersburg: Peter; 2020. 192 p (in Russian).
10. Suh C. Machine Learning Applications. *Convex Optimization for Machine Learning*. Ch. 3. Boston – Delft; 2022. P. 185–328.
<http://doi.org/10.1561/9781638280538.ch3>
11. Thomas P. Trappenberg. Machine learning with sklearn. *Fundamentals of Machine Learning*. 2019. P. 38–65.
<http://doi.org/10.1093/oso/9780198828044.003.0003>
12. Girasa R. Applications of AI and Projections of AI Impact. *Artificial Intelligence as a Disruptive Technology*. Palgrave Macmillan, Cham.; 2020. P. 23–67.
http://doi.org/10.1007/978-3-030-35975-1_2
13. Кондауров РЮ, Ганган ДА. Направления развития перспективного вооружения и средств РХБ защиты с элементами искусственного интеллекта в системе автоматизации управления. *Военная мысль*. 2022;(7):79–85.
Kondaurov RYu, Gangan DA. The Development Trend in Advanced Armaments and Means of Radiation, Chemical and Biological Protection with Artificial Intelligence Elements within the System of Control Automation. *Military Thought*. 2022;(7):79–85 (in Russian).
14. Segev E. How to conduct semantic network analysis. *Semantic Network Analysis in Social Sciences*. 2021. P. 16–31.
<http://doi.org/10.4324/9781003120100-1>
15. Poola L, Aparna P. ‘A Mixed Parallel and Pipelined Efficient Architecture for Intra Prediction Scheme in HEVC’. *IETE Technical Review*. 2022;39(2):244–56.
<https://doi.org/10.1080/02564602.2020.1841686>
16. Li Z. *Pipeline Spatial Data Model*. *Pipeline Spatial Data Modeling and Pipeline WebGIS*. 2020. P. 29–102.
http://doi.org/10.1007/978-3-030-24240-4_3
17. Li Z, Yang L. *Pipeline Real-Time Data, Pipeline SCADA and OPC*. *Pipeline Real-time Data Integration and Pipeline Network Virtual Reality System*. 2021. P. 7–20.
http://doi.org/10.1007/978-3-030-62110-0_2
18. Timm S, Yuan W, Benjamin D. *Scale Tests of the New DUNE Data Pipeline*. *Scale Tests of the New DUNE Data Pipeline*. 2023.
<http://doi.org/10.2172/1988450>
19. Meedeniya D. *Enhancement of Deep Learning Architectures*. *Deep Learning*. 2023. P. 112–46.
<http://doi.org/10.1201/9781003390824-6>

20. Hemanand D, Bhavani NPG, Ayub S, Ahmad MW, Narayanan S, Haldorai A. Multilayer vectorization to develop a deeper image feature learning model. *Automatika*. 2023;64(2):355–64.
<https://doi.org/10.1080/00051144.2022.2157946>

21. Calvino F, Criscuolo C, Dernis H, Samek L. What technologies are at the core of AI?: An exploration based on patent data, *OECD Artificial Intelligence Papers*. 2023. No. 6. OECD Publ, Paris.
<https://doi.org/10.1787/32406765-en/>

Вклад автора / Author contribution

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **С.А. Шаров** – формирование концепции статьи, написание текста рукописи, редактирование статьи, приведение терминологии современным требованиям руководящих документов, окончательное утверждение рукописи для публикации; **Д.С. Батинов** – сбор и анализ сведений об угрозах РХБ характера, редактирование текста рукописи, разработка иллюстративного материала; **М.А. Осипов** – анализ данных научной литературы, написание статьи, критический пересмотр и коррекция текста рукописи; **М.В. Домнин** – проектирование архитектуры серверной части программного продукта, организация маршрутизации и протоколов передачи данных; **С.А. Морозов** – редактирование статьи, приведение терминологии современным требованиям руководящих документов, формулировка выводов; **М.А. Голышев** – сбор и анализ научной литературы, редактирование текста рукописи, разработка иллюстративного материала, формулировка выводов; **Ю.И. Хрипков** – анализ научной литературы на предмет использования существующих математических моделей по обучению искусственного интеллекта; **А.В. Надеин** – выработка требований к архитектуре автоматизированной системы мониторинга РХБ обстановки; **И.В. Чебыкин** – оптимизация нейронной сети для семантического анализа, формирование датасета для классификации текста; **В.Д. Васин** – описание методики подключения к сети датчиков, размещенных в различных точках территории; **М.М. Бец** – иллюстрация материала, разработка web-интерфейса / All authors confirm that their authorship meets the ICMJE criteria. The largest contribution is distributed as follows: **S.A. Sharov** – formation of the concept of the article, writing the text of the manuscript, editing the article, bringing terminology to modern requirements of governing documents, final approval of the manuscript for publication; **D.S. Batinov** – collection and analysis of information about CBR threats, editing the text of the manuscript, developing illustrative material, formulating conclusions; **M.A. Osipov** – analysis of scientific literature data, writing the article, critical revision and correction of the manuscript text; **M.V. Domnin** – designing the architecture of the server part of the software product, organizing routing and data transfer protocols; **S.A. Morozov** – editing of the article, bringing terminology to the modern requirements of the governing documents, formulation of conclusions; **M.A. Golyshev** – collection and analysis of scientific literature, editing the manuscript text, development of illustrative material, formulation of conclusions; **Y.I. Khripkov** – analysis of scientific literature regarding the use of existing mathematical models for training artificial intelligence; **A.V. Nadein** – development of requirements for the architecture of an automated monitoring system for the RCB environment; **I.V. Chebykin** – optimization of a neural network for semantic analysis, generation of a dataset for text classification; **V.D. Vasin** – description of the method of connecting sensors located in various points of the territory to the network; **M.M. Bets** – material illustration, web interface development.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторе/ Author

Федеральное государственное бюджетное учреждение «33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации, 412918, Российская Федерация, п. Шиханы-2, ул. Красноказарменная, д. 1.

Шаров Сергей Андреевич. Начальник отдела, канд. хим. наук.

Батинов Дмитрий Семенович. Младший научный сотрудник отдела.

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.

Осипов Михаил Алексеевич. Докторант, канд. техн. наук.

Домнин Михаил Владимирович. Курсовой офицер-преподаватель.

Морозов Сергей Александрович. Начальник кафедры, канд. пед. наук, профессор.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации, 111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19.

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

Надеин Алексей Владимирович. Научный сотрудник отдела, канд. техн. наук.

Хрипков Юрий Иванович. Ведущий научный сотрудник отдела, доцент, доктор техн. наук.

Войсковая часть 29753, 412918, Российская Федерация, п. Шиханы-2, ул. Краснознаменная, д. 2.

Чебыкин Илья Владимирович. Начальник расчетно-аналитической группы.

Войсковая часть 71432, 412918, Российская Федерация, п. Шиханы-2, ул. Красноказарменная, д. 4.

Васин Василий Дмитриевич. Старший помощник начальника отделения боевой подготовки.

Войсковая часть 19889, 142438, Российская Федерация, Московская область, Ногинский район, д. Большое Буньково.

Бец Михаил Михайлович. Командир учебного взвода.

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

Контактное лицо: Голышев Максим Алексеевич, 27nc_1@mil.ru

Federal State Budgetary Institution “33 Central Research Testing Institute” of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 412918, Russian Federation, Shikhany-2 village, St. Krasnokazarmennaya, 1.

Sergey A. Sharov. Head of Department, Cand. Sci. (Chem.).

Dmitrii S. Badinov. Junior scientific worker.

Federal State Treasury Military Educational Institution of Higher Education “Military Academy of Radiation, Chemical and Biological Defense Named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko” Ministry of Defense of the Russian Federation, 156015, Russian Federation, Kostroma, St. Gorkogo, 16.

Mikhail A. Osipov. Doctoral student, Cand. Sci. (Techn.).

Sergey A. Morozov. Head of the Department, Cand. Sci. (Ped.), Professor.

Mikhail V. Domnin. Course officer-teacher.

Federal State Budgetary Institution “27 Scientific Center Named after Academician N.D. Zelinsky” of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 111024, Russian Federation, Moscow, Entuziastov Proezd, 19.

Maxim A. Golyshev. Deputy Head of Department, Cand. Sci. (Chem.).

Yuri I. Khripkov. Leading researcher, Dr. Sci. (Techn.), Associate Professor.

Aleksey V. Nadein. Scientific employee, Cand. Sci. (Techn.).

The Military Unit 29753, 412918, Russian Federation, Shikhany-2 village, St. Krasnoznamennaya, 2.

Ilya V. Chebykin. Head of the calculation and analytical group.

The Military Unit 71432, 412918, Russian Federation, Shikhany-2, St. Krasnoznamennaya, 4.

Vasily D. Vasin. Senior Assistant to the head of the combat training department.

The Military Unit 19889, 142438, Russian Federation, Moscow region, Noginsky district, Bolshoye Bunkovo village.

Mihail M. Bek. The commander of the training platoon.

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

Contact person: Maxim A. Golyshev; 27nc_1@mil.ru



История развития отечественных средств химической разведки

А.Н. Петухов[✉], В.В. Вильчик, Т.В. Шустикова, Д.М. Имамов, М.С. Молчанов

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

✉ e-mail: varhbz@mil.ru

Представлена краткая история развития средств химической разведки и контроля Рабоче-Крестьянской Красной Армии, Советской и Российской армий, ранее в обобщенном виде не освещалась в открытой печати. **Цель работы** – дать краткую историческую ретроспективу развития средств химической разведки и контроля начиная с Первой мировой войны и до настоящего времени. **Источниковая база.** Открытые документальные источники, содержащие информацию о хронологии принятия на снабжение технических средств химической разведки; технические описания, руководства и инструкции по эксплуатации таких средств, а также открытая научная литература, содержащая информацию об их устройстве и принципах действия. **Метод анализа** – описательный. **Обсуждение результатов.** Важнейшим фактором, оказавшим наибольшее влияние на развитие средств индикации, стало развитие химического оружия. Анализ приведенных данных показал, что в довоенный период использовался исключительно химический метод индикации. С конца 1950-х гг., в войсковых, так и в специальных средствах химической разведки наряду с химическим методом, стал активно использоваться биохимический, что было инициировано появлением фосфорорганических ОВ (ФОВ). Ионизационный метод впервые реализован в начале 1970-х гг., дистанционный метод (лазерное зондирование) – в конце 1980-х гг. Спектрометрия ионной подвижности применяется с конца 1990-х гг., хромато-масс-спектрометрия и ИК-Фурье спектроскопия – с начала 2000-х гг. Технология полупроводниковых сенсоров освоена в серийных приборах с конца 2000-х гг. **Заключение.** В целом развитие отечественных средств индикации идет в канве общемировых тенденций. Одной из современных тенденций является разработка комбинированных устройств на основе сочетания нескольких методов индикации. В настоящее время ведущее положение занимают технические средства дистанционной химической разведки и приборы, принцип действия которых основан на спектрометрии ионной подвижности и хромато-масс-спектрометрии.

Ключевые слова: идентификация химических веществ; история системы средств химической разведки; методы и средства индикации; отравляющее вещество; химическая разведка; химическое оружие.

Библиографическое описание: Петухов АН, Вильчик ВВ, Шустикова ТВ, Имамов ДМ, Молчанов МС. История развития отечественных средств химической разведки. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(1):78–100. EDN:aqsbxt.

<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-78-100>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: нет.

Финансирование: 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.

Поступила 11.07.2023 г. Исправленный вариант 15.03.2024 г. Принята к публикации 27.03.2024 г.

The History of the Development of Domestic Chemical Intelligence Tools

Aleksey N. Petukhov[✉], Vadim V. Vilchik, Tamara V. Shustikova, Dinis M. Imamov, Mikhail S. Molchanov

The Federal State Official Military Educational Establishment of Higher Education "Military Academy of Radiation, Chemical and Biological Defense by name of Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko" (FSOMEHE "MA RCB Defense"),
Gorkogo Street 16, Kostroma, 156015, Russian Federation
✉ e-mail: varhbx@mil.ru

This article is dedicated to the history of the development of chemical reconnaissance and control means of the Workers' and Peasants' Red Army, the Soviet and Russian armies. This plot has never been covered previously in open literature. **The aim of the work** is to give a sketch of the development of chemical reconnaissance and control means from the First World War to the present day. **The source base** - documentary sources containing information about the chronology of acceptance for supply of chemical reconnaissance technical means, technical descriptions, manuals and operating instructions, as well as literature containing information about the design and principles of operation of these means. **The method of analysis** is descriptive. **The discussion of the results.** The most important factor that has influenced the development of means of indication was the development of chemical weapons. An analysis of information sources showed that before the Second World War, exclusively the chemical indication method was used. Since the late 1950s, due to the appearance of the organophosphorus agents, along with the chemical methods of indication, the biochemical methods began to be actively used both in military and in special means of chemical reconnaissance. The ionization method was first implemented in the early 1970s, the remote method (laser sensing) – in the late 1980s. Ion mobility spectrometry has been used since the late 1990s, gas chromatography-mass spectrometry and FT-IR spectroscopy – since the early 2000s. The technology of semiconductor sensors has been used in serial devices since the late 2000s. **Conclusion.** In general, the development of domestic chemical reconnaissance and control means goes in line with global trends. One of the modern trends is the development of combined devices based on a combination of several indication methods. Currently, the leading position is occupied by technical means of remote chemical reconnaissance and instruments, the operating principles of which are based on ion mobility spectrometry.

Keywords: chemical exploration; identification of chemicals; history of the chemical intelligence system; methods and means of indication.

For citation: Petukhov AN, Vilchik VV, Shustikova TV, Imamov DM, Molchanov MS. The History of the Development of Domestic Chemical Intelligence Tools. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(1):78–100. EDN:aqsbxt. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-78-100>

Financial disclosure: The author has no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The Federal State Official Military Educational Establishment of Higher Education "Military Academy of Radiation, Chemical and Biological Defense by name of Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko" of the Ministry of Defence of the Russian Federation.

Received July 11, 2023. Corrected March 15, 2024. Accepted March 27, 2024

Специализированных публикаций, посвященных истории развития отравляющих веществ (ОВ) как в отечественной, так и зарубежной военно-исторической литературе относительно много. При этом, не менее интересной и важной темой является история развития средств противодействия ОВ: их индикации, защиты и дегазации. Данные направления гораздо меньше освещены в от-

крытой литературе, особенно отечественной. В рамках одной публикации можно рассмотреть лишь одну из перечисленных выше областей.

Цель работы – дать краткую историческую ретроспективу развития средств химической разведки и контроля начиная с Первой мировой войны и до настоящего времени.

Источниковая база и методы исследования

Проведен анализ открытых документальных источников, содержащих информацию о хронологии принятия на снабжение технических средств химической разведки, технических описаний, руководств и инструкций по эксплуатации, а также литературы, содержащей информацию об устройстве и принципах действия этих средств.

В ходе исследования решались следующие задачи:

- предложить периодизацию истории развития средств химической разведки и контроля.
- рассмотреть основные причины, определяющие направления развития средств химической разведки и контроля.
- определить основные тенденции развития средств химической разведки и контроля.

Дореволюционный период

Дореволюционный период развития средств химической разведки и контроля совпадает со временем Первой мировой войны. В статье И.В. Рыбальченко [1] отмечается, что первый опыт создания средств индикации ОВ связан с попыткой использования физических методов. Индикационные эффекты, наблюдаемые в этих устройствах, были связаны с изменением цвета пламени (детектор газов Бунзена-Кирхгофа и его аналоги типа «медно-пламенного фонаря-детектора»), температуры (сигнализатор Круга-Фишера-Центнершвера) или электропроводности среды (А.А. Яковкин и П.П. Лазарев) [1]. Общим недостатком данных подходов являлась низкая чувствительность и значительная инерционность создаваемых средств индикации. При этом следует упомянуть, что боевые ОВ времени Первой мировой войны надежно обнаруживались органолептическим методом, а также посредством простых и доступных цветных химических реакций. И.В. Рыбальченко [1] приводит 16 наиболее эффективных индикаторных реакций на обнаружение ОВ периода Первой мировой войны, включая хлор, фосген, дифосген, синильную кислоту, галоидцианы, иприт и люизит.

Упоминание о возможности использования для обнаружения боевых ОВ индикаторных («реактивных») бумажек можно найти в «Кратком руководстве по газовому делу», изданному в 1917 г. в Одессе. В нем указывается, что индикация осуществляется «с помощью заранее заготовленных влажных табличек из полосок разных реактивных бу-



Рисунок 1 – Фронтная вагон-лаборатория
(фотография из архива ФГКВООУВО
«ВА РХБ защиты» Минобороны России)

мажек: лакмусовой, йодкрахмальной, фенолфталеиновой, гваяколовой, палладиевой, анилиновой, с азотнокислым серебром и т.п. По изменению цвета полосок можно судить о характере газа» [2].

Обобщением опыта применения химического оружия на фронтах Первой мировой войны и разработкой действенных мер по укреплению противохимической обороны занимался профессор Н.А. Шилов. Он возглавил разработку фронтных вагон-лабораторий (рисунок 1).

Первые подвижные военно-химические лаборатории в период 1915–1917 гг. накопили обширный опыт по военно-химическому делу в России и стали прообразом современных полевых химических лабораторий. Однако эффективных средств индикации ОВ для массового применения разработано не было. Отдельно можно отметить полевой газоопределитель Прокофьева, предназначенный для обнаружения хлора и фосгена. Он представлял собою стеклянную трубку, в которую, при помощи резиновой груши, засасывался наружный воздух. В трубке, разделенной на две камеры, размещались «реактивные бумажки», изменяющие от воздействия ОВ свой цвет: в одной камере на хлор, а в другой на фосген [3].

Период до появления фосфорорганических ОВ

Второй период истории развития средств индикации значительно более продолжительный. Он начинается в 1920-х гг., после окончания Гражданской войны и стабилизации экономической ситуации. Химическая служба Рабоче-Крестьянской Красной Армии (РККА) создана 13 ноября 1918 г. В числе фун-

даментальных работ, посвященных разработке средств и способов индикации в СССР, можно отметить труды Е.В. Алексеевского [4], И.М. Коренмана [5], В.В. Стромского и И.С. Адамовича [6].

В этом периоде продолжились попытки создать детекторы, работающие на физических принципах. В частности, были созданы камеры теплопроводности – прообраз современного катарометра и детектора на основе ионизационной камеры с радиоактивным источником (прибор Мальзалле 1935 г.), они позволяли обнаруживать пары иприта, фосгена, хлорпикрина и дифенилхлорарсина [1]. Были заложены основы для развития ионизационного метода индикации и спектрометрии ионной подвижности. Однако до окончания Второй мировой войны детекторы, основанные на физических методах индикации, не использовались ни в одной армии мира. Данное обстоятельство можно объяснить относительной технической сложностью массовой реализации рассматриваемого подхода и отсутствием необходимости создания таких средств при наличии более простых способов обнаружения, таких как аналитические реакции.

В 1928 г. в структуре Института химической обороны им. Осоавиахима (ИХО) был сформирован отдел синтеза и анализа ОВ, на базе которого в последующем были созданы отделы радиационной, химической и биологической разведки. За период с 1928 г. до 1941 г.



Рисунок 2 – Малый прибор химика-разведчика (насос-мех) из состава сумки химика-разведчика для работы с индикаторными трубками (фотография из архива ФГКВУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

основными направлениями работы в области индикации ОВ являлись: поиск новых колориметрических методов обнаружения ОВ, а так же разработка методик систематического анализа и индикации ОВ в рамках полевых химических лабораторий.

В эти годы отделом были разработаны сумки химика-разведчика СХР-1, СХР-2, СХР-3 (рисунок 2), химическая автолаборатория АЛ-2 (рисунок 3) и газоопределитель ПГТ-1 [7]. Химическая автолаборатория АЛ-2 (армейское средство химической разведки) предназначалась для определения и анализа ОВ и образцов химического вооружения противника, а также для контроля состояния химического имущества¹. За разработку нового метода определения иприта на основе реактива Т-135, сотрудник отдела Е.П. Быков был награжден Наркомом обороны К.Е. Ворошиловым памятным подарком – серебряными часами [7].

Позднее ИХО был переименован в Научно-исследовательский химический институт (НИХИ РККА). Здесь были разработаны полевые химические лаборатории (ПХЛ), которые размещались на машинах в виде портативных чемоданов и сумок, прибор химической разведки ПХР (ПХР-40) с набором индикаторных трубок для определения всех известных к тому времени ОВ (таблица 1) и устройством для отбора проб ОВ из воздуха и почвы [7].

Кроме того, в предвоенные годы на снабжение РККА поступили газоопределители ПГГ и Г-4 и газоопределитель начсостава ГН [1].

В 1941 г. НИХИ РККА был эвакуирован в г. Ташкент, откуда вернулся в 1943 г. [7].



Рисунок 3 – Химическая автолаборатория АЛ-2 (фотография из архива ФГКВУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

¹ Руководство по работе в химической лаборатории (АЛ-2) обр. 1939 г. М.: Воениздат НКО СССР, 1941. 92 с.

Таблица 1 – Индикаторные трубки прибора химической разведки [8]

Маркировка трубки	Какое отравляющее вещество обнаруживается
Синяя	Фосген и дифосген
Черная	Синильная кислота
Зеленая	Хлорциан
Желтая	Мышьяковистый водород
Белая	Фосген, синильная кислота, иприт, люизит и др. кислые ОВ, мышьяковистый водород
Красная	Иприт и люизит

Отдел синтеза и анализа ОВ в военные годы занимался совершенствованием простых средства индикации. В этот период были разработаны новые образцы приборов химической разведки и индикаторных трубок: ПХР-43, ИТ-9, ИТ-12, ИТ-14. Исследовали возможность их применения на наземных подвижных объектах (химическим разведывательным дозором на мотоцикле, а также в приборе забора проб и индикации ОВ самолетом-истребителем) [7].

В период Великой Отечественной войны на снабжении Красной Армии состояли следующие технические средства химической разведки и полевой индикации: индикаторная коробка ИК, сумки химика-разведчика СХР-3² (СХР-4³), прибор химической разведки ПХР-40, полевая химическая лаборатория ПХЛ. Для определения наличия на местности стойких ОВ имелись индикаторные барабаны ИБ-1 и ИБ-2, индикация ОВ осуществлялась с помощью индикаторных порошков ИП-1 или ИП-2 [9, 10].

Индикаторная коробка являлась простейшим прибором индикации ОВ. Ими снабжались все части и подразделения Сухопутных войск для целей войсковой химической разведки. Индикация ОВ осуществлялась с помощью индикаторной бумаги, смачиваемой перед применением увлажняющей жидкостью [9].

Сумка химика-разведчика СХР-3 предназначалась для обнаружения ОВ в воздухе, на местности и на предметах вооружения и снаряжения, а также для отбора проб ОВ. Ею снабжались химики-разведчики подразделений и частей химической защиты [9].

Прибор химической разведки ПХР-40 предназначался для определения стойких и

нестойких ОВ в воздухе, на местности, предметах вооружения и снаряжения, а также для забора проб земли (снега) и дыма из воздуха. Им снабжались части и подразделения химической защиты [9].

Полевая химическая лаборатория (ПХЛ) [10] являлась средством начальника химической службы (НХС) стрелковой дивизии. Она предназначалась для определения ОВ и ядовитых дымов, отбора проб зараженной почвы, воды, пищевых продуктов (фуража) и исследования их на содержание ОВ и ядов, а также отбора проб дыма и газообразных ОВ из воздуха и их анализа [9].

Для решения более сложных задач химической разведки в распоряжении НХС армии имелась химическая автолаборатория АЛ-2, в штате которой было 3 специалиста, а в химическом управлении (отделе) фронта – химическая вагон-лаборатория. Она представляла собой поезд, состоящий из трех классных и одного товарного вагонов. Штат лаборатории составлял 15 человек. Она предназначалась для систематического наблюдения и изучения, применяемых противником средств нападения и защиты, а также для консультаций общевойсковых начальников и лиц химической службы по вопросам боевого применения химических войск [9].

В ходе войны развитие средств химической разведки шло, главным образом по пути технического и конструктивного улучшения. По-видимому, это объясняется тем, что боевые действия велись без применения химического оружия, а все известные до войны ОВ были учтены в имевшихся средствах индикации.

По окончании Великой Отечественной Войны разработки в области войсковой индикации были продолжены. Появление высокотоксичных фосфорорганических ОВ определило характер и направления развития всей системы технических средств химической разведки и контроля на десятилетия вперед.

Период после появления фосфорорганических ОВ

История развития средств химической разведки и контроля в послевоенный период богаче событиями по сравнению с довоенным этапом, что объясняется более высоким уровнем развития науки и техники.

Совершенствование приборов химической разведки осуществлялось путем модернизации имевшихся на снабжении средств, а

² Инструкция по пользованию сумкой химика-разведчика. (СХР-3). Хим. упр. РККА. М.: Воениздат, 1940. 16 с.

³ Инструкция по пользованию сумкой химика-разведчика (СХР-4). М.: Воен. изд-во, 1942. 31 с.

также путем создания принципиально новых приборов. Прибор химической разведки ПХР-46 был разработан на базе ПХР-40. Введенные в его комплект новые индикаторные трубки позволили определять табун, хлорацетофенон, бромбензилцианид и адамсит. В 1954 г., на снабжение поступил еще более совершенный прибор ПХР-54.

В 1946 г. на снабжение Советской армии приняли переносную полевую химическую лабораторию ПХЛ-46, предназначенную для ведения химической, санитарно-химической и ветеринарно-химической разведок. В 1954 г. она была заменена на ПХЛ-54. Последняя комплектовалась индикаторными трубками не только для обнаружения основных ОВ, но и окиси углерода (ИТ-28), азотистых ипритов (ИТ-13), люизита (ИТ-37), CS (ИТ-30), хлорацетофенона (ИТ-30), адамсита (ИТ-15) и, в более поздних модификациях, трубкой на ВЗ (ранние версии которой маркировались двумя желтыми кольцами).

С 1955 г. вопросы разработки, заказа в промышленности, снабжения и эксплуатации в войсках приборов радиационной и химической разведки и контроля решались Управлением начальника химических войск МО СССР (УНХВ). В связи с этим в июне 1955 г. в составе научно-технического комитета (НТК) был создан отдел технических средств радиационной и химической разведки (5-й отдел). Из других отделов НТК в 5-ый отдел перешли С.А. Нацаренус и Н.К. Карпухин, а из войск прибыл Ф.Е. Горелов. Они, в дальнейшем, и осуществляли руководство разработкой приборов химической разведки [11].

В связи с появлением на вооружении армий западноевропейских государств и США высокотоксичных фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) отдел разрабатывает новое направление исследований по созданию средств индикации этих веществ. Беспрецедентный уровень токсичности ФОВ задал высокие требования к средствам химической разведки и контроля, прежде всего по быстродействию и чувствительности.

В 1956 г. на полигоне в Шиханах была создана лаборатория по испытаниям средств радиационной и химической разведки. Руководителем лаборатории являлся Е.П. Краснюк, а инженером – Е.А. Богданов [7].

В это время разрабатывались, проходили испытания и подготовку к производству новые приборы химической разведки – полуавтоматический прибор химической разведки ППХР (Свердловский завод химреактивов) и автоматический газосигнализатор паров ОВ – ГСП-1 (ОКБ завода «Киевприбор»).

С принятием этих образцов на снабжение была открыта новая страница в развитии средств химической разведки – переход от ручных средств индикации (индикаторные трубки, порошки, бумажки) к автоматическим приборам непрерывного химического контроля [11].

Разработанный и принятый на снабжение в 1950-е годы первый автоматический газосигнализатор ГСП-1, позволявший определять фосфорорганические ОВ, хлорциан, синильную кислоту, фосген и дифосген основывался на химическом методе индикации и обладал недостаточной чувствительностью в отношении фосфорорганических ОВ. Аналогичная аналитическая реакция на ФОВ легла в основу индикаторной трубки ИТ-32, чувствительность которой также была недостаточной [12].

ГСП-1, размещаемый, в том числе, на машинах химической разведки можно считать первым массовым специализированным (не войсковым) прибором химической разведки частей и подразделений радиационной, химической и биологической (РХБ) защиты. В дальнейшем идеи, положенные в основу этого изделия, породили серию ленточных газосигнализаторов-фотоколориметров.

В последующие годы совершенствование приборов химической разведки было ориентировано в направлении повышения чувствительности и автоматизации. В 1956 г. руководством МО СССР была поставлена задача освоения серийного производства автомобильной химической лаборатории АЛ-3 на предприятиях Моссовета. Головным исполнителем определили авторемонтный завод «Аремз-1». С 1957 г. началось серийное производство АЛ-3. Комплект реактивов к автолаборатории (КРАЛ-3) изготавливался на Черкасском заводе химических реактивов [11].

Таким образом, на смену химической автолаборатории АЛ-2 поступила более современная лаборатория АЛ-3, имевшая большие возможности по анализу ОВ в различных пробах. Вместо вагона-лаборатории была создана фронтовая стационарная лаборатория СФИХЛ (стационарная фронтовая исследовательская химическая лаборатория).

С 1946 г. по 1962 г. разработаны:

- первые химические разведывательные машины: химический разведывательный бронетранспортер БТР-40рх (рисунки 4), ГАЗ-69рх (рисунки 5) и БРДМ-рх, созданный на основе бронированной разведывательно-дозорной машины (рисунки 6), производство которого находилось на базе завода «Заря» в г. Дзержинске Горьковской области [11];



Рисунок 4 – Внешний вид БТР-40ХР (фотография из архива ФГКВООУО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 6 – Общий вид разведывательной химической машины БРДМ-рх (фотография из архива ФГКВООУО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 5 – Боевая химическая разведывательная машина ГАЗ-69рх (фотография из архива ФГКВООУО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 7 – Прибор химической разведки ПХР-46 (фотография из архива ФГКВООУО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

- приборы химической разведки ПХР-46 (рисунок 7) и ПХР-54. Новые индикаторные трубки приборов позволяли определять табун, хлорацетофенон, бромбензилцианид и адамсит [13];

- упрощенный прибор индикации (УПИ) который являлся упрощенной версией приборов ПХР-46 и ПХР-54 (рисунок 8);

- полевые химические лаборатории ПХЛ-46, ПХЛ-54, АЛ-3 (разработчики В.Я. Снегирев, Л.В. Бровкин, Е.П. Быков, В.С. Стахорский, А.М. Львов, В.И. Ключевский). За разработку полевой химической лаборатории ПХЛ-54 (рисунок 9) сотрудники отдела В.Я. Снегирев и Л.В. Бровкин в 1956 г. были удостоены Государственной премии [7];

- автоматический газосигнализатор ГСП-1, разработчиками которого являлись П.Д. Балашов, Н.Н. Наговский, Я.П. Костюковский, Л.И. Усова [7] (рисунок 10).

В 1961 г. в составе Научно-исследовательского химического института был создан отдел средств радиационной, химической и



Рисунок 8 – Внешний вид и индикаторные трубки УПИ (фотография из архива ФГКВООУО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

бактериологической разведки (3 отдел), в который вошла лаборатория по испытаниям средств радиационной и химической разведки Шиханского полигона. Начальником отдела был назначен В.С. Стахорский [7].

Таким образом, основой средств индикации ОВ, как и в довоенный период, продолжал оставаться химический метод.



Рисунок 9 – Полевая химическая лаборатория ПХЛ-54 (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 10 – Внешний вид ГСП-1М (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

Однако в связи с принятием на вооружение иностранными государствами высокотоксичных фосфорорганических соединений, подходы к индикации, основанные на данном методе, себя уже не оправдывали, так как от средств индикации требовался совершенно иной уровень чувствительности. Данное обстоятельство послужило толчком к разработке подходов, основанных на биохимическом методе.

Биохимический метод основывался на реакции ингибирования ФОВ ферментов группы холинэстераз. Это ферменты из

класса гидролаз карбоновых кислот, субстратами которых являются сложные эфиры холина с уксусной, пропионовой или масляной кислотой. Для регистрации аналитического эффекта были предложены колориметрические, люминесцентные и электрохимические методы [1]. Данный подход обладал непревзойденным уровнем чувствительности, однако при этом характеризовался относительно низким быстродействием. В СССР он впервые реализован в газосигнализаторе ГСП-11 и индикаторной трубке ИТ-44⁴ из состава ВПХР.

В конце 1960-х гг., в связи с общим сокращением численности Вооруженных Сил, отдел технических средств радиационной и химической разведки (4-ый отдел НТК УНХВ), как и другие отделы НТК, был значительно сокращен. В то время в отделе работали В.И. Соколов (начальник отдела), Н.К. Карпухин и С.В. Савин, служащие Л.И. Усов и Б.И. Березкин [11].

В этот период был разработан и принят на снабжение автоматический газосигнализатор второго поколения ГСП-11 (на смену ГСП-1 и ГСП-1М), основанный на биохимическом методе индикации фосфорорганических отравляющих веществ в малых концентрациях (рисунок 11). Чувствительность ГСП-11, в отличие от ГСП-1(М), полностью соответствовала требованиям по обнаружению ФОВ в воздухе. Газосигнализатор ГСП-11 был включен в комплектацию химических разведывательных машин [11].

В 1960-е гг. был разработан ряд образцов комплексного назначения. Это химические разведывательные машины на базе многоцелевых бронетранспортеров БРДМ, МТ-ЛБ и автомобиля высокой проходимости ГАЗ-69, а также армейская химическая и радиометрическая лаборатория АЛ-4 в унифицированных кузовах КУНГ-2 на шасси автомобиля высокой проходимости ЗИЛ-157К [11].

Разработкой универсальной химической и радиометрической лаборатории, получившей впоследствии наименование АЛ-4 (рисунок 12), занималось специальное

⁴ Определение ФОВ трубкой ИТ-44 было основано на их способности ингибировать фермент холинэстеразу (ХЭ), катализирующий гидролиз бутирилхолинотида в слабощелочной среде до масляной кислоты и холинового спирта. Выделяющаяся кислота изменяла pH реакционной среды, в результате чего наблюдался переход окраски pH-индикатора фенолового красного, входящего в состав индикаторной рецептуры, от малиновой до желтой. Для определения ФОВ в воздухе использовали две индикаторные трубки, одна из которых – контрольная. В опытной трубке, через которую предварительно просасывался анализируемый воздух, при наличии ФОВ происходило ингибирование фермента, что приводило к снижению скорости расщепления субстрата бутирилхолинотида, более медленному изменению pH-среды до кислой и, соответственно, более медленному переходу окраски на наполнителе от малиновой до желтой. В контрольной трубке, где сохранялась каталитическая активность фермента ХЭ, наблюдалось более быстрое изменение окраски pH-индикатора до желтой за счет выделяющейся масляной кислоты (Примечание редакции).



Рисунок 11 – Внешний вид газосигнализатора ГСП-11 (фотография из архива ФГКВУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 12 – Автомобильная радиометрическая и химическая лаборатория АЛ-4М (фотография из архива ФГКВУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

конструкторское бюро (СКБ) Минздрава СССР. От НТК опытно-конструкторские работы курировал Н.К. Карпукhin. Опытный образец и установочная партия из трех машин были изготовлены и испытаны на заводе «Аремз-1». С 1962 г. АЛ-4 была запущена в серийное производство. КРАЛ-4 к ней изготавливался на Черкасском заводе химических реактивов [11].

ВПХР – войсковой прибор химической разведки пришел на смену поздним модификациям ПХР и, хотя оба прибора обладали одинаковыми возможностями – определяли зарин, зоман, VX (ИТ-44), синильную кислоту, хлорциан, фосген, дифосген (ИТ-45) и иприт (ИТ-36), у ВПХР было существенное преимущество – химическая грелка, позволяющая проводить определение ФОВ и иприта при низких температурах (рисунок 13)⁵.



Рисунок 13 – Войсковой прибор химической разведки ВПХР (фотография из архива ФГКВУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 14 – Полуавтоматический прибор химической разведки ППХР (фотография из архива ФГКВУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

Полуавтоматический прибор химической разведки (ППХР) (рисунок 14) по существу являлся автоматизированным ВПХР, в котором ручное просасывание воздуха через индикаторные трубки заменено на механизированное посредством электрического насоса, а также добавлен электроподогрев трубок для работы в зимних условиях⁶.

Позднее, для определения вещества ВЗ приборами ВПХР и ППХР, была разработана индикаторная трубка ИТ-46, маркированная одним коричневым кольцом, кассеты с которой позднее штатно входили в комплектацию газоопределителя ПГО-11.

Основной недостаток биохимического метода обнаружения ФОВ компенсировался применением ионизационного метода индикации, обладающим очень высоким уровнем

⁵ Прибор химической разведки войсковой (ВПХР). ГО.57.00.000 ТО: техническое описание и инструкция по эксплуатации. 1974. 51 с.

⁶ Полуавтоматический прибор химической разведки ППХР № 3973-И: описание и инструкция по эксплуатации, 1973. 130 с.

быстродействия. Этот метод основан на использовании ионизационной камеры атмосферного давления, в которой располагается источник ионизирующего излучения (α -частиц) и электроды, к которым приложено электрическое напряжение. Поток воздуха проходит между электродами и будучи ионизированным создает ионизационный ток, характеристики которого изменяются в зависимости от состава примесей, содержащихся в атмосфере. Конструкция и параметры ионизационной камеры оптимизированы для обеспечения максимальной чувствительности по отношению к ФОВ на фоне типовых мешающих примесей, характерных для полевых условий [1]. Данный метод был впервые массово реализован в СССР в приборе ПРХР. Ионизационный метод существенно уступает биохимическому по чувствительности и обладает относительно невысокой специфичностью.

К середине 1960-х гг. в ряде НИР, проведенных в Военной академии химической защиты (ВАХЗ), в/ч 61469 и промышленности, была показана техническая возможность создания широкодиапазонного рентгенометра и единого прибора радиационной и химической разведки, основанного на ионизационном принципе.

Результаты исследований, полученных в конце 1960-х годов, позволили разработать и принять на снабжение прибор радиационной и химической разведки ПРХР, который важным элементом вошел в системы защиты бронированных объектов от оружия массового поражения (одной из функций прибора было управление исполнительными механизмами средств коллективной защиты)⁷. Разработчик ПРХР – Минский приборостроительный институт [11].

Прибором ПРХР (рисунок 15) оборудовалась бронированная гусеничная техника (танки Т-72, тягачи МТ-ЛБ и т.д.) [14]. Он предназначался для сигнализации и автоматического управления исполнительными механизмами системы коллективной защиты подвижных объектов военной техники. В его состав входил датчик Б-2, принцип действия которого основывался на ионизационном методе индикации, он позволял определять в воздухе пары зарина и зомана в боевых концентрациях с высоким быстродействием (несколько секунд). В это же время для определения VX в капельножидком состоянии был принят комплект индикаторных пленок АП-1 (рисунок 16).

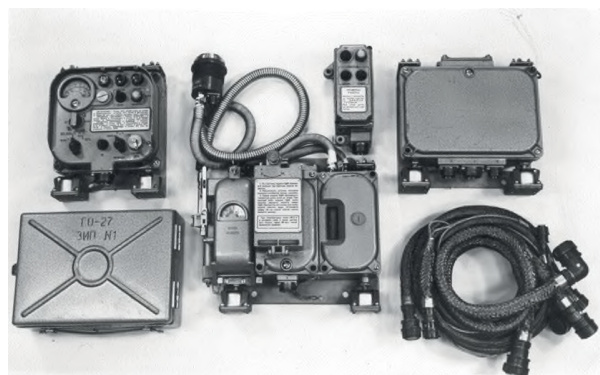


Рисунок 15 – Внешний вид прибора ПРХР
(фотография из архива ФГКВУВО «ВА РХБ защиты»
Минобороны России)



Рисунок 16 – Комплект индикаторных пленок АП-1
(фотография из архива ФГКВУВО «ВА РХБ защиты»
Минобороны России)

Все приборы радиационной и химической разведки до принятия на снабжение проходили тщательные всесторонние испытания в условиях, приближенных к реальному применению ядерного и химического оружия [11].

В 1971 г. в ВАХЗ на базе 3 кафедры создана кафедра войсковой индикации под руководством доктора химических наук, профессора инженер-полковника Чеботарева Олега Владимировича. Кафедра просуществовала 40 лет, вплоть до 2011 г., когда было принято решение о ее реорганизации путем укрупнения структурных подразделений в ВА РХБЗ.

В 1972 г. в войска поступила разведывательная химическая машина РХМ на базе многоцелевого транспортера-тягача легко бронированного МТ-ЛБ (рисунок 17) [13]. В 1980 г. приняли командную версию машины РХМ-К, выполненную на той же базе.

В конце 1970-х гг. на вооружение были приняты новые образцы колесной техники:

⁷ Прибор радиационной и химической разведки ПРХР ГО-27.: техническое описание Tr1.570.000 ГО, 1988. 124 с.



Рисунок 17 – Разведывательная химическая машина РХМ (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 18 – Общий вид УАЗ-469 рх (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

УАЗ-469рх⁸ (рисунок 18) и БРДМ-2рхб на базе бронированной разведывательно-дозорной машины (рисунок 19)⁹.

В 1970-х годах в конструкторском бюро им. М.Л. Миля Министерства авиационной промышленности была начата разработка специализированного вертолета воздушной радиационной и химической разведки на базе многоцелевого вертолета Ми-24. В результате этой работы в 1982 году на вооружение ВС СССР приняли вертолет Ми-24Р.

В конце 1970-х гг. на замену ГСП-11 был принят газосигнализатор ГСА-12 (рисунок 20)¹⁰. Принцип действия прибора так же был основан на проведении биохимической реакции, однако в ней применялся иной



Рисунок 19 – Внешний вид БРДМ-2рхб (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 20 – Внешний вид прибора ГСА-12 с блоками питания БП-26 и БП-127/220 (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

индикаторный реагент, который значительно снизил вероятность ложных срабатываний прибора на атмосферные примеси, встречающиеся в полевых условиях. По той же причине в середине 1980-х гг. взамен индикаторной трубки ИТ-44 была принята трубка ИТ-51. ГСА-12 оборудовались разведывательные химические машины, кроме того он входил в состав комплексного прибора химической разведки КПХР, принятого в 1981 г. КПХР предназначался для установки в стационарные сооружения и помимо высокочувствительного датчика обнаружения паров ОВ типа зарин и VX (ГСА-12) комплектовался быстродействующим датчиком обнаружения этих веществ, а также датчиком обнаружения аэрозолей ОВ типа VX.

⁸ Химическая разведывательная машина УАЗ-469рх: техническое описание и инструкция по эксплуатации, 1967. 55 с.

⁹ Химическая разведывательная машина БРДМ-2рх: техническое описание и инструкция по эксплуатации ГО.1.02.00 ТО № 5830. 1983. 63 с.

¹⁰ Газосигнализатор автоматический ГСА-12: техническое описание и инструкция по эксплуатации Ра 2.840.089 ТО/6181. 1983. 155 с.

В начале 1980-х гг. в войска поступила модернизированная автомобильная радиационная и химическая лаборатория АЛ-4М на шасси ЗИЛ-131. С 1985 г. взамен ПХЛ-54 выпускалась полевая химическая лаборатория ПХЛ-1, исполненная на базе ГАЗ-66 (рисунок 21).

На замену ППХР приняли полуавтоматический газоопределитель ПГО-11 (рисунок 22)¹¹, способный работать от автономного источника электропитания.

В середине 1980-х гг. на снабжение поступил первый войсковой газосигнализатор ГСА-1 для определения паров ФОВ (рисунок 23). Принцип действия прибора основывался на ионизационном методе



Рисунок 21 – Внешний вид автолаборатории ПХЛ-1 (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 22 – Газоопределитель полуавтоматический ПГО-11 (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 23 – Внешний вид сигнализатора ГСА-1 (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

индикации. Газосигнализатор также комплектовался источником автономного питания.

В 1980-е гг. на вооружение приняли машины РХБ разведки на базе гусеничного малогабаритного бронированного транспорта-тягача ГТ-МУ для применения в районах Крайнего севера и Дальнего Востока – РХМ-С, затем РХМ-2С, который также использовался воздушно-десантными войсками (рисунок 24), а в 1990 г. – РХМ-2С-01 (на основе ГТ-МУ-1).



Рисунок 24 – Внешний вид РХМ-2 (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

¹¹ Газоопределитель полуавтоматический ПГО-11. Техническое описание и инструкция по эксплуатации, 1988. 42 с.

В 1991 г. в войска поступил комплекс приборов химической разведки КПХР-2, выпускавшийся в стационарном и бортовом исполнении. Первый предназначался для оснащения специальных фортификационных сооружений, второй – для оборудования разведывательных химических машин и вертолетов. В его состав входили газосигнализаторы автоматические ГСА-21Б и ГСА-12, а также сигнализатор аэрозолей автоматический СА-11Б.

В 1990 г. на замену ГСА-12 был принят ГСА-13, который не имел принципиальных конструктивных отличий от предшественника, но обладал более высоким быстродействием при несколько сниженных значениях чувствительности¹².

Существенно повысить оперативность обнаружения облаков ОВ и обеспечить заблаговременное оповещение об угрозе поражения позволяет применение приборов на основе дистанционных методов индикации. Такие методы можно разделить на две группы – активные и пассивные. В случае активных методов производится зондирование атмосферы лазерным излучением с последующей регистрацией обратного, отраженного или рассеянного молекулами определяемого вещества излучения (т.н. лазерная локация). При пассивных методах регистрируется собственная тепловая эмиссия молекул. В конце 1980-х гг. в войска поступил комплекс наземной дистанционной химической разведки КДХР-1Н (рисунок 25) [11], принцип действия которого основан на активной локации. Пас-



Рисунок 25 – Комплекс наземной дистанционной химической разведки КДХР-1Н «Даль» (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 26 – Общий вид РХМ-4 в походном положении (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

сивный метод в Советском Союзе впервые реализован в приборе химической разведки дистанционного действия ПХРДД-1 в конце 1990-х, им дооснастили КДХР-1Н.

В начале 1990-х гг., взамен БРДМ-2рх и БРДМ-2рхб, на вооружение поступила машина РХБ разведки на базе БТР-80 – РХМ-4¹³ (рисунок 26).

Постсоветский период

Сложная экономическая ситуация в стране, не помешала работам по совершенствованию приборной базы системы средств химической разведки. Разработки в этой области курировал 2-ой отдел средств РХБ разведки НТК. В частности, при участии И.Г. Коротеева был принят на снабжение войсковой лабораторный комплекс АЛ-5 на базовом шасси КамАЗ-4310с, также под его руководством разработаны приборы ГСА-2, ГСА-14 и КПХР-3 [11].

В середине 1990-х гг. на замену ГСА-1 приняли ГСА-2 (рисунок 27), способный передавать сигнал о химическом заражении по радиоканалу.

На замену ПРХР поступил малогабаритный приборный комплекс управления и контроля для системы защиты танков, БМП и базовых шасси от оружия массового поражения ПКУЗ-1¹⁴ (в более поздней модификации ПКУЗ-1А)¹⁵ (рисунок 28), в состав которого входил газосигнализатор ОВ вероятного противника ПКУЗ-1-2, основанный на ионизационном методе индикации.

В конце 1990-х гг. в войска поступил ряд простейших средств химического контроля. Это индивидуальное средство химического

¹² Газосигнализатор автоматический ГСА-13: техническое описание и инструкция по эксплуатации Ра 2.840.189 ТО, 1990. 62 с.

¹³ Машина РХМ-4: техническое описание и инструкция по эксплуатации, 1988. 118 с.

¹⁴ Газосигнализатор ПКУЗ-1-2: техническое описание ГС.2.840.002 ТО, 1988. 57 с.

¹⁵ Приборный комплекс ПКУЗ-1А: руководство по эксплуатации АЕД1.570.001 РЭ, 2008. 89с.



Рисунок 27 – Внешний вид ГСА-2 (фотография из архива ФГКВУОВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 28 – Внешний вид ПКУЗ-1А (фотография из архива ФГКВУОВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

контроля ИСХК (рисунок 29), позволявшее обнаруживать ФОВ с помощью всех видов протитовгазов, войсковой индивидуальный комплект химического контроля ВИКХК (рисунок 30), а также, на замену пленки АП-1 – комплект химического контроля КХК-2, представлявший собой набор индикаторных бумаг для обнаружения аэрозоля и капель ФОВ (рисунок 31) [11].

Развитие науки и технологии способствовало внедрению в войсковую индикацию новых физико-химических методов.

Ранее отмечалось, что ионизационный метод индикации при высоком уровне быстродействия характеризуется относительно низкой специфичностью. Дальнейшее его совершенствование привело к появлению нового подхода к индикации ОВ, названному спектрометрией ионной подвижности, который позволил существенно повысить специфичность. Приборы, основанные на



Рисунок 29 – Индивидуальное средство химического контроля (ИСХК) (фотография из архива ФГКВУОВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 30 – Войсковой индивидуальный комплект химического контроля (фотография из архива ФГКВУОВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 31 – Комплект химического контроля (КХК-2) (фотография из архива ФГКВУОВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

этом методе, также имеют в своем составе ионизационную камеру с источником ионизирующего излучения (обычно это β -источник), а получаемые ионы затем перемещаются (дрейфуют) по ион-дрейфовой трубке в приложенном вдоль ее оси постоянном электрическом поле в направлении коллекторного электрода. Ионы, обладающие разной подвижностью, двигаются с различными скоростями, в результате чего происходит их разделение на группы. Таким образом они в разное время достигают коллекторного электрода и поочередно разряжаются на нем индуцируя появление электрического тока, который и регистрируется прибором. Ионный ток как функция времени дрейфа представляет собой спектр подвижности ионов, который позволяет распознать вещества. Первые серийные приборы данного типа были созданы в 1980-х гг., в частности портативный прибор Chemical Agent Monitor (CAM) (Великобритания, 1984), который применялся для групповой индикации ОВ [1]. В Российской Федерации данный метод впервые реализован в многоцелевом сигнализаторе паров ОВ и СДЯВ (сильно действующих ядовитых веществ) (ГС)¹⁶ из состава комплекта приборов химической разведки КПХР-3 (принят взамен КПХР-2Б в 1998 г.). Помимо газосигнализатора в состав комплекта входит сигнализатор аэрозолей VX (CA)¹⁷ (рисунок 32).

Для укомплектования РХМ-4 поступили газосигнализаторы ГСА-14 (рисунок 33) (комбинированный прибор, имевший низкое последствие, поскольку сочетал в себе иони-



Рисунок 32 – Комплекс наземной дистанционной химической разведки КДХР-1Н «Даль» (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

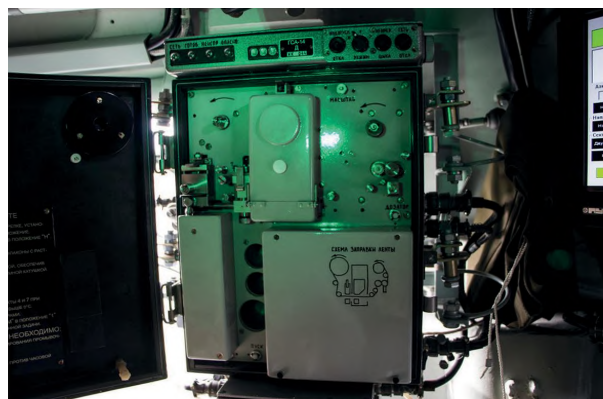


Рисунок 33 – Комплекс наземной дистанционной химической разведки КДХР-1Н «Даль» (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

зационную камеру и биохимический газосигнализатор ленточного типа¹⁸) и КПХР-3. КДХР-1Н доукомплектовали первым пассивным дистанционным прибором химической разведки – ПХРДД-1 (рисунок 34).

На замену Ми-24Р в 1997 г. приняли вертолет автоматизированной радиационной, химической и биологической разведки Ми-24РА.

Следует отметить явную тенденцию в направлении разработки комбинированных приборов, сочетающих в себе несколько методов индикации, которая сохраняется до настоящего времени. Также стала активно осваиваться ниша дистанционных приборов химической разведки.

В начале 2000-х гг. на снабжение поступили: войсковой газосигнализатор ГСА-3 (рисунок 35) (комбинированный прибор, сочетающий ионизационный и электрохимический методы индикации¹⁹), хромато-масс-спектрометр бортовой (ХМСБ) (рисунок 36) – первый мобильный хромато-масс-спектрометр, предназначенный для оснащения полевых лабораторий и плоские индикаторные элементы ИПЭ (рисунок 37) в качестве альтернативы индикаторным трубкам ВПХР.

Несколько позже взамен ГСА-3 на снабжение поступил комплект приборов для войскового оповещения о радиоактивном и химическом заражении КП-РХ, в состав которого входил прибор радиационного и химического контроля ГСА-3М.

¹⁶ КПХР-3. Газосигнализатор ГС: руководство по эксплуатации 5И1.550.084 РЭ1, 1997. 97 с.

¹⁷ Сигнализатор аэрозолей: техническое описание ГЯ.2.840.012 ТО. 1997. 31 с.

¹⁸ Газосигнализатор автоматический ГСА-14 : руководство по эксплуатации 5И1.550.081 РЭ, 2004. 140 с.

¹⁹ Газосигнализатор ГСА-3: руководство по эксплуатации НЛПК/413445/004 РЭ. 48 с.



Рисунок 34 – Внешний вид прибора химической разведки дистанционного действия ПХРДД-1
(URL:<http://www.vitalyukuzmin.net/Military/RKhBZ-Troops/i-fH3XZQC/>; дата обращения:19.11.2023 г.)



Рисунок 36 – Аналитический блок МХМС на амортизационной платформе и ПЭВМ (фотография из архива ФГКВООУ «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 35 – Внешний вид ГСА-3 (фотография из архива ФГКВООУ «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 37 – Индикаторные плоские элементы (фотография из архива ФГКВООУ «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

В 2003 г., взамен РХМ-2С, на вооружение поступила разведывательная химическая машина для воздушно-десантных войск РХМ-5 на базе БМД-3, которую в 2017 г. сменила РХМ-5М на основе базового шасси БТР-МДМ.

В середине 2000-х гг. приняли на вооружение РХМ-6²⁰ (рисунок 38), оснащенную прибором химической разведки дистанционного действия ПХРДД-2²¹, представлявшим собой устройство пассивного типа на основе ИК-Фурье (инфракрасной) спектроскопии [15], (рисунок 39). Тогда же в войска поступил комплекс лазерной наземной дистанционной, радиационной, химической и биоло-

гической разведки КЛН-РХБР (рисунок 40) на базе КамАЗ-6350 (взамен КДХР-1Н). В тот же период на вооружение приняли машину выявления и контроля радиационной и химической обстановки РХМ-7, выполненную на базовом шасси танка Т-72Б.

С 2008 г. в войсках появилась полевая химическая, биологическая и радиометрическая лаборатория дивизионного звена ПХЛ-2 (рисунок 41) на базе КамАЗ-6350, оснащенная ХМСБ, КПХР-3 и прибором газового контроля универсальным УПГК-ЛИМБ-СИ²². Она поступила на замену полевых лабораторных комплексов ПХЛ-1 и АЛ-5. В 2006 г.

²⁰ Машина РХМ-6: техническое описание и инструкция по эксплуатации. 2007. 131 с.

²¹ Прибор химической разведки ПХРДД-2. ГО.2.85.00: руководство по эксплуатации ТУФН.201159.001 РЭ № 005. 2006. 54 с.

²² Прибор газового контроля универсальный УПГК-ЛИМБ: руководство по эксплуатации ИМЛ.09.00.00.000 РЭ. 2003. 34 с.



Рисунок 38 – Общий вид РХМ-6 (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 39 – Внешний вид ПХРДД-2 (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России) [32]



Рисунок 40 – Внешний вид многоцелевого подвижного комплекса дистанционной РХБ разведки КЛН-РХБР (фотография из архива ФГКВООУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

приняли лабораторию радиометрическую и химическую автомобильную АЛ-4К на базовом шасси КАМАЗ-4350.

Ближе к концу 2000-х гг. на снабжение поступили: ПХРДД-3²³ (рисунок 42) – первый войсковой дистанционный прибор [16], принцип действия которого аналогичен ПХРДД-2, а также газосигнализатор общевойсковой автоматический ГСА-4²⁴ (рисунок 43) – первое устройство индикации на основе полупроводниковых сенсоров (взамен ГСА-3).

Для проведения химического контроля зараженности поверхностей вооружения и военной техники отравляющими веществами с целью определения необходимости проведения специальной обработки был разработан общевойсковой газосигнализатор ГСА-5 [17] (рисунок 44), принцип действия которого основан на спектрометрии ионной подвижности²⁵.

В последние годы на вооружение приняты разведывательные химические машины РХМ-8 на базе ГАЗ-233114 «Тигр-М» (рисунок 45) и РХМ-9 на базе КАМАЗ-63969 «Тайфун-К» (рисунок 46), оснащенные газосигнализаторами ГС-Б, ГС-Н, сигнализатором аэрозолей бортовым (СА-Б), а также прибором дистанционного действия панорамного типа ПХРДД-4 [18]. Кроме того, РХМ-9 укомплектовывается хромато-масс-спектрометром бортовым (ХМС-Б).

Газосигнализатор автоматический бортовой (ГС-Б)²⁶ и газосигнализатор автоматический носимый (ГС-Н)²⁷ функционируют на основе метода спектрометрии ионной подвижности. Прибор химической разведки дистанционного действия ПХРДД-4 представляет собой ИК-Фурье спектро радиометр панорамного типа. К настоящему времени завершена разработка первого войскового панорамного прибора химической разведки дистанционного действия ПХРДД-5.

Также для оснащения машин химической разведки на снабжение поступил комплекс химического контроля автоматизированный (КХКА), представляющий собой бортовой хромато-масс-спектрометр, оснащенный устройством отбора воздушных, жидких и твердых проб.

²³ Прибор химической разведки ПХРДД-3. ГО.1.26.10: руководство по эксплуатации ЦПКЖ201159.001 РЭ. 2007. 86 с.

²⁴ Газосигнализатор ГСА-4: руководство по эксплуатации ИСУЯ.413213.002 РЭ. 2009. 29 с.

²⁵ Газосигнализатор автоматический общевойсковой ГСА-5: руководство по эксплуатации ИЮВТ.413542.001 РЭ. 2014. 131 с.

²⁶ Газосигнализатор ГС-Б: Руководство по эксплуатации ИЮВТ.413442.019РЭ. 2019. 55 с.

²⁷ Газосигнализатор ГС-Н : Руководство по эксплуатации ИЮВТ.413442.018РЭ.2019. 56 с.



Рисунок 41 – Внешний вид ПХЛ-2 (фотография из архива ФГКВОУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 44 – Общий вид ГСА-5 (фотография из архива ФГКВОУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 42 – Прибор химической разведки дистанционного действия ПХРДД-3 (фотография из архива ФГКВОУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 45 – Разведывательная химическая машина РХМ-8 (фотография из архива ФГКВОУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 43 – Газосигнализатор автоматический ГСА-4 (фотография из архива ФГКВОУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)



Рисунок 46 – Разведывательная химическая машина РХМ-9 (фотография из архива ФГКВОУВО «ВА РХБ защиты» Минобороны России)

Следует отметить, что постсоветский этап истории развития средств химической разведки отличается наибольшим разнообразием реализованных методов индикации и принятых на снабжение образцов, а также высоким техническим уровнем их исполнения. Это можно связать как с ростом общего уровня научного и технического

развития в мире, так и с научно-производственной базой, заложенной в советский период.

Хронология появления в войсках средств химической разведки и контроля, полевых химических лабораторий и разведывательных химических машин отражена в таблице 2.

Таблица 2 – Хронология принятия на снабжение (вооружение) средств химической разведки и контроля, полевых химических лабораторий и разведывательных химических машин (данные авторов)

Название	Дата принятия (год)	Метод индикации (для приборов)/оснащение приборами химической разведки (для машин)
АЛ-2	1939 г.	химический
СХР-3	1940 г.	химический
ПХР-40	1940 г.	химический
СХР-4	1942 г.	химический
ПХР-43	1943 г.	химический
ПХР-46	1946 г.	химический
ПХЛ-46	1946 г.	химический
ПХР-54	1954 г.	химический
УПИ	1950-е	химический
ПХЛ-54	1954 г.	химический
ИТ-13-37	1956 г.	химический (люизит и азотистый иприт)
ИТ-15-30	1956 г.	химический (адамсит и хлорацетофенон)
ИТ-45	1957 г.	химический (фосген, дифосген и синильная кислота, хлорциан)
ГСП-1	10.10.1957 г.	химический
АЛ-3	1957 г.	химический
БТР-40ХР	1958 г.	ГСП-1; ПХР-54; КПО-1
ИТ-44	19.11.1959 г.	биохимический (ОВ типа зарин и зоман)
БРДМ-рх	23.01.1960 г.	ГСП-1; ПХР-54; КПО-1
ГАЗ-69рх	26.06.1962 г.	ГСП-11; ППХР; ПХР-54; КПО-1
ППХР	31.03.1962 г.	химический/биохимический
ВПХР	26.10.1963 г.	химический/биохимический
АЛ-4	22.07.1965 г.	химический/биохимический
ГСП-11	23.08.1965 г.	биохимический
БРДМ-2рх	05.07.1968 г.	ГСП-11, ППХР, ВПХР, КПО-1
ПРХР	06.07.1972 г.	ионизационный
РХМ	03.03.1972 г.	ГСП-11; ППХР; ВПХР; КПО-1
АП-1	30.03.1973 г.	химический
ИТ-46	30.03.1973 г.	химический (ОВ типа «ВЗ»)
КРПП	10.03.1976 г.	ГСП-11, ВПХР
ИТ-47	08.09.1977 г.	химический (СS)
ГСА-12	23.12.1979 г.	биохимический
УАЗ-469рх	ноябрь 1979 г.	ГСП-11 (ГСА-12); ППХР; ВПХР; КПО-1
БРДМ-2рхб	15.07.1979 г.	ГСП-11 (ГСА-12); ВПХР; КПО-1
РХМ-К	21.01.1980 г.	ПРХР, ВПХР, КПО-1
ПГО-11	15.04.1981 г.	химический/биохимический
КПХР	25.04.1981 г.	биохимический
АЛ-4М	26.06.1981 г.	химический/биохимический
ИТ-48	21.10.1982 г.	химический (ОВ типа «CR»)
ИТ-49	04.11.1983 г.	химический (ОВ типа «CS»)
РХМ-С	19.07.1983 г.	ВПХР, ГСА-12, КПО-1
РХМ-2С	14.01.1984 г.	ГСА-12; ППХР; ПРХР; ВПХР; КПО-1
ПХЛ-1	07.04.1985 г.	химический/биохимический
ГСА-1	02.05.1985 г.	ионизационный
ИТ-51	26.09.1985 г.	биохимический (ОВ типа зарин, зоман и VX)
ПХЛ-54М	1988 г.	биохимический/химический
КДХР-1Н	23.12.1989 г.	дистанционный активный ГСА-12; ПГО-11; КПО-1
ГСА13	1990 г.	биохимический
РХМ-4(01)	22.09.1990 г.	ГСА-12(ГСА-13); ПГО-11; ВПХР; КПО-1
РХМ-2С-01	17.09.1990 г.	ПРХР, ГСА-12, ВПХР, ППХР, КПО-1

Продолжение таблицы 2

Название	Дата принятия (год)	Метод индикации (для приборов)/оснащение приборами химической разведки (для машин)
ГСА-13	01.03.1990 г.	биохимический
КПХР-2С	30.11.1991 г.	биохимический, сенсор
КПХР-2Б	30.11.1991 г.	биохимический, сенсор
ПКУЗ-1	16.08.1992 г.	ионизационный
АЛ-5	24.08.1994 г.	хроматография, масс-спектрометрия, химический/биохимический
ГСА-2	21.11.1996 г.	ионизационный
КХК-2	27.02.1997 г.	химический
ИСХК	27.02.1997 г.	биохимический
МИ-24РА	21.10.1997 г.	ГСА-13, КПХР-2Б, ГСА-1, ПГО-11
ВИКХК	17.07.1998 г.	химический/биохимический
ГСА-14	17.07.1998 г.	ионизационный/биохимический
КПХР-3	26.12.1998 г.	спектрометрия ионной подвижности/сенсор
ПХРДД-1	14.08.1998 г.	дистанционный пассивный
ГСА-3	04.01.2001 г.	ионизационный/электрохимический
МХР	26.07.2001 г.	ВПХР, УПГК, ГСА-1, ПГО-11
ХМСБ	18.09.2002 г.	хромато-масс-спектрометр
ИПЭ	28.10.2003 г.	химический/биохимический
РХМ-5	19.06.2003 г.	ГСА-14Б, КПХР-3, ГСА-2, ВПХР
ПХРДД-2	18.02.2004 г.	дистанционный пассивный
КП-РХ	23.03.2005 г.	ГСА-3М, ПХРК
РХМ-7	23.03.2005 г.	КПХР-3, ВПХР
РХМ-6	10.08.2006 г.	ГСА-14Б; ПХРДД-2Б; ВПХР; КПХР-3; КПО-1
АЛ-4К	28.10.2006 г.	химический/биохимический
КРПП-К	28.10.2006 г.	ГСА-12, ВПХР
КЛН-РХБР	10.08.2006 г.	дистанционный активный
ГСА-5	2007 г.	спектрометрия ионной подвижности
ПХЛ-2	08.04.2008 г.	ХМСБ, УПГК, КПХР-3, ВПХР, ВИКХК
ГСА-4	08.04.2008 г.	электрохимический сенсор
ПХРДД-3	2010 г.	дистанционный пассивный
ИТ-52	2014 г.	биохимический
КХКА	2015 г.	хромато-масс-спектрометр
ПХРДД-4	2017 г.	дистанционный пассивный
РХМ-5М	2017 г.	КПХР-3, ВПХР, ПХРДД-3,
ВПХР-2М	02.10.2019 г.	химический/биохимический
РХМ-8	30.06.2021 г.	ГС-Б, ГС-Н, СА-Б, ПХРДД-4
РХМ-9	14.01.2022 г.	ГС-Б, ГС-Н, СА-Б, ПХРДД-4, ХМС-Б
ПХРДД-5	пока не принят	дистанционный пассивный панорамного типа
<i>Примечание.</i> Средства химической разведки войск РХБ защиты (химических войск, химической службы) выделены серым фоном, войсковые средства химической разведки – на белом фоне.		

В настоящее время доминирующее положение занимают средства химической разведки, основанные на физико-химических методах анализа: спектрометрии ионной подвижности (газосигнализаторы ГС-Б, ГС-Н), хромато-масс-спектрометрии (ХМС-Б) и ИК-Фурье спектроскопии, реализованной в приборах дистанционного действия панорамного типа (ПХРДД-4). Химический

и биохимический метод остался в нише простейших средств индикации, но, вероятно, в дальнейшем будет вытеснен технологией химических и биохимических сенсоров.

В 2000-х гг. упор делали на развитие дистанционных средств химической разведки, совершенствование войсковых газосигнализаторов и оснащение полевых химических

лабораторий универсальными приборами, определяющими широкий спектр химических веществ.

В 2010-е гг. в состав специального оборудования машин химической разведки включили приборы химической разведки дистанционного действия панорамного типа.

В настоящее время наблюдается тренд на универсализацию технического оснащения машин химической разведки: они комплектуются хромато-масс-спектрометрами (ранее применялись только в составе полевых химических лабораторий) и спектрометрами ионной подвижности (как возимыми, так и выносными). В ближайшее время на снабжение поступит первый войсковой прибор химической разведки дистанционного действия панорамного типа.

За рубежом также распространены устройства, в которых реализован метод спектрометрии ионной подвижности (JCAD SLA, JUNO (США), ChemProX (Финляндия)) и масс-спектрометрии (M908 (США)) [19].

Кроме того, там наблюдается тенденция разработки компактных устройств для личного пользования, основанных на различных аналитических методах. В частности, портативные приборы на основе инфракрасной спектроскопии – HazMatID Elite (Великобритания) и спектроскопии комбинационного рассеяния света – ACE-ID (Smiths Detection), Progeny ResQ и ResQ COL (Rigaku Analytical Devices), Resolve (Cobalt). Биохимический метод индикации реализован в спрее-индикаторе Agentase C2 фирмы FLIR Systems (США) который позволяет выявлять ОБ на различных поверхностях даже в следовых количествах [19].

К комбинированным системам, объединяющим преимущества различных методов индикации можно отнести прибор химического контроля Gemini (Thermo Scientific, США), в котором используются: инфракрасная спектроскопия с Фурье преобразованием и спектроскопия комбинационного рассеяния света; а также портативный хромато-масс-спектрометр Griffin G510 (FLIR Systems), комбинирующий методы газовой хроматографии и масс-спектрометрии [19].

Среди современных западных средств дистанционного обнаружения ОБ можно выделить следующие: прибор JSLSCAD (США), мобильную систему iMCAD, комплекс химической разведки Second Sight (Франция), газосигнализатор RAPIDplus (США), систему обнаружения опасных химических веществ PORTHOS (США), а также активный лидар Falcon 4G (Словакия) [19]. Первые четыре устройства относятся к приборам пассивного типа, регистрирующим инфракрасное излучение, как и изделия линейки ПХРДД. Лидар использует перенастраиваемые углекислотные лазеры.

Заключение

В целом развитие отечественных средств индикации ОБ идет в канве общемировых тенденций. Одной из современных тенденций является разработка комбинированных устройств на основе сочетания нескольких методов индикации. В настоящее время ведущее положение занимают технические средства дистанционной химической разведки и приборы, принцип действия которых основан на спектрометрии ионной подвижности и хромато-масс-спектрометрии.

Список источников/References

1. Рыбальченко ИВ. Идентификация токсичных химикатов. Журнал Российского химического общества им. Д.И. Менделеева. 2002;46(4):64–70.
Rybalchenko I.V. Identification of toxic chemicals. Journal of Russian Chemical Society named after Mendeleev. 2002;46(4):64–70.
2. Краушанов СН. Химия удушливых газов. Краткое руководство для инструкторов и монтеров по газовому делу. Вып.1. Одесса. 1917.
Kraushanov S.N. The Chemistry of Suffocating Gases. A Short Guide for Instructors and Fitters in the Gas Business. Issue 1. Odessa: 1917 (in Russian).
3. Авиновский ЯЛ. Химическая война и оборона СССР. М.; 1927.
Avinovitsky Ya L. Chemical warfare and defense of the USSR. Moscow; 1927 (in Russian).
4. Алексеевский ЕВ. Аналитическая химия отравляющих веществ. М.; 1933.
5. Alekseevsky EV. Analytical chemistry of toxic substances. Moscow; 1993 (in Russian).
6. Коренман ИМ. Индикация боевых отравляющих веществ. Горький; 1942.
Korenman IM. Indication of chemical warfare agents. Gorky; 1942 (in Russian).
7. Стромский ВВ, Адамович ИС. Индикация БОВ. М.; 1939.
Stromsky VV, Adamovich IS. Indication of chemical warfare agents. Moscow; 1939 (in Russian).
8. Старков ЕГ, Ковтун ВА, Полищук ИП, Смирнов АМ, Колесников ВФ, Борисов ЮИ и др. Войска радиационной, химической и биологической защиты 100 лет. Военно-исторический очерк, посвященный сто-

летию со дня образования войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации. М.; 2018.

Starkov EG, Kovtun VA, Polishchuk IP, Smirnov AM, Kolesnikov VF, Borisov YuI, et al. *The Troops of Radiation, Chemical and Biological Protection are 100 Years Old. Military-Historical Essay Dedicated to the Centenary of the Formation of the Radiation, Chemical and Biological Protection Troops of the Armed Forces of the Russian Federation.* Moscow; 2018 (in Russian).

9. Кнунянц ИЛ, Соборовский ЛЗ. *Технические средства индикации боевых отравляющих веществ.* М.; 1943.

Knunyants IL, Soborovsky LZ. *Technical Means of Indication of Chemical Warfare Agents.* Moscow: 1943 (in Russian).

10. Батуев СЯ, Горбатов ИИ, Захаров ГГ. *История химических войск и химической службы Советской армии (1918–1945 гг.). Часть I.* М.; 1983.

Batuev SY, Gorbatoov II, Zakharov GG. et al. *History of Chemical Troops and Chemical Service of the Soviet Army (1918–1945). Part I.* Moscow; 1983 (in Russian).

11. Военно-химическое дело. М.; 1947.

Military chemical affairs. Moscow; 1947 (in Russian).

12. Глудин ВМ, Мазничко АА, Ильин ЛН, Токарев КФ, Шукалин ПН. *Мы защитили Россию (исторический очерк о создании и деятельности научно-технического комитета, Управления заказов, производства и снабжения и Управления биологической защиты УНВ РХБ и защиты МО РФ).* М.; 2000.

Gludin VM, Maznichko AA, Ilyin LN, Tokarev KF, Shukalin PN. *We have Defended Russia (a historical essay on the creation and activities of the Scientific and Technical Committee, the Department of Orders, Production and Supply and the Department of Biological Protection of the Department of the Chief of the Radiation, Chemical and Biological Protection Troops of the Ministry of Defense of the Russian Federation).* Moscow; 2000 (in Russian).

13. Стерлин РН, Чеботарев ОВ. *Боевые отравляющие вещества и технические средства химической разведки.* М.; 1966.

Sterlin RN, Chebotarev OV. *Chemical Warfare Agents and Technical Means of Chemical Reconnaissance.* Moscow; 1966 (in Russian).

14. Военно-химическое дело. М.; 1950.

Military Chemical Business. Moscow; 1950 (in Russian).

15. Дмитриев ДМ. *История химических войск и химической службы Советской армии (1946–1977 гг.). Часть II.* М.; 1982.

Dmitriev DM. *History of chemical troops and chemical service of the Soviet Army (1946–1977). Part II.* Moscow; 1982 (in Russian).

16. Горчаковский СН, Дроздов МС, Ивлев ОА, Кочиков ИВ. Дистанционный газовый анализ атмосферы при помощи пассивного Фурье-спектрометра. Конструкция и тестовые испытания. *Известия РАН, Энергетика.* 1999;2:111–9.

Gorchakovsky SN, Drozdov MS, Ivlev OA, Kochikov IV. et al. *Remote gas analysis of the atmosphere using a passive Fourier spectrometer. Design and testing.* News of the Russian Academy of Sciences, Energy. 1999;2:111–9.

17. Бойко АЮ, Дворук СК, Корниенко ВН, Кочиков ИВ, Лельков МВ, Морозов АН. Портативный Фурье-спектрометрический прибор с неохлаждаемым фотоприемником. *Вестник МГПУ им. Н.Э. Баумана, Сер Естественные науки.* 2006;2:94–107.

Boyko AYU, Dvoruk SK, Kornienko VN, Kochikov IV, Lelkov MV, Morozov AN. Portable Fourier spectroradiometer with an uncooled photodetector. *Bulletin of Moscow State Pedagogical University named after N.E. Bauman, Ser Natural Sciences.* 2006; 2:94–107.

18. Иноземцев ВА, Ефимов ИН, Позвонков АА., Самородов АС, Пономарев ВН, Колбинев СС. Применение современных технических средств химической разведки и контроля для обнаружения и идентификации взрывчатых веществ. *Вестник РХБ защиты.* 2022;6(3):355–64. EDN:DVOLJH.

<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-4-355-364>

Inozemcev VA, Efimov IN, Pozvonkov AA, Samorodov AS, Ponomarev VN, Kolbinev SS. Application of Modern Technical Means of Chemical Reconnaissance and Control for the Detection and Identification of Explosives. *Journal of NBC Protection Corps.* 2022;6(3):355–64. EDN:DVOLJH.

<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-4-355-364>

19. Башкин СВ, Карфидов АО, Корниенко ВН, Лельков МВ, Миронов АЮ, Морозов СИ. Панорамный Фурье-спектрометр с многоэлементным фотоприемным устройством на спектральный диапазон 7–14 мкм. *Оптика и спектроскопия.* 2016;121(3):485–91. EDN:WHYWUJ.

Bashkin SV, Karfidov AO, Kornienko VN., Lelkov MV, Mironov AYU, Morozov SI. Panoramic Fourier spectrometer with a multi-element photodetector device for the spectral range of 7–14 microns. *Optics and spectroscopy.* 2016;121(3):485–91. EDN:WHYWUJ.

<https://doi.org/10.7868/S0030403416090051>

20. Лопатина НБ, Фролов ДВ. Основные направления развития средств радиационной, химической и биологической разведки зарубежных стран. *Вестник войск РХБ защиты*. 2020;4:470–83.

Lopatina NB, Frolov DV. The Principal Trends of the Development of Radiological, Chemical and Biological Detection Equipment of Foreign Countries. *Journal of NBC Protection Corps*. 2020;4:470–83. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-4-470-483>

Вклад авторов / Authors' contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.Н. Петухов** – формирование концепции статьи, сбор, анализ и систематизация информации, изложенной в научной литературе, написание текста, редактирование рукописи; **В.В. Вильчик** – критические обсуждения материалов статьи; **Т.В. Шустикова** – составление рисунков; **Д.М. Имамов** – редактирование текста рукописи; **М.С. Молчанов** – анализ данных научной литературы. / All the authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *A.N. Petukhov* – elaboration of the concept of the paper; collection, analysis and systematization of scientific literature; writing and editing of the article; *V.V. Vilchik* – critical discussion of the article; *T.V. Shustikova* – prepared the pictures; *D.M. Imamov* – edited the manuscript; *M.S. Molchanov* – analysed scientific literature.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been double-blind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах / Authors

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.

Петухов Алексей Николаевич. Старший преподаватель кафедры, канд. биол. наук, доцент.

Вильчик Вадим Викторович. Доцент кафедры, канд. техн. наук.

Шустикова Тамара Владимировна. Научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории.

Имамов Динис Миннигалиевич. Младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории.

Молчанов Михаил Сергеевич. Старший преподаватель кафедры, доцент.

Контактная информация для всех авторов: varhbx@mil.ru

Контактное лицо: Петухов Алексей Николаевич; varhbx@mil.ru

The Federal State Official Military Educational Establishment of Higher Education “Military Academy of Radiation, Chemical and Biological Defense by name of Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko” of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Gorkogo Street 16, Kostroma, 156015, Russian Federation.

Aleksey N. Petukhov. Senior Lecturer of the Department. Candidate of Biological Sciences, Associate Professor.

Vadim V. Vilchik. Associate Professor of the Department. Cand. Sci. (Techn.).

Tamara V. Shustikova. Researcher of the Scientific and Researcher Department.

Dinis M. Imamov. Junior Researcher of the Scientific and Researcher Department.

Mikhail S. Molchanov. Senior Lecturer of the Department. Associate Professor.

Contact information for all authors: varhbx@mil.ru

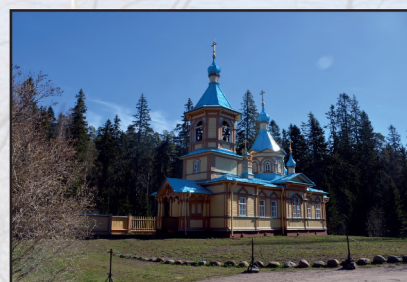
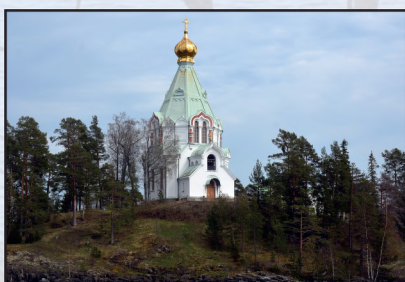
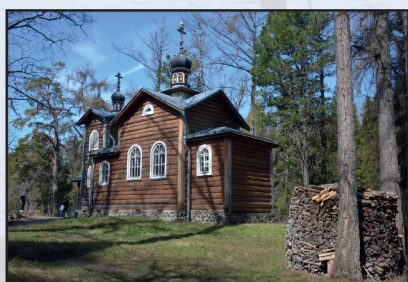
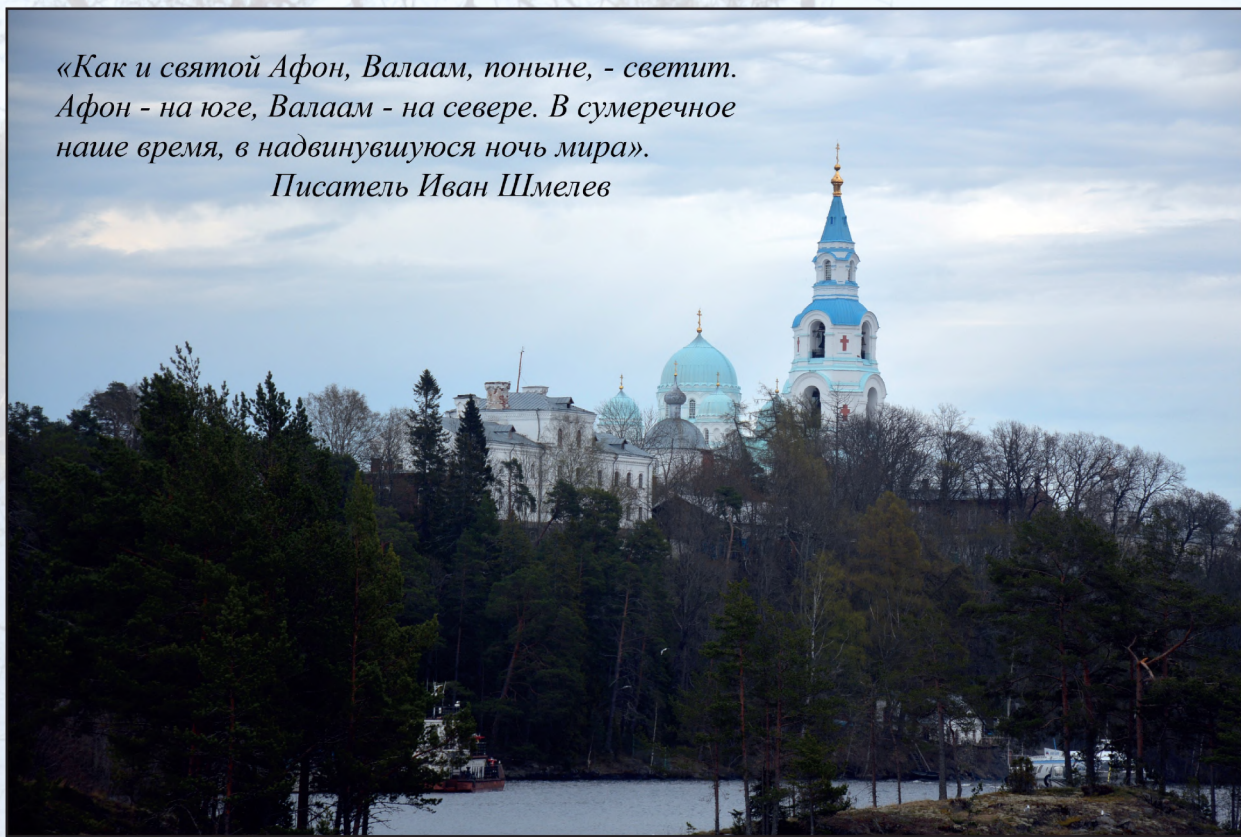
Contact person: Aleksey N. Petukhov; varhbx@mil.ru

Наша замечательная Россия

Валаамский монастырь и его скиты

*«Как и святой Афон, Валаам, поныне, - светит.
Афон - на юге, Валаам - на севере. В сумеречное
наше время, в надвинувшуюся ночь мира».*

Писатель Иван Шмелев



История Валаамского монастыря уходит в глубину времени. Документальная история Валаамского монастыря начинается с XIV в. Монастырь неоднократно разорялся шведами и к XVII в. пришел в запустение. По итогам Северной войны (1700–1721) стало возможным его дальнейшее существование. В 1715 г. император Петр I по просьбе архимандрита Кирилло-Белозерского монастыря Иринарха издал указ о восстановлении Валаамской обители. Строительство монастыря было разрешено на только что отвоеванной у шведов территории, когда еще не был подписан мирный договор. В 1811 г. Финляндская губерния по распоряжению императора Александра I вошла в состав Великого княжества Финляндского Российской империи – вместе с ней и Валаамский архипелаг. После Октябрьской революции Валаам вошел в состав Финляндии. Боевые действия советско-финской войны заставили монахов в январе-феврале 1940 г. эвакуироваться вглубь территории Финляндии, где они основали Ново-Валаамский монастырь. Монашеская жизнь в Валаамском монастыре возродилась в 1989 г. Монастырь находится под наблюдением и каноническим управлением Патриарха Московского и всея Руси. В настоящее время он состоит из центрального Спасо-Преображенского собора, четырнадцати действующих и двух строящихся скитов.

На верхней фотографии – Спасо-Преображенский собор и центральная усадьба монастыря со стороны монастырской бухты. Фотографии нижнего ряда: слева – Коневский скит (во имя Коневской иконы Божией Матери). Расположен в лесном массиве на берегу Игуменских озер; в центре – Скит Николая Чудотворца на Крестовом острове у входа в Монастырскую бухту; справа – Гефсиманский скит у подножия горы Елеон.

Фотографии М.В. Супотницкого



Сайт журнала



РИНЦ



ISSN 2542-8571

9 772597 572033 >