

УДК 547.574.3:615.015

DOI: 10.15372/KhUR20160601

Протатраны – эффективные биостимуляторы для сельского хозяйства, биотехнологии и микробиологии

А. Н. МИРСКОВА, С. Н. АДАМОВИЧ, Р. Г. МИРСКОВ

Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского Сибирского отделения РАН,
Иркутск, Россия

E-mail: mir@irioch.irk.ru

(Поступила 27.01.16)

Аннотация

Реакцией биогенных гидроксипропиламинов с биологически активными арилхалькогенилуксусными кислотами синтезирован ряд водорастворимых, нетоксичных, доступных в производстве солей и ионных жидкостей – “протатранов” и их аналогов формулы $ArXCH_2COO^- \cdot HN^+R_1R_2CH_2CH_2OH$, где Ar = арил, индолил; X = O, S, SO₂, Se; R₁, R₂ = H, Me, CH₂CH₂OH и др. Ранее выявлена их высокая и разнообразная фармакологическая активность (иммуностропная, противоопухолевая, антиметастатическая, антитромботическая, адаптогенная и др.). Кроме того, протатраны в низких (нано-) концентрациях (до $1 \cdot 10^{-10}$ мас. %) оказались мощными биостимуляторами различных биологических процессов.

В данном обзоре обсуждаются результаты изучения стимулирующего действия протатранов на животных, птиц, рыб, насекомых, растения, грибы, бактерии, клетки, ферменты. Показано, что применение протатранов в сельском хозяйстве повышает продуктивность растениеводства, шелководства, птицеводства, животноводства, рыборазведения, а также производства удобрений из отходов (лигнин). Использование протатранов в биотехнологии способствует повышению скорости и селективности процессов, а также выходу продукции, важно для создания новых экономичных методов получения пивоваренного солода, хлебопекарных дрожжей, кормового и пищевого белка, лимонной кислоты, биоэтанола, молочнокислого бифидумбактерина, биомассы женьшеня, стволовых клеток и др. Для микробиологии найдены стимуляторы и разработаны питательные среды для роста стафилококковых и других бактерий, позволяющие многократно ускорить анализ и диагностику социально значимых заболеваний и, как следствие, своевременно назначить адекватное лечение.

Ключевые слова: протатраны, 2-гидроксипропиламины, арилхалькогенилуксусные кислоты, биостимуляторы

Оглавление

Введение	713
Протатраны в сельском хозяйстве	714
Протатраны в биотехнологии и микробиологии. Стимуляторы солодоращения ...	720
Действие на клеточные культуры	727
Заключение	727

ВВЕДЕНИЕ

Высокая физиологическая активность 2,8,9-триоксасилатрициклоундеканов, или “силатранов”, $N(CH_2CH_2O)_3Si-X$ – внутрикомплексных трициклических кремнийорганических

эфиров триэтаноламина, – открыта в 1963 г. академиком М. Г. Воронковым с сотр. [1]. Она определяется уникальной “атрановой” структурой соединений, способствующей их проникновению через клеточные мембраны и природой заместителя X у атома кремния

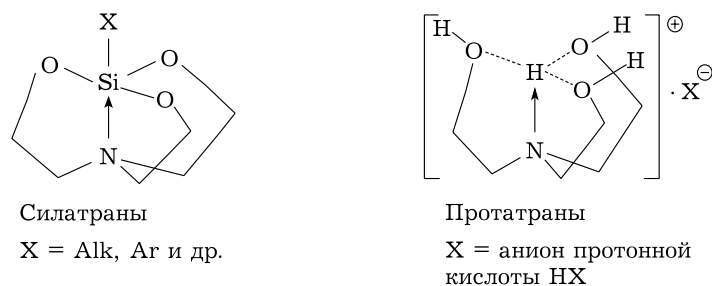


Рис. 1. Типы атранов (производные триэтаноламина). Производные ди- и моноэтаноламина получили название квази- и гипоатранов соответственно.

(рис. 1). Это открытие стимулировало бурное развитие исследований силатранов и родственных им металлатранов как в России, так и за рубежом. Атрановое строение имеют также 2,8,9-тригидропротатраны (“протатраны”) $[N(CH_2CH_2OH)_3H]^+ \cdot X^-$ (см. рис. 1), которые, подобно силатранам, проявляют высокую специфическую биологическую активность. Однако, в отличие от силатранов, это ионные соединения. Они состоят из трициклических протатрановых (со связями $N \rightarrow H$ и $H \cdots OH$) катионов и анионов X^- .

Синтез, физико-химические свойства, структура и практическое применение силатранов широко исследовались [2–15] и активно изучаются и сегодня [16–20]. Среди биологически активных атрановых соединений менее изучены протатраны, однако в последние годы они интенсивно исследуются в нашей лаборатории совместно с медиками и биологами [21–34]. В обзорах [32, 33] обсуждается высокая и разнообразная фармакологическая активность протатранов (гемо- и иммунотропная, кардиотропная, противовоспалительная, противоопухолевая, антитромботическая, антиоксидантная, адаптогенная, гипохолестеринемическая), что открывает широкие перспективы для дизайна передовых лекарственных средств. Кроме того, протатраны в чрезвычайно низких концентрациях (до $1 \cdot 10^{-10}$ моль%) оказались мощными биостимуляторами (биоактиваторами) различных биологических процессов.

В данной работе представлены результаты изучения действия протатранов на живые организмы и клеточные культуры. Показана перспективность этих нетоксичных дос-

тупных соединений для создания эффективных синтетических биостимуляторов с целью применения их в сельском хозяйстве, биотехнологии и микробиологии.

ПРОТАТРАНЫ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Биостимуляторы (БС) – природные или синтетические биологически активные соединения. Они активизируют физиологические процессы, повышая иммунитет и адаптацию, а также ускоряя размножение, развитие и рост живых организмов. Механизм действия БС сложен и во многих случаях до конца не определен. Известно, что БС влияют на проницаемость мембран, синтез витаминов, образование ферментов и другие процессы на клеточном уровне [35]. Биостимуляторы могут быть получены из минерального, растительного или животного сырья, а также в результате микробиологического или целенаправленного органического синтеза. Наиболее перспективны для практического применения в низких (нано-) концентрациях доступные, высокоэффективные, недорогие и нетоксичные синтетические БС. Основой синтетических БС могут служить биогенные 2-гидроксиэтиламины $NR_1R_2CH_2CH_2OH$ и биологически активные арилхалькогенилуксусные кислоты $ArXCH_2COOH$ [21–34].

Реакцией арилхалькогенилуксусных кислот с моно-, ди-, триэтаноламином, диметил-, диэтилэтаноламином, 1-(4-нитрофенил)-2-амино-1,3-диоксипропанолом нами синтезированы протатраны и их аналоги (1–34; табл. 1) по схеме:

ТАБЛИЦА 1

Протатраны и их аналоги для изучения биостимулирующей активности

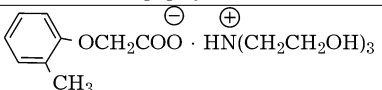
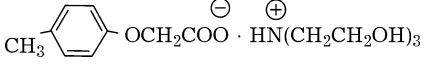
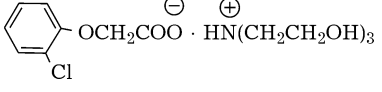
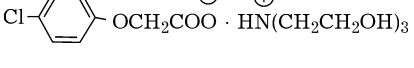
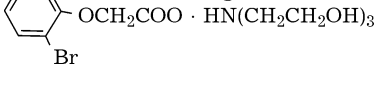
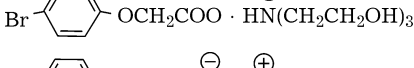
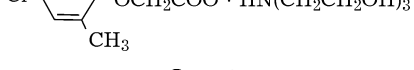
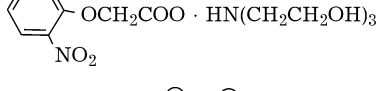
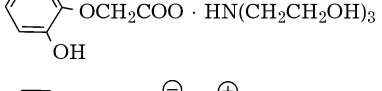
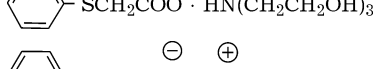
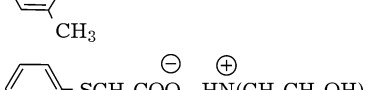
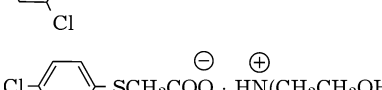
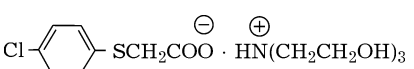
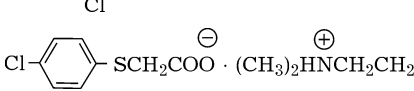
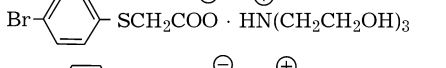
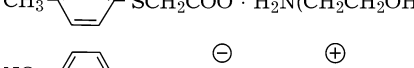
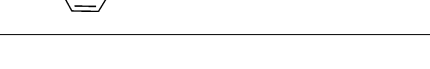

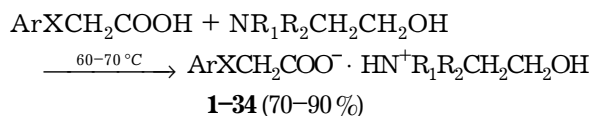
Соединения	Название (IUPAC)	Химическая формула
1	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-метилфенилоксиацетат (Крезацин, Трекрезан)	
2	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 4-метилфенилоксиацетат	
3	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-хлорфенилоксиацетат	
4	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 4-хлорфенилоксиацетат	
5	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-бромфенилоксиацетат	
6	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 4-бромфенилоксиацетат	
7	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-метил-4-хлорфенилоксиацетат	
8	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-нитрофенилоксиацетат	
9	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-гидроксифенилоксиацетат	
10	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний фенилсульфанилацетат	
11	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-метилфенилсульфанилацетат	
12	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-хлорфенилсульфанилацетат	
13	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 4-хлорфенилсульфанилацетат	
14	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2,4-дихлорфенилсульфанилацетат	
15	Диметил(2-гидроксиэтил)аммоний 4-хлорфенилсульфанилацетат	
16	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 4-бромфенилсульфанилацетат	
17	2-Гидроксиэтиламмоний 4-метилфенилсульфанилацетат	
18	Диметил(2-гидроксиэтил)аммоний 4-нитрофенилсульфанилацетат	

ТАБЛИЦА 1 (ОКОНЧАНИЕ)

Соединения	Название (IUPAC)	Химическая формула
19	2-Гидроксиэтил)аммоний 2,4-динитрофенилсульфанил-ацетат	
20	Диметил(2-гидроксиэтил)аммоний 2,4-динитрофенилсульфанилацетат	
21	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний индол-3-ил-сульфанил-ацетат	
22	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 1-бензил-индол-3-ил-сульфанилацетат	
23	Диметил(2-гидроксиэтил)аммоний индол-3-ил-сульфанилацетат	
24	Диэтил(2-гидроксиэтил)аммоний индол-3-илсульфанил-ацетат	
25	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний фенолсульфонил-ацетат	
26	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 4-метилфенилсульфонил-ацетат	
27	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-хлорфенилсульфонил-ацетат	
28	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний 4-хлорфенилсульфонил-ацетат (Сульфациетимин)	
29	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний фенолселенилацетат	
30	Трис(2-гидроксиэтил)аммоний пиридин-3-илацетат	
31	1-(4-нитрофенил)-1,3-дигидроксипропил-2-аммоний 4-хлорфенилсульфанилацетат R ₁ , R ₂ = H, Me, CH ₂ CH ₂ OH, CH(CH ₂ OH)CHOH(C ₆ H ₄ -NO ₂ -4);	
32	1-(4-нитрофенил)-1,3-дигидроксипропил-2-аммоний 2,4-динитрофенилсульфанилацетат	
33	1-(4-нитрофенил)-1,3-дигидроксипропил-2-аммоний 4-метилфенилсульфонил-ацетат	
34	1-(4-нитрофенил)-1,3-дигидроксипропил-2-аммоний 4-хлорфенилсульфонил-ацетат	



Ar = арил, индолил; X = O, S, SO₂, Se; R₁, R₂ = H, Me, CH₂CH₂OH, CH(CH₂OH)CH₂OH(C₆H₄-NO₂-4).

Молекулы **1-30** состоят из катионов протонированных 2-гидроксиэтиламинов R₁R₂(H)N⁺CH₂CH₂OH и анионов арилхалькогенилуксусных кислот ArXCH₂COO⁻.

Биогенные 2-гидроксиэтиламины и их производные с фрагментом (-N-C-C-O-) участвуют в важных процессах внутриклеточного метаболизма, входят в состав фосфолипидов (лецитин, кефалин), холина, ацетилхолина, алкалоидов и аминокислот.

Арилхалькогенилуксусные кислоты ArXCH₂COOH обладают высокой биологической активностью. Так, ароксиксусные кислоты, индолилуксусная кислота (гетероауксин) и их производные широко применяются в сельском хозяйстве в качестве гербицидов и стимуляторов роста растений.

Синтезированные соединения **1-34** хорошо растворимы в воде и полярных растворителях.

В зависимости от состава катиона **1-30** могут быть либо твердыми соединениями (солями) с т. пл 43-95 °С, либо вязкими жидкостями (ионными жидкостями). Замена жестко структурированного трициклического трис(2-гидроксиэтил)аммониевого (протатранового) катиона в **1-14**, **16**, **21**, **25-30** на бис(2-гидроксиэтил)-, метил-бис(2-гидроксиэтил)- или диметил(2-гидроксиэтил)аммониевый катионы способствует понижению температуры плавления образующихся соединений или их переходу в жидкое состояние. Строение и физико-химические свойства **1-34** исследованы нами в работах [21, 30, 34].

В процессе изучения биологических свойств протатранов и их аналогов **1-34** выявлены нетоксичные (LD₅₀ = 1300-6000 мг/кг) соединения, проявляющие высокую и разнообразную фармакологическую, а также биостимулирующую активность. При этом показано, что их активность существенно превосходит или отличается от активности исходных кислот и алканоламинов [36-46]. Найдены высокоэффективные вещества, которые прошли широкие производственные испытания и рекомендованы для применения в сельском хозяйстве и биотехнологии [15, 45]. Это, в первую

очередь, трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-метилфенилоксиацетат (**1**) - "Крезацин" (в фармакологии - "Трекрезан") [2-СН₃-С₆Н₄ОСН₂СОО⁻]·[HN⁺(СН₂СН₂ОН)₃] - оригинальный биостимулятор, не имеющий зарубежных аналогов.

Крезацин в растениеводстве

Крезацин (**1**) прошел расширенные испытания и получил разрешение на применение в сельском хозяйстве [15]. Он существенно повышает урожайность ряда сельскохозяйственных культур, в особенности картофеля, томатов, хлопчатника, винограда. При его использовании урожай хлопка-сырца увеличивается в среднем на 2.5 ц/га, улучшается выход, зрелость и крепость хлопкового волокна, повышается устойчивость растений к корневой гнили, низким температурам и другим неблагоприятным условиям [46]. Предпосевная обработка семян озимой пшеницы сорта "Уманка" (20 г/т) крезацином положительно повлияла на перезимовку растений и их сохранность. Урожай повышается на 8-15 % за счет увеличения кустистости, более активного протекания процессов накопления сухого вещества и листообразования. На 0.4-4.9 % возрастают содержание сырой клейковины, объемная масса и стекловидность зерна.

Обработка посевов сои водным раствором **1** (20 г/га) способствует уплотнению и повышению стебля, усилению симбиотической азотфиксации и фотосинтетической активности и к увеличению урожайности.

В Воронежской области повышение урожайности сои сорта ВНИИС-1 после обработки водным раствором **1** в фазе массового цветения составило 0.7 ц/га (2.4 %), в фазе начала образования бобов - 4.2 ц/га (14.9 %).

Инкрустация семян подсолнечника (ранне-спелый ВНИИМК 8883) крезацином совместно с протравителем ТМТД повысила урожай семян на 36 ц/га (233 ц/га), что составляет 18 % от контроля.

Опрыскивание растений томата раствором **1** в период вегетации стимулирует их развитие и плодообразование, накопление сухой массы, повышение содержания хлорофилла и интенсивность фотосинтеза. В результате

комплексного действия **1** выход ранней продукции повышается на 20–25 %, а общей – на 10–15 %, поражение болезнями снижается (почти на 50 %). Плоды более крупные, выровненные, малосеменные и имеют лучшие вкусовые качества.

Замачивание семян сахарной свеклы в водном растворе **1** в концентрации $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ мас. % увеличивает всхожесть, урожайность (до 60 %) и сахаристость корнеплодов, снижает поступление в проростки гербицида энтама, внесенного в почву в дозе 5 кг/га и более чем вдвое снижает выход нестандартной продукции.

Предпосевная обработка семян огурца крезацином увеличивает энергию прорастания на 10–15 %, всхожесть – на 7–12 %. Рассада имеет более темную окраску листьев и хорошо развитую корневую систему. Опрыскивание растений в фазе трех настоящих листьев раствором **1** стимулирует их развитие и плодообразование и снижает пораженность растений болезнями. Выход ранней продукции возрастает на 20–25 %, а общей – на 10–15 %.

Замачивание семян капусты в растворе **1** повышает всхожесть на 8–16 %, число листьев и площадь листовой поверхности и завязываемость кочанов на 11 % по сравнению с контролем. Двукратная обработка посевов капусты раствором **1** через две недели и один месяц после высадки рассады повышает урожайность капусты на 65 ц/га, снижая пораженность ее болезнями.

Предпосевная обработка семян дыни (сорт “Колхозница”, хозяйство СПК “Красногорский” Саракташского района Оренбургской области, 2003–2005 гг.) биостимулятором **1** увеличила полевую всхожесть (на 95.2 %), сохранность растений (на 93.7 %) и повысила урожайность в среднем за три года на 38 %. В плодах дыни кислотность составляла 0.09–0.13 %, а сахаристость достигла 9–15 %.

Использование крезацина в лесоводстве

Вымачивание семян кедра и лиственницы в 0.03 % водных растворах **1** в течение 10–15 ч вдвое повысило полевую всхожесть. Выдерживание черенков дуба в этих растворах в 2–3 раза увеличило их укореняемость. Это

позволяет получить дополнительный экономический эффект за счет сокращения на 1 год срока выращивания сеянцев медленно растущих кедра и лиственницы [15].

Действие крезацина в сверхнизких дозах

Крезацин (**1**) в исчезающе низкой концентрации в воде ($1 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-15}$ моль/л) сохраняет высокую росторегулирующую активность, всхожесть семян злаков и некоторых других культурных растений [47, 48]. Эти данные убедительно подтверждаются результатами работы Е. Б. Бурлаковой (Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН), в которой изучается действие на живые организмы сверхмалых доз биологически активных веществ [49]. Такие же выводы сделаны академиком А. И. Коноваловым (Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова Казанского научного центра РАН) по результатам исследования влияния сверхмалых доз фосфорорганического регулятора роста растений мелафена на рост зерновых, гороха и некоторых других культур [50]. Это направление (“загадка воды”), представляющее большой научный интерес, на практике сулит значительный экономический эффект и абсолютную экологическую безопасность для сельскохозяйственного растениеводства.

Таким образом, крезацин (**1**) влияет на ведущие метаболические процессы растений (белковый, фосфорный, липидный) и оказывает полифункциональное действие на растения: интенсифицирует ростовые и репарационные процессы, формирование и вызревание тканей, синтез и резервирование пластических веществ, плодообразование. Проявляя мембранотропный эффект, крезацин **1** защищает клетки хлоропластов от повреждающего действия повышенных и низких температур, действия гербицидов и пероксидов, облегчает транспорт ауксинов через биомембраны. Его применение, в том числе в сверхнизких концентрациях, повышает всхожесть и рост растений, устойчивость к водному дефициту, заболеваниям и вредителям, морозоустойчивость и регенерационную способность тканей, урожай и качество плодов.

Аналоги **1**, протатраны **2–9** и др., также являются биостимуляторами. Так, в совмест-

ной работе со специалистами Краснодарского агроуниверситета показана высокая росторегулирующая активность трис(2-гидроксиэтил)аммоний 2-гидроксифенилоксиацетата **9** [51, 52].

При обработке семян риса, пшеницы, томатов, перца растворами **9** возрастала энергия прорастания и всхожесть семян на 13–14 %, увеличивалась длина корней и проростков.

Крезацин в птицеводстве, животноводстве, рыборазведении и шелководстве

Протатран **1** стимулирует в организме животных и птиц биосинтез белков и нуклеиновых кислот, повышает белковый, жировой, углеводный и минеральный обмен, проявляет иммуномодулирующий эффект. Крезацин регулирует функцию кроветворения, поддерживая ее показатели в стандартных условиях содержания на уровне высших физиологических норм, а в неблагоприятных условиях препятствуя их снижению. За счет стимулирования **1** важных физиологических процессов животных и птиц можно повысить продуктивность этой отрасли с высоким экономическим эффектом.

В ГУП СО “Птицефабрика Первоуральская” (октябрь 2008 г.) добавление в рацион крезацина **1** в дозе 5 мг/кг живой массы цыплятам-бройлерам “Смена 7” с 1-й по 30-й день дало дополнительный привес на 14.4–35 г/голову за счет повышения сохранности птиц.

Скармливание **1** в дозе 5 мг на кг живой массы в течение 1 мес. молодняку крупного рогатого скота повышает перевариваемость питательных веществ рациона и обеспечивает прирост массы на 5–20 %.

Крезацин как адаптоген снижает потери живой массы животных при транспортировке и предубойном содержании на 1.5 %, обеспечивает лучшую трансформацию кормового протеина в пищевую белок. При введении **1** в корм стельных коров за 2 мес. до отела увеличивается сохранность и продуктивность новорожденных телят. Ежедневное введение дойным коровам крезацина **1** в ничтожной дозе (0.2–0.4 г на животное) повышает выход молока на 10–15 %.

Применение **1** стимулирует восстановительные процессы в организме поросят-гипо-

трофигов, повышая их жизнеспособность и среднесуточный привес. Крезацин **1** в рационе свиней способствует ускоренному накоплению живой массы молодняка (до 40 %) и сохранности потомства (до 20 %).

Введение **1** в рацион овец стимулирует рост и развитие, повышает среднесуточный привес молодняка, настриг и выход чистой шерсти у зрелых валухов.

Особый теоретический и практический интерес представляет стимулирование крезацином репродуктивной способности (рождаемость, количество приплода и его жизнеспособность) млекопитающих. При изучении влияния этого препарата на ово- и сперматогенез установлено, что он стимулирует созревание примордиальных фолликулов яичников, повышает интенсивность движения сперматозоидов в течение 72–100 ч и положительно влияет на внутриутробное развитие эмбрионов [53]. Не менее примечательно, что иммуностимулирующая активность **1** способствует появлению “материнского эффекта”. При этом антителогенез у потомков от матерей, получивших крезацин, сопоставим по силе с антителогенезом у самок животных, которым этот препарат вводился как в эмбриональный, так и в постнатальный периоды [54, 55].

В рыборазведении **1** в концентрации 20–200 мг/л в 8.9 раза по сравнению с контролем увеличивает выход бимассы ракообразных *Daphnia magna* Sit, используемых в качестве необходимого живого корма для личинок ценных и аквариумных пород рыб [56].

Новые стимуляторы могут найти применение в такой отрасли сельского хозяйства, как шелководство [57]. Гусеницам тутового или дубового шелкопряда скармливали листья кормового растения, обработанные растворами стимуляторов **1, 4, 6** из расчета 100 мг на 1000 гусениц. Наиболее активным оказался **1**. Под его влиянием увеличилась масса оболочек коконов тутового шелкопряда на 18.8 %, выживаемость и плодовитость повысились на 18.4 и 14.7 % соответственно.

Еще более эффективными оказались серосодержащие протатраны, например **28** (сульфацетамин) [58], которым в виде 0.2–0.4 % водных растворов опрыскивали листья кормовых растений. При этом масса шелковой оболочки коконов дубового и тутового шел-

копрядов возрастала на 35–43 %. Особенно ценно преимущественное влияние стимулятора на выработку шелковой продукции и гораздо менее значительное увеличение роста массы куколок.

ПРОТАТРАНЫ В БИОТЕХНОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ. СТИМУЛЯТОРЫ СОЛОДОРАЩЕНИЯ

Протатраны и их аналоги (**18, 20, 26, 28, 31, 32, 34**) [59–64] в концентрациях $6 \cdot 10^{-4}$ – $6 \cdot 10^{-8}$ мас. % оказывают стимулирующее действие на прорастание зерен ячменя в технологии производства светлого солода – ценного продукта для получения лекарственных средств, напитков, витаминов. Так, **28** (сульфацетамин) в количестве 50–60 мг/т зерна интенсифицирует процесс солодоращения, сокращая срок проращивания с 7 до 5 сут, повышает выход солода на 3 % по сравнению с выходом, полученным в стандартном процессе солодоращения [61]. Использование новых стимуляторов позволяет исключить применение гиббереллина – дорогостоящего и труднодоступного препарата. При этом норма расхода стимуляторов в 5 раз, а стоимость в 30 раз меньше по сравнению с гиббереллином. Такой важный показатель качества солода, как содержание в нем аминного азота, под влиянием стимуляторов достигает максимума на 5–6 сут проращивания, накопление мальтозы – через 5.5 сут, что на 1.5–2 сут раньше, чем в контрольном опыте. При этом улучшались качественные показатели солода: амилолитическая активность солода при использовании стимуляторов возрастала на 19.5 %, активность каталазы повышалась на 20.7 %, увеличивались степень растворения зеленого солода, количество мучнистых зерен и экстрактивность светлого солода по сравнению со стандартным методом приготовления.

Стимуляторы биосинтеза спирта

Микробиологические процессы лежат в основе получения широкого спектра продуктов народного хозяйства. Наиболее крупнотоннажным продуктом, получаемым методом микробиологического синтеза, является этиловый спирт – важнейшее сырье для пищевой промышленности, органического синте-

за, лакокрасочной промышленности, а в последнее время для производства экологически чистого заменителя бензина (биоэтанол).

Биосинтез спирта осуществляется на основе углеводов преимущественно культурами дрожжевых грибов рода *Saccharomyces cerevisiae*. При этом существенное количество углеводов, необходимых для производства спирта, тратится на синтез биомассы дрожжей – побочного продукта, который находит применение в качестве белкового корма в животноводстве [65]. Активация метаболических процессов дрожжевой клетки с помощью биостимуляторов, направленная на увеличение образования целевых продуктов микробиологического синтеза, позволяет полнее использовать углеводы питательной среды и добиться роста продуктивности микроорганизмов при сокращении затрат сбраживаемых сахаров и снижении общего времени культивирования.

В качестве стимуляторов роста дрожжевых грибов рода *Saccharomyces cerevisiae* расы XII использованы соединения **3, 4, 13, 28** [66, 67]. Культивирование дрожжей проводили на синтетической среде Ридер следующего состава, г/л: сахароза 20, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3, MgSO_4 0.7, NaCl 0.5, KH_2PO_4 1, K_2HPO_4 0.1. Наиболее эффективно стимулируют прирост числа дрожжевых клеток протатраны **13** в концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-8}$ мас. % и **4** ($1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-8}$ мас. %), причем стимулирующий эффект начинает проявляться спустя 10–12 ч с момента культивирования. Количество дрожжевых клеток через 36 ч процесса возрастает в 1.7–2.7 раза по сравнению с контролем для **13** и в 1.1–2.6 раза – для **4**.

Таким образом, исследованные протатраны позволяют интенсифицировать процесс выращивания спиртовых дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* расы XII, что выражается в приросте биомассы, повышении числа живых и почкующихся клеток, увеличении содержания белковых соединений в клетке. Благодаря влиянию протатранов на клетки дрожжей увеличивается глубина сбраживания сахаров и усиливается спиртообразование более чем на 9 %.

Изучение влияния стимуляторов **2, 10, 25** [68] в процессе получения спирта с использованием в качестве сырья древесины хвойных пород (по запасам которой Россия лидирует в мире) дало важные практические результаты.

В контрольном опыте концентрированный гидролизат хвойной древесины разбавляли до содержания редуцирующих сахаров, равного 3.5 %. Добавляли суперфосфат и сернокислый аммоний, нейтрализовали при нагревании известковым молоком до pH 5.5, фильтровали и вносили его в закрытый аппарат. Туда же вносили дрожжи *Saccharomyces vinii*, раса Т-8 в количестве 5 г/л. Сбраживание сахаров проводили при температуре 32 °С в течение 4 ч. В конце опыта измеряли количество образовавшегося этилового спирта и остаточное количество редуцирующих веществ (РВ). Выход этилового спирта на 100 г сброженных сахаров составлял 51.8 мл (80 % от теоретического). В опытных условиях в начале процесса в гидролизное сусло после фильтрации вносили биостимуляторы **2**, **10**, **25** в соотношении 10 : 0.1 : 0.1 соответственно, в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ мас. %. Выход спирта из 100 г сброженных сахаров равен 60.8 мл (94 % от теоретического), что на 14 % выше, чем в контроле. К преимуществам исследованных биостимуляторов можно отнести их доступность, низкую стоимость, хорошую растворимость в воде, устойчивость при хранении, нетоксичность, эффективность в низких ($1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-8}$ мас. %) концентрациях.

Стимуляторы компостирования гидролизного лигнина

Гидролизный лигнин – отход гидролизно-спиртового производства, который в огромных объемах (миллионы тонн) накоплен на ныне закрытых предприятиях и продолжает накапливаться на действующих предприятиях и служит неограниченным ресурсом для получения органических удобрений. Однако из-за химического состава его нежелательно непосредственно вносить в почву, поэтому найти применение для этих целей он может лишь в качестве материала для компостирования. Обычно лигнин закладывают на компостирование с минеральными или органическими добавками (птичий помет, навоз), и этот процесс занимает продолжительное время. Разработан способ переработки древесных отходов в органоминеральное удобрение внесением в компостируемую массу микробной закваски, состоящей из нескольких

культур [69, 70]. Готовый к использованию продукт образуется всего через 3 мес. С целью интенсификации роста участвующих в биотрансформации гидролизного лигнина микроорганизмов (2 штамма *Trichosporon cutaneum*, D-46 и 5) применяли биостимуляторы **1**, **11**, **13**, **15**, **28**, **33** [71]. Соединения растворяли в питательной среде до конечной концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ мас. %. Культивирование со стимулятором проводили на протяжении 3 сут, затем культуры пересеивали на твердую питательную среду и инкубировали 2 сут. После этого подсчитывали количество колоний на чашках, отмечая среднюю величину колоний. Для всех исследованных соединений выявлен стимулирующий эффект на *T. cutaneum*: количество клеток возрастало по сравнению с контролем в 2–40 раз. Эффективность стимуляторов различалась в зависимости от штамма микроорганизма. Наибольшую стимулирующую активность в отношении *T. cutaneum* штамма D-46 проявил крезацин (**1**). В то же время его сернистый аналог **11** в отношении этого же штамма оказался менее активным. Значительную активность проявил также протатран **33**. При росте на жидкой среде в присутствии стимуляторов **1**, **33** образовывалась мощная поверхностная пленка, отмечался обильный рост по всему объему питательной среды. Активность в отношении *T. cutaneum* штамма 5 проявилась также для всех соединений, причем она менее зависима от строения исследуемых веществ. Максимальный рост культуры наблюдался при использовании **28**.

Повышение эффективности производства белково-витаминных концентратов

В 1950–70 гг. в СССР были проведены оригинальные фундаментальные научные и прикладные исследования, в результате которых впервые в мировой практике было создано микробиологическое производство сухих белково-витаминных концентратов (БВК) для обогащения белками, нуклеиновыми кислотами, витаминами (полный набор витаминов групп В) и микроэлементами кормов сельскохозяйственных животных, птицы и рыбы. Всего было построено более 10 заводов производительностью 1.2 млн т концентрата в год, что позволило сэкономить 6–10 млн т кормово-

го зерна. В качестве микроорганизмов для производства БВК применялись дрожжи рода *Candida* (*C. sake*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. caemionicola*, *C. utieis*, *C. boidinii*), *Hansenula*, *Torulopsis* и др., а также бактерии рода *Pseudomonas*, *Methylomonas*, *Acetobacter* и др. Источниками углерода служили парафиновые углеводороды, нефтяные дистилляты, природный газ, спирт, алифатические кислоты, углеводы (крахмал, сахароза, глюкоза и гидролизаты растительного сырья). В качестве поставщиков азота использованы такие дешевые продукты, как соли аммония или водный аммиак, в качестве фосфора – фосфорная кислота и ее соли.

Под руководством проф. В. А. Горбалинского в совместных исследованиях Института биосинтеза белковых веществ (ГосНИИСинтез-белок, Москва) и Иркутского института химии СО РАН найдено, что активными стимуляторами микробиологического синтеза белка служат протатраны, например крезацин **1** [72], **7** [68, 72, 73] и др. Дрожжевые грибы и бактерии выращивались при 25–40 °С и рН 3.0–8.0, в зависимости от используемого микроорганизма. Оптимальная концентрация крезацина **1**, обеспечивающая максимальное повышение выхода биомассы микроорганизмов (на 62.5 % для грибов и на 21.6 % для бактерий), составила $1 \cdot 10^{-6}$ мас. %. Следует отметить, что при концентрации **1** более 0.1 % выход биомассы снижается. Очень низкие концентрации (менее $1 \cdot 10^{-8}$ мас. %) практически не влияли на выход биомассы. В целом использование **1** в качестве биостимулятора микробиологического синтеза белка позволяет повысить выход биомассы на 15–20 % и увеличить производительность процесса выращивания микроорганизмов на 50–65 % с повышением содержания белка в биомассе на 5–10 %. Применение серосодержащих стимуляторов еще более повышало эффективность процессов [68, 72, 73]. Так, протатран **13** в низкой концентрации ($1 \cdot 10^{-6}$ мас. %) при использовании дрожжей *Candida maltosa* штамм ВСБ-779 (ВКПМ N У-196) на жидких парафинах (*n*-алканы C_{13} – C_{23}) обеспечивал непрерывность процесса на стадии ферментации с производительностью 9.8 кг/(м³ · ч), выходом биомассы от источника углерода 121 %, расходом сырья на образование 1 кг

биомассы, равным 0.826 кг. Продукт содержал 54 % белка и витамины в количестве, мкг/г: В₂ 50, В₆ 6, РР 300, стерины 0.28. Этот же процесс удалось интенсифицировать использованием трехкомпонентной смеси кислород- и серосодержащих протатранов (синергический эффект) **3**, **13** и **28** в соотношении 1 : 1 : 1, в количестве $1 \cdot 10^{-6}$ мас. %. Производительность процесса составляла 10.2 кг/(м³ · ч), выход биомассы от источника углерода 125 %, затраты сырья на образование 1 кг биомассы – 0.8 кг. Конечный продукт содержал 63 % белка и витамины в следующем количестве, мкг/г: В₂ 200, В₆ 30, РР 1500, стерины 0.52. Вторая стадия в производстве БВК после отделения биомассы от культуральной жидкости – процесс плазмолиза дрожжевой массы для улучшения ее качества, который проводят при нагревании до 90 °С с последующей сушкой продукта. Добавление при этом тройной смеси **3**, **13**, **28** активаторов в соотношении 0.1 : 10 : 10 соответственно, в количестве $1 \cdot 10^{-6}$ мас. % позволило существенно обогатить БВК белком и углеводами: содержание нуклеиновых кислот составляло 7.7 мас. % (в контроле – 7.5), углеводов – 20.5 (19.5), липидов – 9.4 (9.0); углеводов – 0.2 (0.7), сырого протеина – 62.5 (59.0), истинного белка – 53.1 (46.9) [68].

Производство стимуляторов, основанное на дешевом отечественном сырье и не требующее применения специального оборудования, было освоено на Ангарском заводе химреактивов и Усолье-Сибирском химфармкомбинате. Внедрение стимулятора роста при выращивании кормовых дрожжей на заводе БВК (Ангарск) в 1986–87 гг. дало большой экономический эффект благодаря снижению расхода сырья, повышению производительности ферментеров, выхода биомассы, количества продукции высшей категории качества и увеличению содержания белка. Аналогичные результаты достигнуты также на Светлоярском заводе ПО “Волгоградбиосинтез” и Новополюцком заводе БВК.

К сожалению, в начале 1990-х годов производство БВК полностью прекратилось по экономическим причинам, а также из-за протестов общественности в связи с аварийными выбросами продукта на отдельных предприятиях и усилением аллергических реак-

ций у части населения. Все предприятия были закрыты или перепрофилированы, а уникальное оборудование распродавалось как металлический лом.

Получение кормовых белковых продуктов биооконверсией растительного сырья

Для этой цели используют некондиционное зерно и отходы переработки сельскохозяйственного растительного сырья. В качестве биодеструктора применяли культуру дрожжей *Endomycopsis fibuligera* (ВКПМ У 2173), обладающую амилолитической активностью, или гриба *Aspergillus niger* (ВКПМ F 710). В качестве биокатализатора использовали протатраны **3**, **13** и **28** [68, 74, 75]. Так, в контрольном опыте [53] смесь рисового зерна, шелухи и муки подвергали мелкому помолу, разбавляли водой, добавляли фосфорную кислоту до pH 5.5 и нагревали до 70 °С, затем выдерживали 30 мин, охлаждали, добавляли 2.0 г/л сернокислого аммония, 0.5 г/л хлористого калия, 0.35 г/л сернокислого магния, 0.05 г/л сернокислого железа. На полученной среде выращивали дрожжи *E. fibuligera* в течение 18 ч при температуре 32 °С, pH 4.5 при аэрации без механического перемешивания, отделяли жидкую фазу от твердой, последнюю сушили. Получен продукт с содержанием истинного белка 34.5 %, на 1 кг которого израсходовано 1.23 кг зерновой смеси. В эксперименте в исходную смесь добавляли водный раствор смеси **3**, **13** и **28** в соотношении 10 : 1 : 10 соответственно, в количестве $1 \cdot 10^{-8}$ мас. %. В качестве биодеструктора использовали ту же культуру дрожжей, что и в контрольном опыте. При этом из 1.2 кг зерна получен 1 кг продукта с содержанием истинного белка 46 %. Активация процесса биооконверсии растительного сырья ускоряет процесс на 33 %, увеличивает содержание белка в продукте на 33 % и сокращает расход сырья на 2 % по сравнению с контролем.

Получение хлебопекарных дрожжей

Протатраны и их аналоги **4**, **13**, **14**, **23**, **24**, **28**, **30** в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-10}$ мас. % положительно влияют на рост дрожжей

Saccharomyces cerevisiac – незаменимого компонента производства хлебопекарных продуктов, лекарственных средств, ценного источника витаминов, ферментов, увеличивая выход биомассы на 6–17.2 %, а выработку продукции – на 7–14 % [68, 73, 75–78]. Контролем служил стандартный метод, в котором дрожжи выращивают с добавлением активатора роста микроорганизмов – детиобиотина. Разработана технология получения и применения в концентрации 10^{-6} – 10^{-8} мас. % одного из стимуляторов **28** (сульфацетамин). Он безопасен, не проявляет цитотоксического, тератогенного, аллергенного и мутагенного действий. Получено разрешение на применение сульфацетамин в пищевой промышленности. Хлебопекарные дрожжи, полученные с применением стимуляторов, обладают повышенной ферментативной активностью и подъемной силой. Бродильную активность дрожжей оценивали по интенсивности сбраживания сахарозы и мальтозы. Если у дрожжей, выращенных по стандартной методике, через 2 ч наблюдался спад активности (на 9.3 % на сахарозе и на 9.5 % на мальтозе), то у экспериментальных дрожжей, наоборот, бродильная активность возрастала (на 4.5 и 6.2 % соответственно). Это приводит к увеличению на 2.5 % основных параметров хлебопечения – удельного объема и пористости полученного хлеба.

Получение кормовых дрожжей на гидролизате хвойной древесины

Дрожжи *Candida scottii* штамм К-д-25 (ВКПМ N У-521) выращивали в непрерывных условиях в аппарате с рабочим объемом 5 л. Гидролизат растительного сырья нейтрализовали оксидом кальция при температуре 85 °С до pH 3.5 и фильтровали. Затем добавляли минеральные компоненты до концентрации азота и фосфора в среде 798 и 600 мг/л соответственно и нейтрализовали аммиаком до pH 4.2, продували воздухом при температуре 45 °С в течение 1 ч, фильтровали. Далее в питательную среду добавляли протатран **28** в количестве $1.3 \cdot 10^{-4}$ г/л [68]. Дрожжи выращивали в условиях протока питательной среды 0.24 л/ч при аэрации воздухом на установке с автоматическим поддержанием температуры 39 °С и pH 4.2–4.4. Ис-

ходное количество потребляемых сахаристых редуцирующих веществ (РВ) в питательной среде составляло 1.3 %. Выход биомассы дрожжей от исходного сырья (в пересчете на РВ) равен 68.2 %. Дрожжи *Candida* sp. выращивали в тех же условиях и на той же питательной среде, что и в контрольном способе, но вместо **28** вводили комплексный активатор, которым соотношение **3**, **11** и **28** составляло 0.1 : 10 : 1.0 соответственно, в количестве $1 \cdot 10^{-4}$ г/г дрожжей. Выход биомассы дрожжей от РВ в этом варианте достигал 79.3 %. Активация процесса получения кормовых гидролизных дрожжей по предлагаемому способу позволяет повысить выход продукта на 16 % по сравнению с контрольным способом.

Стимуляторы производства лимонной кислоты

Биосинтез лимонной кислоты осуществляется с помощью специальных штаммов мицелиальных грибов *Aspergillus niger* [68, 79, 80].

В качестве углеродсодержащего субстрата используют, главным образом, отход сахарного производства – мелассу, которая, помимо углеводов, содержит большой набор органических веществ, макро- и микроэлементов. В опытном режиме [68] в питательную среду вводили стимулятор, состоящий из протатранов **3**, **11** и **28** в соотношении 1 : 10 : 1 в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ мас. %. При этом необходимое количество мелассы потреблялось за 144 ч (в контроле 168 ч), время процесса сокращалось на 14 %, а среднесуточный съём лимонной кислоты составил 18.25 кг/(м³ · ч), что на 31 % выше по сравнению с контролем. По типу питания аспергиллы относятся к гетеротрофным организмам, усваивающим углерод из органических соединений [81, 82].

В культуральной среде найдены такие важнейшие витамины, как никотинамид, тиамин, рибофлавин, цианкобаламин, пантотеновая кислота, фолиевая кислота, которые синтезируются *Aspergillus niger*. Механизм образования лимонной кислоты основан на биохимическом цикле трикарбоновых кислот – цикле Кребса. Реакцией, лимитирующей скорость оборота цикла, является синтез лимонной кислоты, катализируемый аллостерическим ферментом цитратсинтетазой. В цикле также образуются и другие ферменты, являющиеся ингибиторами цитратсинтетазы.

Таким образом, в процессе биосинтеза лимонной кислоты исключительно важную роль играют различные ферменты, одни из которых стимулируют, а другие ингибируют протекающие биохимические реакции. В этой связи можно предположить, что разработанные нами новые стимуляторы микробиологических процессов – соли и ионные жидкости на основе 2-гидроксиэтиламинов и биоактивных арилхалькогенуксусных – повышают активность ключевых ферментов, участвующих в образовании лимонной кислоты. Однако это предположение требует проведения специальных исследований. В подтверждение принципиальной возможности протатранов влиять на функционирование ферментов можно привести работы [83–86], где впервые показан активирующий эффект протатрана **1** и его производного (крезоксидинкатрана) на цитокинную активность такого важного фермента в жизненном цикле млекопитающих, как суммарная триптофанил-ТРНК-синтетаза, которая обладает ярко выраженным антиангиогенным и антиатерогенным действием.

Стимуляторы жизнедеятельности бифидобактерий

Впервые обнаружена способность протатранов **11**, **21**, **28** эффективно стимулировать рост жизненно важных для человека микроорганизмов – бифидобактерий. Стимулирующий эффект показан при выращивании бактерий на питательных средах и приготовлении товарного лечебно-профилактического продукта – молочнокислого бифидумбактерина. Он проявляется в увеличении количества жизнеспособных клеток в единице объема продукта, кислотообразующей активности, скорости роста бактерий, биологической и пищевой ценности бифидумбактерина. Так, с добавкой стимулятора в концентрации $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-6}$ мас. % нарастание биомассы происходит в 3–4 раза быстрее, при этом достигается концентрация бифидобактерий $1 \cdot 10^{12}$ – $1 \cdot 10^{14}$ клеток/мл продукта, что на 4–6 порядков выше, чем в контроле ($1 \cdot 10^8$) за более длительное время [87, 88]. Культивирование бифидобактерий с новыми стимуляторами повышает содержание витаминов в продукте.

Стимуляция образования клубеньков у бобовых растений

Протатраны на основе галогензамещенных ароксиксусных кислот **4** и **6** могут найти применение в сельском хозяйстве в качестве стимуляторов фиксации молекулярного азота бобовыми растениями с помощью клубеньковых бактерий (так называемый бобово-ризобиаальный симбиоз) [89]. В эксперименте к предварительно проросшим семенам клевера лугового добавляли культуру клубеньковых бактерий *Rhizobium trifolii*, штамм 159, из расчета 1 млн клеток на 1 мл среды. Одновременно с внесением проросших семян в среду добавляли испытуемые вещества в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Растения выращивали в течение 2 мес., после чего производили учет количества клубеньков на корнях растений. Максимальный эффект получен для соединения **6** (прирост клубеньков 87 % к контролю), в то же время такой фитогормон, как индолилуксусная кислота, в той же концентрации дает прирост в 18 %.

Стимуляция роста силикатных бактерий, золотистого стафилококка, бактерий Мережковского и кишечной палочки

В 1939 г. проф. В. Г. Александров впервые выделил из почвы штамм микроорганизмов рода *Vacillus mucilaginosus* (силикатные или слизистые бактерии), которые могут разлагать минеральные соединения почвы (силикаты, апатиты, фосфориты), освобождая калий и растворимый фосфор, необходимые для питания растений [90–92]. Биологически активные соединения, вырабатываемые при этом бактериями (гетероауксин, витамин В₁ и др.), повышают прорастание семян, интенсифицируют образование корешков и ростков. *Vacillus mucilaginosus* (*V.m.*) нормализуют микрофлору почвы, рекомендованы в состав комплексного сорбента тяжелых металлов для восстановления и улучшения почвы. Способность силикатных бактерий растворять диоксид кремния, превращая его в коллоидную кремневую кислоту, позволила предложить их для профилактики силикоза сельскохозяйственных животных [93, 94]. Получены новые штаммы *V.m.*, использующие для

жизнедеятельности различные углеродсодержащие продукты: углеводы, органические кислоты, глицерин, углеводороды и др. Для производственного культивирования используется свекловичная меласса, различные отходы сельского хозяйства и пищевой промышленности [95]. Образующаяся при этом биомасса содержит богатый набор аминокислот, витаминов, пептидов, жирных кислот макро- и микроэлементов и является высокоэффективной белково-витаминно-ферментной добавкой (содержание белков 60–70 %) в корм сельскохозяйственным животным, птице, а также пушным зверям [96]. Кроме того, при культивировании бактерий *V.m.* на богатых углеводами средах образуются внеклеточные полисахариды, обладающие иммуномодулирующим действием, проявляющие противоязвенный и противоопухолевый эффект. При добавлении водных растворов стимуляторов **1**, **13**, **16** в концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-8}$ мас. % в питательную среду при культивировании *V.m.* выход биомассы с 1 л питательной среды возрастал с 30 до 42 г (40 %) [97].

Впервые установлен стимулирующий эффект аналогов протатранов **20**, **31** и др. на выход бактериальной массы золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) (штамм № 209), биомассы бактерий Мережковского (*Salmonella typhi spermophilorum*) и кишечной палочки (*E.coli M-17*) [98]. Внесение стимуляторов в питательную среду в концентрациях $1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-8}$ мас. % повышает выход бактериальной массы золотистого стафилококка на 32–40 %, бактерий Мережковского – на 47.5–140.4 %, кишечной палочки – на 11.4–59.4 %. Полученные результаты по увеличению выхода ценной биомассы микроорганизмов с использованием стимуляторов открывают путь к их практическому применению в биотехнологических процессах получения биопрепаратов, диагностических средств, сывороток, вакцин и др. Так, стимуляторы повышения выхода бактериальной массы *St. aureus* перспективны в процессах крупномасштабного глубинного культивирования золотистого стафилококка с целью получения ценного препарата – протеина А.

Биомасса бактерий Мережковского, безвредных для человека и домашних животных, но вызывающих тиф у грызунов со смертельным исходом, находит применение в биоло-

гическом методе дератизации для уничтожения вредных грызунов (переносчиков чумы и др. опасных заболеваний, вредителей урожая зерна, продуктов питания) в местах их массовых скоплений (продовольственные склады, морские порты, города).

Биомасса кишечной палочки используется для производства лекарственных пробиотических препаратов, например колибактерина, бификола, биофлора, которые применяются в терапии и профилактике дисбактериоза кишечника. В настоящее время ведутся интенсивные исследования по использованию кишечной палочки для производства биотоплива.

Используемые для культивирования микроорганизмов природные стимуляторы дефицитны и дороги. Преимуществом химических стимуляторов является их доступность благодаря разработанным нами способам получения и технологии производства из промышленного сырья, безвредность, постоянный состав, высокая активность при добавлении в питательные среды в низких концентрациях. Введение стимуляторов в питательные среды позволяет сократить применение дорогостоящих витаминов, аминокислот – цистеина, триптофана, ферментативных гидролизатов казеина, сои, мяса, нативной сыворотки крови и др. Разработаны лабораторные технологические регламенты производства и технические условия на ряд препаратов. Технология опытного производства стимуляторов опробована на Усолье-Сибирском химфармкомбинате. Применение данных стимуляторов не требует капитальных вложений на дополнительное оборудование и изменения технологической схемы производства.

Стимуляторы роста стафилококка для ускоренной диагностики стафилококковой инфекции

Стафилококки (*St. aureus*) – одни из наиболее распространенных возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний (энтероколиты, перитониты, пневмония, абсцессы легкого), особенно в хирургических отделениях, педиатрических стационарах и родильных домах (в Германии – 700 тыс., в США – 2 млн, в России – до 2.5 млн случаев в год).

В настоящее время при проведении бактериальных анализов для культивирования стафилококков применяются питательные

среды, на которых продолжительность выращивания составляет 24–48 ч [99]. Столь длительные сроки затрудняют оказание своевременной медицинской помощи пациенту и препятствуют быстрому применению адекватной терапии. Перспективным направлением исследований является создание биостимуляторов роста микроорганизмов с целью разработки способов ранней диагностики инфекционных заболеваний, вызванных стафилококками и другими бактериальными агентами. Изучено влияние биостимуляторов **1, 3–8, 12–13, 21, 22, 29–30** в концентрациях $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл на рост штаммов стафилококков (*St. aureus*) [100–102]. Всего проведено 240 исследований. Добавление в питательную среду на основе желточно-солевого агара биостимуляторов ускоряет рост стафилококков и, соответственно, сокращает время выдачи результата анализа. При этом выявлены значительные различия в скорости роста штаммов *S. aureus* на средах со стимуляторами в зависимости от строения аниона кислоты, продолжительности культивирования и концентрации стимулятора. Одним из наиболее активных биостимуляторов является протатран **28** (сульфацетамин). При его использовании наблюдается рост *St. aureus* всего через 3 ч от начала культивирования. При использовании веществ **1** и **6** рост стафилококка при экспозиции 3 ч отмечался в 11.1 % случаев, **21** – более чем в половине случаев. Через 6 ч после высева наблюдался рост *St. aureus* при использовании большинства стимуляторов роста, за исключением веществ **22** и **30**. После 9 ч культивирования рост *St. aureus* наблюдался при использовании большинства изученных веществ (**3–5, 7, 9, 12, 13, 21, 22, 29, 30**) при всех концентрациях). При посеве на желточно-солевой агар без стимулятора роста (контроль) рост стафилококков отмечалось только через 24–48 ч от начала культивирования. О стимулирующей способности соединений селена ранее не было известно. На примере протатрана **29** впервые показана эффективность селеноорганического соединения (рост через 6 ч после начала культивирования стафилококков). Эффективность протатрана на основе пиридин-3-илуксусной кислоты (**30**) во всех концентрациях

ниже, чем у солей серо(селен)содержащих ароматических кислот.

Таким образом, использование исследованных стимуляторов ускоряет рост стафилококков и позволяет сократить время выдачи результата анализа в 16 раз (с 48 до 3 ч).

ДЕЙСТВИЕ НА КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ

Стимуляция роста эмбриональных (стволовых) клеток

В настоящее время в медицине интенсивно развиваются методы клеточной терапии различных заболеваний. Для лечения используют эмбриональные фибробласты или низкомолекулярные пептиды, полученные из эмбриональных (стволовых) клеток животных и человека. Актуален поиск методов стимуляции роста эмбриональных клеток, которая способствовала бы увеличению их количества в культуре, вносимой в рану, на поверхность ожога или в хирургическое поле, повышала доступность клеточных препаратов и лечебных средств для лечения термических травм и репарации кожи при ожогах в практике комбустиологии (ожоговая медицина), незаживающих ранах и язвах, абсцессах легкого, заболеваниях парадонта, органов слуха, стимулировании остеогенеза при трансплантациях. В совместной работе с Московской медицинской академией им. Сеченова по поиску стимуляторов клеточного роста фибробластов впервые обнаружен ростостимулирующий эффект соединений из класса протатранов при использовании их в низких концентрациях. Изучено влияние препарата **1** (крезацин) на количественный рост фибробластов, а также его цитотоксичность. Показано, что **1** в низких концентрациях ($1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-6}$ мас. %) в 2–2.5 раза по сравнению с контролем увеличивает клеточный рост эмбриональных человеческих клеток в культуре M27. При этом не обнаружено даже признаков дистрофии клеток [103].

Повышение эффективности производства биомассы женьшеня

В связи с сокращением запасов природных лекарственных растений и нерентабельностью

плантационных методов их выращивания все большее значение приобретает биотехнологический способ культивирования растительных клеток с целью создания на их основе эффективных лекарственных и косметических средств, пищевых добавок и др. полезных продуктов. Особую важность имеет разработка и освоение промышленной технологии получения биомассы женьшеня для производства на ее основе лекарств адаптогенного, иммуностимулирующего действия, для профилактики и лечения онкологических заболеваний, воздействия радиации и стресса. В ГосНИИсинтезбелок исследовано влияние новых стимуляторов на процесс культивирования клеток женьшеня [68]. В контрольном опыте биомассу женьшеня выращивали поверхностным культивированием клеток *Panax Ginseng* (производственная культура Кировского Биохимзавода) на твердой питательной среде (ТУ 59-112-72, производство “Биомассы женьшеня”). Культивирование осуществляли при температуре 26 °С и рН 5–6 в течение 30–32 сут. Далее биомассу снимали с питательной среды и сушили. Выход сухой биомассы с 1 л среды составил 10 г, содержание экстрактивных веществ в растительной массе 41.2 %. В эксперименте культуру *Panax Ginseng* выращивают в тех же условиях, что и в контрольном опыте, но в твердую питательную среду перед накоплением растительных клеток вносили смесь протатранов **3**, **15**, **28** в соотношении 10 : 10 : 1 соответственно, в количестве $1 \cdot 10^{-6}$ мас. %. Выход сухой биомассы составил 15 г с 1 л среды (повышение на 50 %), содержание экстрактивных веществ в растительной массе 46.8 % (выше контрольного на 14 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

2,8,9-Тригидропротатраны (протатраны) и их аналоги, синтезированные на основе биогенных аминов и биологически активных арилахалькогенилуксусных кислот, являются новыми эффективными, безопасными и доступными стимуляторами жизненных процессов и перспективны для повышения продуктивности растениеводства, птицеводства и животноводства. В микробиотехнологии они в

чрезвычайно низких (нано-) концентрациях ($1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-10}$ мас. %) увеличивают скорость и селективность биологических процессов, повышают выход продукции, что важно для создания новых безотходных технологий получения ценных кормовых и пищевых продуктов, биоэтанола, лимонной кислоты, сырья для производства лекарственных средств и др. Найдены стимуляторы роста бактерий и на их основе разработаны питательные среды для ускоренной диагностики социально значимых заболеваний (бактериальных стафилококковых инфекций), что исключительно важно для своевременного назначения адекватного лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Балткайс Я. Я., Воронков М. Г., Зелчан Г. И. // Изв. АН Латв. ССР. Сер. хим. 1964. № 2. С. 102.
- 2 Воронков М. Г., Зелчан Г. И., Лукевич Э. Я. Кремний и жизнь. Рига: Зинатне, 1971. 327 с.
- 3 Frye C. L., Vincent G. A., Finzel W. A. J. // Am. Chem. Soc. 1971. Vol. 93. P. 6805.
- 4 Пат. 3666538 США, 1972.
- 5 Voronkov M. G., Zelchan G. I., Lukevits E. // Silicium und Leben. Biochemie, Toxikologie und Pharmakologie der Verbindungen des Siliziums. Berlin: Akademie-Verlag. 1975. 301 p.
- 6 Воронков М. Г. Кремний и жизнь (Биохимия, фармакология и токсикология соединений кремния). Изд. 2-е, переработ. и доп. Рига: Зинатне, 1978. 395 с.
- 7 Воронков М. Г., Дьяков. Силатраны. Новосибирск: Наука, 1978. 208 с.
- 8 Voronkov M. G. Silatranes // Topic in Current Chem. 1979. Vol. 84. P. 1.
- 9 Voronkov M. G., Dyakov V. M., Kirpichenko S. V. Silatranes / J. Organometal. Chem. 1982. Vol. 233, No 1. P. 1.
- 10 Воронков М. Г., Кузнецов И. Г. Кремний в живой природе. Новосибирск: Наука, 1984. 155 с.
- 11 Voronkov M. G., Kuznetsov I. G. Silicon in Living Nature. Wakayama: Japanese-Soviet Interrelation Company, 1988. 143 p.
- 12 Pestunovich V., Kirpichenko S., Voronkov M. Silatranes and Their Tricyclic Analogs. The Chemistry of Organic Silicon Compounds. 1998. Vol. 2. Chap. 24. P. 1447.
- 13 Леменовский Д. А., Зайцева Г. С., Карлов С. С. // Природа. 2008. № 3. С. 28.
- 14 Воронков М. Г., Барышок В. П. Силатраны в медицине и сельском хозяйстве. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2005. 258 с.
- 15 Воронков М. Г., Барышок В. П. // Вестн. РАН. 2010. Т. 80, № 11. С. 985.
- 16 Puri J. K., Singh R., Chahal V. K. // Chem. Soc. Rev. 2011. Vol. 40. P. 1791.
- 17 Voronkov M. G., Belyaeva V. V., Abzaeva K. A. // Chem. Heterocyclic Comp. 2012. Vol. 47, No. 11. P. 1330.
- 18 Singh G., Saroa A., Garg M., Sharma R. P., Gubanov A. I., Smolentsev A. I. // J. Organometal. Chem. 2012. Vol. 719. P. 21.
- 19 Brennan B. J., Gust D., Brudvig G. W. // Tetrahedron Lett. 2014. Vol. 55. P. 1062.
- 20 Meshgi M. A., Baumgartner J., Marschner C. // Organometallics. 2015. Vol. 34. P. 3721.
- 21 Воронков М. Г., Албанов А. И., Аксаментова Т. Н., Чипанина Н. Н., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г., Кочина Т. А., Вражнов Д. В., Литвинов М. Ю. // ЖОРХ. 2009. Т. 79, Вып. 11. С. 1817.
- 22 Колесникова О. П., Мирскова А. Н., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г., Кудалева О. Т., Воронков М. Г. // Докл. РАН. 2009. Т. 425, № 4. С. 556.
- 23 Воронков М. Г., Софронов Г. А., Старченко Д. А., Адамович С. Н., Мирскова А. Н. // Докл. РАН. 2009. Т. 428, № 1. С. 125.
- 24 Воронков М. Г., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г., Мирскова А. Н. // ЖОХ. 2009. Т. 79, Вып. 1. С. 162.
- 25 Адамович С. Н., Кузнецова Г. А., Мирскова А. Н., Мирсков Р. Г., Воронков М. Г. // ЖОХ. 2009. Т. 79, Вып. 11. С. 1825.
- 26 А. Н. Мирскова, С. Н. Адамович, Р. Г. Мирсков, М. Г. Воронков // Докл. РАН. 2010. Т. 433, № 5. С. 710.
- 27 Мирскова А. Н., Мирсков Р. Г., Адамович С. Н., Воронков М. Г. // Докл. РАН. 2010. Т. 435, № 4. С. 561.
- 28 Колесникова О. П., Мирскова А. Н., Адамович С. Н., Кудалева О. Т., Мирсков Р. Г., Воронков М. Г. // Бюлл. СО РАМН. 2010. Т. 30, № 6. С. 12.
- 29 Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Колесникова О. П., Перминова О. М., Рудякова Е. В., Адамович С. Н. // Изв. АН. Сер. хим. 2010. № 12. С. 2181.
- 30 Chipanina N. N., Aksamentova T. N., Adamovich S. N., Albanov A. I., Mirskova A. N., Mirskov R. G., Voronkov M. G. // Comp. Theor. Chem. 2012. Vol. 985. P. 36.
- 31 Мирскова А. Н., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г. // Хим.-фарм. журн. 2012. Т. 46, № 7. С. 81.
- 32 Мирскова А. Н., Мирсков Р. Г., Адамович С. Н., Воронков М. Г. // Химия уст. разв. 2011. Т. 15, № 5. С. 467.
- 33 Мирскова А. Н., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г., Воронков М. Г. // Изв. АН. Сер. хим. 2014. № 9. С. 1869.
- 34 Mirskova A. N., Adamovich S. N., Mirskov R. G., Kolesnikova O. P., Schilde U. // Open Chemistry (formerly Central Europ. J. Chem.). 2015. Vol. 13. P. 149.
- 35 Машкова Г. Н., Винаров А. Ю. Микробиологическое производство: Обзорная инф. М.: ВНИИСЭНТИ Минмедбиопрома СССР. 1990. Вып. 3. 34 с.
- 36 Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Гусева С. А., Крюкова Ю. И. // ЖОРХ. 1984. Т. 20, Вып. 3. С. 602.
- 37 Левковская Г. Г., Мирскова А. Н., Гусева С. А., Крюкова Ю. И. // ЖОРХ. 1984. Т. 20, Вып. 7. С. 1439.
- 38 Пат. 2108100 РФ, 1998.
- 39 Воронков М. Г., Мирскова А. Н., Левковская Г. Г. // Докл. АН. 2002. Т. 385, № 3. С. 411.
- 40 Евстафьева И. Т., Левковская Г. Г., Мирскова А. Н. // ЖОРХ. 1998. Т. 34, Вып. 9. С. 1305.
- 41 А. с. 1473294 СССР, 1987.
- 42 Левковская Г. Г., Рудякова Е. В., Мирскова А. Н. // ЖОРХ. 2002. Т. 38, Вып. 11. С. 1697.
- 43 Рудякова Е. В., Мирскова А. Н., Левковская Г. Г. // ЖОРХ. 2008. Т. 44, Вып. 10. С. 1539.
- 44 Колесникова О. П., Кудалева О. Т., Сухенко Т. Г., Лыков А. П., Левковская Г. Г., Воронков М. Г., Гайдюль К. В., Козлов В. А. // Экспер. клин. фармакол. 2006. Т. 69, № 3. С. 47.

- 45 Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Мирсков Р. Г., Воронков М. Г. // *ЖОрХ*. 2008. Т. 44, Вып. 10. С. 1501.
- 46 Ханходжаева Д. А., Воронков М. Г. // *Докл. РАН*. 1993. Т. 333, № 1. С. 124.
- 47 Воронков М. Г., Долмаа Г., Цэрэнпил Ш., Угтахбаяр О., Чимидцогзол А. // *Докл. РАН*. 2005. Т. 404, № 4. С. 562.
- 48 Макарова Л. Е., Боровский Г. Б., Булатова А. М., Соколова М. Г., Воронков М. Г., Мирскова А. Н. // *Агрохимия*. 2006. № 10. С. 41.
- 49 Бурлакова Е. Б. // *Рос. хим. журн.* 1999. Т. XLIII, № 5. С. 3.
- 50 Фаттахов С. Г., Резник В. С., Коновалов А. И. В сб.: *Состояние исследований и перспективы применения регуляторов роста растений нового поколения*. Казань, 2006. С. 3.
- 51 Пат. 2177225 РФ, 2000. *Бюлл. Изобр.* 2001. № 36.
- 52 Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Рудякова Е. В., Третьяков Г. И., Мирсков Р. Г., Федулов Ю. П. II Всероссий. конф. *Химия и технология растительных веществ*. Казань. 2002. С. 74.
- 53 Воронков М. Г., Дыбан А. П., Дьяков В. М., Симбирцев Н. Л. // *Докл. РАН*. 1999. Т. 364, № 5. С. 703.
- 54 Павел Ю. Г., Карус А. Л., Кумар Ю.А., Шаттшнейдер Т. К., Воронков М. Г. // *Докл. РАН*. 2002. Т. 385, № 3. С. 419.
- 55 Воронков М. Г., Павел Ю. Г., Карус А. Л., Расулов М. М. // *Бюлл. эксперим. биол. мед.* 2004. Т. 138, № 8. С. 196.
- 56 А. с. 1717032 СССР, 1991. *Бюлл. изобр.* 1992. № 9.
- 57 А. с. 638315 СССР, 1977. *Бюлл. изобр.* 1978. № 47.
- 58 А. с. 1366138 СССР, 1987. *Бюлл. изобр.* 1988. № 2.
- 59 А. с. 1253973 СССР, 1986. *Бюлл. изобр.* 1986. №32.
- 60 Гусева С. А., Харламова В. Е., Дерканосов Н. И. Тез. докл. Всес. конф. "Современные проблемы органического синтеза". Иркутск, 1988. С. 195.
- 61 А. с. 1818841 СССР, 1990. *Бюлл. изобр.* 1995. № 20.
- 62 А. с. 1735281 СССР, 1992. *Бюлл. изобр.* 1992. № 19.
- 63 А. с. 1747471 СССР, 1992. *Бюлл. изобр.* 1992. № 26.
- 64 Пат. 1836854 РФ, 1992.
- 65 Яровенко В. Л., Маринченко В. А. *Технология спирта*. М.: Колос, 2001. 464 с.
- 66 Молокова К. В., Привалова Е. А., Адамович С. Н., Мирскова А.Н., Мирсков Р. Г. // *Изв. вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2014. № 11(106). С. 70.
- 67 Привалова Е. А., Тигунцева Н. П., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г., Мирскова А. Н. // *Вестн. ИрГТУ*. 2015. № 11. С. 136.
- 68 Пат. 2092547 РФ, 1995.
- 69 Волчатова И. В., Медведева С. А., Коржова Л. Ф., Рудых Н. В. // *Прикл. биохимия и микробиология*. 2000. Т. 36, № 3. С. 293–298.
- 70 Волчатова И. В., Медведева С. А. // *Химия уст. разв.* 2001. Т. 9, № 4. С. 533.
- 71 Волчатова И. В., Медведева С. А., Беловежец Л. А., Коломиец Э. И., Мирскова А. Н., Левковская Г. Г. // *Материалы междунар. конф. "Микробиология и биотехнология XXI столетия", посвященная 100-летию со дня рождения С. А. Самцевича*. 22–24 мая 2002 г. Минск, 2002. С. 210.
- 72 Воронков М. Г., Горбалинский В. А., Дьяков В. М. // *Докл. РАН*. 1999. Т. 369, № 6. С. 831.
- 73 А. с. 1044032 СССР, 1984.
- 74 Пат. 2081166 РФ, 1995.
- 75 А. с. 1469853 СССР, 1987.
- 76 А. с. 1350172 СССР, 1987.
- 77 А. с. 1466203 СССР, 1988.
- 78 А. с. 1475124 СССР, 1989.
- 79 А. с. 1490966 СССР, 1987.
- 80 А. с. 1512064 СССР, 1987.
- 81 *Промышленная микробиология и успехи генетической инженерии* / Под ред. Г. К. Скрябина. М.: Мир, 1984. 176 с.
- 82 Воробьев Л. И. *Техническая микробиология*. М.: Высш. шк., 1987. 94 с.
- 83 Воронков М. Г., Нурбеков М. К., Бобкова С. Н., Караулова Л. К., Сузова М. И., Расулов М. М. // *Докл. РАН*. 2010. Т. 431, № 2. С. 261.
- 84 Нурбеков М. М., Расулов М. М., Воронков М. Г., Бобкова С. Н., Беликова О. А. // *Докл. РАН*. 2011. Т. 438, № 4. С. 559.
- 85 Пат. 2457837 РФ, 2011.
- 86 Расулов М. М., Воронков М. Г., Нурбеков М. К., Зверева М. В., Мирскова А. Н., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г. // *Докл. РАН*. 2012. Т. 444, № 2. С. 219.
- 87 Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Ступина А. Г., Чхенкели В. А., Воронков М. Г. // *Докл. РАН*. 2003. Т. 390, № 2. С. 280.
- 88 Stupina A. G., Mirskova A. N., Levkovskaya G. G. *Book of the Abstracts. Intern. Conf. Natural Products and Physiologically Active Substances-98 (ICNPAS-98)*, Novosibirsk. 1998. С. 120.
- 89 А. с. 843908 СССР, 1979.
- 90 Александров В. Г., Зак Г. А. // *Микробиология*. 1950. Т. 19, вып. 2. С. 97.
- 91 Александров В. Г., Терновская М. И. *Силикатные бактерии – эффективное удобрение*. М.: ВИНТИ по с/х, 1968. 82 с.
- 92 Няникова Г. Г., Виноградов Е. Я. *Bacillus Mucilaginosus. Перспективы использования*. СПб.: НИИХСПбГУ, 2000. 124 с.
- 93 Матусевич В. Ф. *Силикоз сельскохозяйственных животных*. Целиноград: ИЗДАТЕЛЬСТВО??, 1958. 143 с.
- 94 Матусевич В. Ф., Полетаев С. Д., Шапиро В. М., Виноградов Е. Я. *Биологическая профилактика силикозов*. Целиноград: изд. Целиноград. гос. мед. ин-та, 1968. 110 с.
- 95 А. с. 1367485 СССР, 1985.
- 96 Воронков М. Г., Виноградов Е. Я., Мирскова А. Н., Хохрин С. Н., Левковская Г. Г., Крюкова Ю. И., Гусева С. А., Тизенберг Г. М. // *Изв. СО АН СССР, сер. биол.* 1984. № 3. С. 101.
- 97 А. с. 1412289 СССР, 1986.
- 98 Адамович С. Н., Федосеев А. П., Киборт Р. В., Мирсков Р. Г., Мирскова А. Н. // *Бюлл. ВСНЦ СО РАМН*. 2012. Том 87, № 5, ч. 1. С. 173.
- 99 *Руководство по медицинской микробиологии*. Под ред. Лабинской А. С., Костюковой Н. Н. М.: Издательство БИНОМ. 2013. 752 с.
- 100 Анганова Е. В., Мирскова А. Н., Савченков М. Ф., Духанина А. В., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г., Крюкова Н. Ф. // *Сиб. мед. журн.* 2014. № 2. С. 75.
- 101 Крюкова Н. Ф., Адамович С. Н., Мирскова А. Н., Анганова Е. В. // *Бюлл. ВСНЦ СО РАМН*. 2012. Т. 87, № 5, ч. 1. С. 239.
- 102 Пат. 2511031 РФ, 2014.
- 103 Кассин В. Ю., Николаев М. П., Миронова Л. Д., Ролик И. С., Конюшко О. И., Мирскова А. Н., Воронков М. Г. // *Рос. отоларингология*. 2004. Т. 12, № 5. С. 85.

