

ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

МИНСК. БЕЛОРУССКАЯ НАУКА. 2018. ТОМ 62. № 5

Выходит шесть номеров в год

Журнал основан в июле 1957 года

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 387 от 18.05.2009.

*Входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь
для опубликования результатов диссертационных исследований, включен в базу данных
Российского индекса научного цитирования (РИНЦ)*

Главный редактор

Владимир Григорьевич Гусаков

Председатель Президиума Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Редакционная коллегия

С. А. Чижик

первый заместитель Председателя Президиума Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
(заместитель главного редактора)

С. Я. Килин

заместитель Председателя Президиума Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
(заместитель главного редактора)

А. В. Кильчевский

главный научный секретарь Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
(заместитель главного редактора)

Т. П. Петрович

(ведущий редактор журнала)

И. М. Богдевич – Институт почвоведения и агрохимии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

П. А. Витязь – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

И. Д. Волоотовский – Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь

С. В. Гапоненко – Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований, Минск, Беларусь

А. Е. Дайнеко – Институт мясо-молочной промышленности Научно-практического центра
Национальной академии наук Беларуси по продовольствию, Минск, Беларусь

О. А. Ивашкевич – Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Н. А. Изобов – Институт математики Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Н. С. Казак – Институт физики имени Б. И. Степанова Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

А. А. Коваленя – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Ф. Ф. Комаров – Институт прикладных физических проблем имени А. Н. Севченко

Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь

И. В. Когляров – Комиссия по опросам общественного мнения при Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь

В. А. Лабунов – Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, Минск, Беларусь

А. П. Ласковнев – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

О. Н. Левко – Институт истории Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
А. И. Лесникович – Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
В. Ф. Логинов – Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
А. А. Махнач – Научно-производственный центр по геологии, Минск, Беларусь
А. А. Михалевич – Институт энергетики Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
М. Е. Никифоров – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
В. А. Орлович – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
О. Г. Пенязков – Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
Ю. М. Плескачевский – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Беларусь
Н. С. Сердюченко – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
А. Ф. Смянович – Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь
Л. М. Томильчик – Институт физики имени Б. И. Степанова Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
С. А. Усанов – Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
Л. В. Хотылева – Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
В. А. Хрипач – Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь
И. П. Шейко – Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству, Жодино, Беларусь

Р е д а к ц и о н н ы й с о в е т

Ж. И. Алферов – Санкт-Петербургский национальный исследовательский академический университет Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
К. П. Валуцкас – Национальный институт рака, Вильнюс, Литва
С. Воденичаров – Болгарская академия наук, София, Болгария
И. М. Дунин – Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, Лесные Поляны, Россия
Н. Желев – Медицинский биотехнологический центр молекулярной и клеточной технологии Абергейского университета, Данди, Шотландия
Н. Н. Казанский – Институт лингвистических исследований Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия
А. Карклинш – Институт почвоведения и растениеводства Латвийского сельскохозяйственного университета в Елгава, Елгава, Латвия
С. П. Карпов – Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия
М. Ларссон – Университетский центр Алба Нова Стокгольмского университета, Стокгольм, Швеция
А. Г. Наумовец – Национальная академия наук Украины, Киев, Украина
И. Д. Рашаль – Институт биологии Латвийского университета, Рига, Латвия
В. А. Садовничий – Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия
А. Г. Тарарико – Национальная академия аграрных наук Украины, Киев, Украина
Л. Трипольская – Литовский центр аграрных и лесных наук, Вильнюс, Литва
Тьяу Ван Минь – Вьетнамская академия наук и технологий, Ханой, Вьетнам
А. Цайлингер – Институт квантовой оптики и квантовой информатики Австрийской академии наук, Вена, Австрия
В. Ф. Чехун – Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиологии имени Р. Е. Кавецкого Национальной академии наук Украины, Киев, Украина
Чжао Лян – Хэнаньская академия наук, Хэнань, Китай

Адрес редакции:

*ул. Академическая, 1, к. 119, 220072, Минск, Республика Беларусь.
Тел.: +375 17 284-19-19; e-mail: doklady_nanb@mail.ru
doklady.belnauka.by*

ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ. 2018. Т. 62. № 5

Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор Т. П. Петрович
Компьютерная верстка Н. И. Кашиба

Сдано в набор 10.10.2018. Выпуск в свет 30.10.2018. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 150 экз. Заказ 235.

Цена: индивидуальная подписка – 10,66 руб.; ведомственная подписка – 25,67 руб.

Издатель и полиграфическое исполнение:

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/18 от 02.08.2013. ЛП № 02330/455 от 30.12.2013. Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск.

© «Издательский дом «Беларуская навука».
Доклады НАН Беларуси, 2018

DOKLADY OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MINSK. BELARUSKAYA NAVUKA. 2018. Vol. 62. No. 5

Published bimonthly

The journal has been published since July, 1957

Founder – National Academy of Sciences of Belarus

The journal is registered on May 18, 2009 by the Ministry of Information of the Republic of Belarus
in the State Registry of Mass Media, reg. no. 387.

*The journal included in the List of Journal for Publication of the Results of Dissertation Research
in the Republic of Belarus and in the Database of Russian Science Citation Index (RSCI)*

Editor-in-Chief

Vladimir Grigorievich Gusakov

Chairman of the Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Editorial Board

Sergey A. Chizhik

First Vice Chairman of the Presidium of the National Academy, Minsk, Belarus
of Sciences of Belarus (*Associate Editor-in-Chief*)

Sergey Ya. Kilin

Vice Chairman of the Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
(*Associate Editor-in-Chief*)

Aleksandr V. Kilchevsky

Chief Scientific Secretary of the National Academy
of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus (*Associate Editor-in-Chief*)

Tatiana P. Petrovich

(*Lead editor*)

Iosiph M. Bogdevich – Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Belarus

Alexey Ye. Daineko – Institute for Meat and Dairy Industry of the Scientific
and Practical Center for Foodstuffs of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Sergey V. Gaponenko – Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research, Minsk, Belarus

Oleg A. Ivashkevich – Belarusian State University, Minsk, Belarus

Nikolai A. Izobov – Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Nikolai S. Kazak – B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Lubov V. Khotyleva – Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Vladimir A. Khripach – Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Fadei F. Komarov – A. N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus

Igor V. Kotlyarov – Commission for opinion polls of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Aleksandr A. Kovalenya – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Vladimir A. Labunov – Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics, Minsk, Belarus

Aleksandr P. Laskovnev – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Anatoly I. Lesnikovich – Belarusian State University, Minsk, Belarus

Olga N. Levko – Institute of History of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Vladimir F. Loginov – Institute for Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Anatoly A. Makhnach – Scientific and Practical Center on Geology, Minsk, Belarus
Aleksandr A. Mikhalevich – Institute of Power Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Mikhail Ye. Nikiforov – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Valentine A. Orlovich – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Oleg G. Penyazkov – A. V. Luikov Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Yury M. Pleskachevsky – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus
Nikolai S. Serduchenko – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Ivan P. Sheiko – Scientific and Practical Center for Animal Breeding, Zhodino, Belarus
Arnold F. Smeyanovich – Republican Scientific and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Belarus
Lev M. Tomilchik – B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Sergey A. Usanov – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Petr A. Vitiaz – Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Igor D. Volotovskii – Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Editorial Council

Zhores Alferov – Saint Petersburg National Research Academic University of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia
Chau Van Minh – Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, Vietnam
Vasily F. Chekhun – Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiology of the National Academy of Sciences, Kiev, Ukraine
Ivan M. Dunin – All-Russian Scientific Research Institute of Breeding of the Ministry of Agriculture Economy of the Russian Federation, Lesnye Poliany, Russia
Aldis Karklinsh – Institute of Soil Science and Plant of the Latvia University of Agriculture in Elgava, Jelgava, Latvia
Sergey P. Karpov – Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
Nikolai N. Kazansky – Institute for Linguistic Studies of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia
Mats Larsson – Alba Nova University Center of the University of Stockholm, Stockholm, Sweden
Anton G. Naumovets – National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine
Isaak D. Rashal – Institute of Biology of the University of Latvia, Riga, Latvia
Viktor A. Sadovnichiy – Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
Aleksandr G. Tarariko – National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine
Ludmila Tripolskaya – Lithuanian Centre of Agricultural and Forest Sciences, Vilnius, Lithuania
Konstantinas P. Valuckas – National Cancer Institute, Vilnius, Lithuania
Stefan Vodenicharov – Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria
Anton Zeilinger – Institute for Quantum Optics and Quantum Information of the Austrian Academy of Sciences, Vienna, Austria
Zhao Liang – Henan Academy of Sciences, Henan, China
Nikolai Zhelev – Medical Biotechnology Center of Molecular and Cellular Technology of the Abertay University, Dundee, Scotland

Address of the Editorial Office:

*1, Akademicheskaya Str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.
Phone: +375 17 284-19-19; e-mail: doklady_nanb@mail.ru
doklady.belnauka.by*

DOKLADY OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS. 2018. Vol. 62. No. 5

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor T. P. Petrovich
Computer Imposition N. I. Kashuba

Sent for press 10.10.2018. Output 30.10.2018. Format 60×84¹/₈. Offset paper.
Digital press. Printed sheets 14,88. Publisher's signatures 16,4. Circulation 150 copies. Order 235.
Price: individual subscription – 10,66 BYN, departmental subscription – 25,67 BYN.

Publisher and printing execution:

Republican unitary enterprise "Publishing House "Belaruskaya Navuka".
Certificate on the state registration of the publisher, manufacturer, distributor of printing editions
no. 1/18 dated of August 2, 2013. License for press no. 02330/455 dated of December 30, 2013.
40, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka".
Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus, 2018

СОДЕРЖАНИЕ

МАТЕМАТИКА

- Калинин А. И., Лавринович Л. И.** Асимптотический метод минимизации интегрального квадратичного функционала на траекториях квазилинейной динамической системы 519
- Соболевский П. И., Баханович С. В.** Плотные покрытия области вычислений гексагональными тайлами 525
- Корзюк В. И., Столярчук И. И.** Классическое решение смешанных задач для уравнения типа Клейна–Гордона–Фока с косыми производными в граничных условиях 531

ФИЗИКА

- Коршунов Ф. П., Ластовский С. Б., Якушевич А. С., Маркевич В. П., Мурин Л. И.** Влияние положения уровня Ферми на отжиг дефекта межзельный атом углерода в кремнии 540
- Романов И. А., Власукова Л. А., Комаров Ф. Ф., Пархоменко И. Н., Ковальчук Н. С., Моховиков М. А., Мудрый А. В., Мильчанин О. В.** Фото- и электролюминесценция структур оксид-нитрид-оксид-кремний для применения в кремниевой оптоэлектронике 546
- Троянчук И. О., Бушинский М. В.** Структура, магнитные и магнитотранспортные свойства слоистого кобальтита $Sr_{0,9}Y_{0,1}CoO_{2,63}$ 555

ХИМИЯ

- Лазнев К. В., Игнатович Ж. В., Кухто И. Н., Агабеков В. Е.** Поливинилспиртовые магнитные микросферы, содержащие 2-аминопиримидин-бис-этен-бис-диалкилфениламины в качестве флуоресцентных индикаторов pH 563
- Кулак А. И., Кулёмин Д. А.** Формирование системы двойных связей в процессе термokatалитической дегидратации поливинилового спирта 569
- Кашин И. А., Николаев Г. И., Тузиков А. В., Андрианов А. М.** Молекулярная динамика структурных комплексов потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 с белком gp120 оболочки вируса 576

БИОЛОГИЯ

- Полоз С. В., Анисимова Е. И., Лобановская П. Ю., Соловей О. Э., Куделич В. А., Скуратович Е. Г.** Характер адаптационных механизмов при формировании паразито-хозяйинных отношений у млекопитающих 585
- Титок М. А., Валентович Л. Н., Бережная А. В., Коломиец Э. И.** Анализ генома бактерий *Bacillus amylo-liquefaciens* БИМ В-439Д 592
- Казловский И. С., Зинченко А. И.** Создание штамма-продуцента химерного белка, состоящего из РНК-полимеразы и ДНК-аффинного домена 601

МЕДИЦИНА

- Яцкив А. А., Большакова Д. В., Чичко А. М., Ягур В. Е., Сукало А. В., Гончарова Р. И.** Влияние полиморфизма -174G/C гена *IL-6* на вероятность развития ревматоидного артрита у детского и взрослого населения Республики Беларусь 608

ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Якимчук Д. В., Каноков Е. Ю., Бундюкова В. Д., Демьянов С. Е.** Плазмонно-активные серебряные наноструктуры в порах ионно-трекового шаблона SiO_2 на кремнии 615

СОЦИАЛЬНО-ГУМАНИТАРНЫЕ НАУКИ

- Левко О. Н.** Истоки белорусской государственности: концепции и факты тысячелетней истории 623

АГРАРНЫЕ НАУКИ

- Лапа В. В., Михайловская Н. А., Касьянчик С. А., Мезенцева Е. Г.** Влияние моноазотной системы удобрения на биохимический статус дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы с высоким содержанием фосфора и калия 633

CONTENTS*MATHEMATICS*

- Kalinin A. I., Lavrinovich L. I.** Asymptotic minimization method of the integral quadratic functional on the trajectories of a quasilinear dynamical system..... 519
- Sobolevsky P. I., Bakhanovich S. V.** Dense coverage of the computational domain with hexagonal tiles..... 525
- Korzyuk V. I., Stolyarchuk I. I.** Classical solution to the mixed problems for the Klein–Gordon–Fock-type equation with curve derivatives in boundary conditions 531

PHYSICS

- Korshunov F. P., Lastovskii S. B., Yakushevich H. S., Markevich V. P., Murin L. I.** Effect of the Fermi level position on the annealing characteristic of interstitial carbon defect in silicon 540
- Romanov I. A., Vlasukova L. A., Komarov F. F., Parkhomenko I. N., Kovalchuk N. S., Mohovikov M. A., Mudryi A. V., Milchanin O. V.** Photo- and electroluminescence of oxide-nitride-oxide-silicon structures for silicon-based optoelectronics 546
- Troyanchuk I. O., Bushinsky M. V.** Structure, magnetic and magnetic transport properties of layered cobaltite $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{2.63}$ 555

CHEMISTRY

- Laznev K. V., Ignatovich Zh. V., Kukhta I. N., Agabekov V. E.** Polyvinyl alcohol magnetic microspheres containing 2-aminopyrimidin-bis(ethene)-bis(dialkylphenylamine) compounds as fluorescent pH indicators 563
- Kulak A. I., Kuliomin D. A.** Double bond system formation in the process of thermocatalytic dehydration of polyvinyl alcohol 569
- Kashin I. A., Nikolaev G. I., Tuzikov A. V., Andrianov A. M.** Molecular dynamics of structural complexes of potential HIV-1 inhibitors with the viral envelope gp120 protein 576

BIOLOGY

- Polaz S. V., Anisimava A. I., Labanouskaya P. Y., Salavei A. E., Kudelich V. A., Skuratovich A. G.** Character of adaptation mechanisms when forming parasite-host relations in mammals 585
- Titok M. A., Valentovich L. N., Berezhnaya A. V., Kolomiets E. I.** Analysis of the genome of the bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* BIM B-439D 592
- Kazlovskiy I. S., Zinchenko A. I.** Construction of a strain-producer of the chimeric protein consisting of RNA polymerase and a DNA-affinity domain..... 601

MEDICINE

- Yatskiu H. A., Balshakova D. V., Tchitchko A. M., Yagur V. E., Sukalo A. V., Goncharova R. I.** Influence of -174G/C *IL-6* gene polymorphism on the susceptibility to rheumatoid arthritis in children and adults in the Republic of Belarus..... 608

TECHNICAL SCIENCES

- Yakimchuk D. V., Kaniukov E. Yu., Bundyukova V. D., Demyanov S. E.** Plasmon-active silver nanostructures in the pores of ion-track template of SiO_2 on silicon 615

SOCIAL SCIENCES AND HUMANITIES

- Levko O. N.** Origins of the Belarusian statehood: concepts and millennium facts 623

AGRARIAN SCIENCES

- Lapa V. V., Mikhailouskaya N. A., Kasyanchyk S. A., Mezentseva E. G.** Influence of mononitrogen fertilizer system on biochemical status of Luvisol sandy loam soil with high contents of phosphorus and potassium 633

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

МАТЕМАТИКА
MATHEMATICS

УДК 517.977
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-519-524>

Поступило в редакцию 04.04.2018
Received 04.04.2018

А. И. Калинин, Л. И. Лавринович

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

**АСИМПТОТИЧЕСКИЙ МЕТОД МИНИМИЗАЦИИ ИНТЕГРАЛЬНОГО
КВАДРАТИЧНОГО ФУНКЦИОНАЛА НА ТРАЕКТОРИЯХ КВАЗИЛИНЕЙНОЙ
ДИНАМИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ**

(Представлено членом-корреспондентом В. В. Гороховиком)

Аннотация. Рассматривается задача минимизации интегрального квадратичного функционала на траекториях квазилинейной динамической системы с линейными терминальными ограничениями. Строятся асимптотические приближения к оптимальному программному управлению и оптимальной обратной связи в этой задаче.

Ключевые слова: малый параметр, квазилинейная система, квадратичный функционал, оптимальное управление, обратная связь, асимптотические приближения

Для цитирования. Калинин, А. И. Асимптотический метод минимизации интегрального квадратичного функционала на траекториях квазилинейной динамической системы / А. И. Калинин, Л. И. Лавринович // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 519–524. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-519-524>

Anatoly I. Kalinin, Leonid I. Lavrinovich

Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

**ASYMPTOTIC MINIMIZATION METHOD OF THE INTEGRAL QUADRATIC FUNCTIONAL
ON THE TRAJECTORIES OF A QUASILINEAR DYNAMICAL SYSTEM**

(Communicated by Corresponding Member Valentine V. Gorokhovich)

Abstract. The problem of minimizing the integral quadratic functional on the trajectories of a quasilinear dynamical system with linear terminal constraints is under consideration. Asymptotic approximations to the optimal open-loop and optimal feedback controls for this problem are constructed.

Keywords: small parameter, quasilinear system, quadratic functional, optimal control, feedback, asymptotic approximations

For citation: Kalinin A. I., Lavrinovich L. I. Asymptotic minimization method of the integral quadratic functional on the trajectories of a quasilinear dynamical system. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 519–524 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-519-524>

Введение. Динамические системы, содержащие малые параметры при нелинейностях, принято называть квазилинейными. Задачи оптимизации таких систем в различных постановках исследовались многими авторами [1–5]. Интерес к квазилинейным задачам вызван эффективностью асимптотических методов их решения, при применении которых исходные по существу нелинейные задачи сводятся к сравнительно несложной коррекции решений задач оптимизации линейных систем.

В сообщении рассматривается задача оптимального управления квазилинейной системой с интегральным квадратичным критерием качества при наличии линейных терминальных ограничений на траектории. Ее можно трактовать как задачу управления с минимальными энергетическими затратами. Целью работы является построение асимптотических приближений в виде программы и обратной связи к решению рассмотренной задачи.

Постановка задачи. В классе r -мерных управляющих воздействий $u(t) = (u_1(t), \dots, u_r(t))$, $t \in T = [t_*, t^*]$, с кусочно-непрерывными компонентами рассмотрим следующую задачу оптимального управления:

$$\dot{x} = A(t)x + \mu f(x, t) + B(t)u, \quad x(t_*) = x_*, \quad (1)$$

$$Hx(t^*) = g, \quad J(u) = \frac{1}{2} \int_{t_*}^{t^*} (x^T Q(t)x + u^T P(t)u) dt \rightarrow \min, \quad (2)$$

где μ – малый (по модулю) параметр; t_*, t^* – заданные моменты времени ($t_* < t^*$); x – n -вектор; g – m -вектор ($m \leq n$). Остальные элементы задачи имеют соответствующие размеры, при этом среди терминальных ограничений нет «лишних», т. е. $\text{rank } H = m$. В критерии качества $Q(t)$ – неотрицательно-определенная, а $P(t)$ – положительно-определенная симметрические матрицы для всех $t \in T$. В дальнейшем для определенности будем считать управления непрерывными справа в любой момент времени.

Предположение 1. Элементы матриц $A(t)$, $B(t)$, $Q(t)$, $P(t)$, $\partial f(x, t) / \partial x$, $x \in R^n$, $t \in T$, принадлежат классу C^p , $p \geq 1$.

Определение 1. Управление $u^{(N)}(t, \mu)$, $t \in T$, с кусочно-непрерывными компонентами назовем (программным) асимптотически субоптимальным управлением N -го порядка ($N = 0, 1, 2, \dots$) в задаче (1), (2), если оно отклоняется по критерию качества от оптимального управления на величину $O(\mu^{N+1})$, а порожденная им траектория $x(t, \mu)$, $t \in T$, удовлетворяет терминальному ограничению с точностью того же порядка малости.

Определение 2. Вектор-функцию $u^{(N)}(x, t, \mu)$ назовем асимптотически субоптимальной обратной связью N -го порядка, если для любого начального состояния (x_*, t_*) , $t_* < t^*$, имеет место $u^{(N)}(x_*, t_*, \mu) = u^{(N)}(t_*, \mu)$, где $u^{(N)}(t, \mu)$, $t \in T$, – асимптотически субоптимальное управление N -го порядка в задаче (1), (2).

Настоящее сообщение посвящено построению асимптотически субоптимальных управлений и обратных связей в задаче (1), (2).

Базовая задача. Вычисления при построении асимптотических приближений начинаются с решения базовой задачи, которая формально получается из исходной при $\mu = 0$ и в отличие от нее является задачей оптимизации линейной системы.

Предположение 2. Динамическая система в базовой задаче является управляемой на отрезке $[\tau, t^*]$ относительно подпространства $Hx = 0$ при любом $\tau \in [t_*, t^*]$ [6].

Заметим, что это предположение для стационарной динамической системы эквивалентно требованию $\text{rank}(HB, HAB, \dots, HA^{n-1}B) = m$.

При выполнении предположения 2 в базовой задаче существуют допустимые управления, а тогда эта задача имеет единственное решение [7], которое является нормальной экстремалью. Последнее означает, что принцип максимума [8] в данном случае может быть сформулирован следующим образом: пусть $u^0(t)$, $x^0(t)$, $t \in T$, – оптимальные управление и траектория в базовой задаче, тогда существует такой m -вектор множителей Лагранжа λ_0 , что выполняется условие

$$\psi^{0T}(t)B(t)u^0(t) - \frac{1}{2}u^{0T}(t)P(t)u^0(t) = \max_{u \in R^r} \left(\psi^{0T}(t)B(t)u - \frac{1}{2}u^T P(t)u \right), \quad t \in T,$$

где $\psi^0(t)$, $t \in T$, – решение сопряженной системы $\dot{\psi} = -A^T(t)\psi + Q(t)x^0(t)$, $\psi(t^*) = H^T \lambda_0$. Отсюда непосредственно получаем $u^0(t) = P^{-1}(t)B^T(t)\psi^0(t)$, $t \in T$.

Асимптотический анализ решения исходной задачи. Пусть $x(t, v, \mu)$, $\psi(t, v, \mu)$, $t \in T$, – решение начальной задачи

$$\begin{aligned} \dot{x} &= A(t)x + \mu f(x, t) + B(t)P^{-1}(t)B^T(t)\psi, \quad x(t_*) = x_*, \\ \dot{\psi} &= Q(t)x - \left(A(t) + \mu \frac{\partial f}{\partial x}(x, t) \right)^T \psi, \quad \psi(t_*) = v. \end{aligned} \quad (3)$$

Рассмотрим систему конечных уравнений

$$Hx(t^*, v, \mu) = g, \quad \psi(t^*, v, \mu) - H^T \lambda = 0 \quad (4)$$

относительно переменных v, λ при достаточно малых μ .

Т е о р е м а. При выполнении предположений 1, 2 в задаче (1), (2) с достаточно малым (по модулю) μ существует единственное оптимальное управление, которое является нормальной экстремалью и представимо в виде

$$u^0(t, \mu) = P^{-1}(t)B^T(t)\psi(t, v(\mu), \mu), \quad t \in T. \quad (5)$$

Значение $v(\mu)$ вектора сопряженных переменных в момент t_* и t -вектор множителей Лагранжа $\lambda(\mu)$, соответствующий в силу принципа максимума оптимальному управлению, удовлетворяют уравнениям (4), причем $v(\mu) \in C^p$, $v(0) = v_0 = \psi^0(t_*)$, $\lambda(\mu) \in C^p$, $\lambda(0) = \lambda_0$.

Доказываются сформулированные утверждения путем применения теоремы о неявной функции к системе уравнений (4). Невырожденность матрицы Якоби в данном случае гарантируется предположением 2.

Построение асимптотических приближений. Пусть задано натуральное число N , $N < p$. Поскольку $v(\mu)$ принадлежит классу C^p и $v(0) = v_0$, то имеет место асимптотическое равенство

$$v(\mu) = v^{(N)}(\mu) + O(\mu^{N+1}),$$

где

$$v^{(N)}(\mu) = v_0 + \sum_{k=1}^N \mu^k v_k, \quad (6)$$

есть полином Тейлора N -й степени. Асимптотически субоптимальное управление N -го порядка в задаче (1), (2) представимо в виде (сравни с (5))

$$u^{(N)}(t, \mu) = P^{-1}(t)B^T(t)\psi(t, v^{(N)}(\mu), \mu), \quad t \in T. \quad (7)$$

Для его построения нужно найти коэффициенты v_1, \dots, v_N полинома (6), что можно сделать, применяя методику, предложенную в [9]. Следуя этой методике, нужно разложить левые части уравнений (4) по целым степеням μ до порядка N включительно, применяя формализм Пуанкаре к начальной задаче (3), а затем методом неопределенных коэффициентов найти векторы v_1, \dots, v_N . Вычисления при этом сводятся к интегрированию систем линейных дифференциальных уравнений, а также к нахождению корней невырожденных линейных алгебраических систем.

Вектор-функция $\psi(t, v^{(N)}(\mu), \mu)$, $t \in T$, есть решение начальной задачи (3) с $v = v^{(N)}(\mu)$. Применяя классическую технику Пуанкаре к этой задаче, получаем асимптотическое представление $\psi(t, v^{(N)}(\mu), \mu) = \psi^{(N)}(t, \mu) + O(\mu^{N+1})$, $t \in T$, где $\psi^{(N)}(t, \mu) = \sum_{k=0}^N \mu^k \psi_k(t)$, $t \in T$, а вектор-функции $\psi_k(t)$, $t \in T$, находятся в результате последовательного решения задач Коши для систем линейных дифференциальных уравнений. Управление

$$\bar{u}^{(N)}(t, \mu) = P^{-1}(t)B^T(t)\psi^{(N)}(t, \mu), \quad t \in T, \quad (8)$$

наряду с (7) является асимптотически субоптимальным управлением N -го порядка в задаче (1), (2). Поскольку $\psi^{(0)}(t, \mu) = \psi^0(t)$, то $\bar{u}^{(0)}(t, \mu) = u^0(t)$, $t \in T$, т. е. решение базовой задачи является

асимптотически субоптимальным управлением нулевого порядка в исходной задаче. Асимптотически субоптимальное управление первого порядка имеет вид

$$\bar{u}^{(1)}(t, \mu) = u^0(t) + \mu P^{-1}(t) B^T(t) \psi_1(t), \quad t \in T,$$

где $\psi_1(t)$, $t \in T$, есть результат решения задачи Коши для системы

$$\dot{x}_1 = A(t)x_1 + B(t)P^{-1}(t)B^T(t)\psi_1 + f(x^0(t), t), \quad \dot{\psi}_1 = Q(t)x_1 - A^T(t)\psi_1 - \frac{\partial h}{\partial x}(x^0(t), \psi^0(t), t) \quad (9)$$

с начальными условиями $x_1(t_*) = 0$, $\psi_1(t_*) = v_1$, в которой $h(x, \psi, t) = \psi^T f(x, t)$.

Поскольку в силу (8)

$$\bar{u}^{(N)}(t_*, \mu) = P^{-1}(t_*)B^T(t_*)\psi^{(N)}(t_*, \mu) = P^{-1}(t_*)B^T(t_*) \sum_{k=0}^N \mu^k v_k, \quad (10)$$

то для построения асимптотически субоптимальных обратных связей нужно указать зависимость коэффициентов полиномов (6) от начального состояния (x_*, t_*) динамической системы в задаче (1), (2). Это можно сделать, проанализировав невырожденные системы линейных алгебраических уравнений, полученные для нахождения векторов v_0, v_1, \dots, v_N методом неопределенных коэффициентов. Такой анализ, в частности, показывает, что

$$v_0 = v_0(x_*, t_*) = F_{22}^{-1}(t_*)H^T M^{-1}(t_*)(H(F_{12}(t_*)K(t_*) - F_{11}(t_*))x_* + g) - K(t_*)x_*. \quad (11)$$

Здесь $K(t) = F_{22}^{-1}(t)F_{21}(t)$, $M(t) = HF_{12}(t)F_{22}^{-1}(t)H^T$, $t \in T$, а матрица

$$F(t) = \begin{pmatrix} F_{11}(t) & F_{12}(t) \\ F_{21}(t) & F_{22}(t) \end{pmatrix}, \quad t \in T,$$

с блоками размеров $n \times n$ есть решение начальной задачи $\dot{F} = -F\bar{A}(t)$, $F(t^*) = E_{2n}$, в которой

$$\bar{A}(t) = \begin{pmatrix} A(t) & B(t)P^{-1}(t)B^T(t) \\ Q(t) & -A^T(t) \end{pmatrix}.$$

Заметим, что с другой стороны, матричная функция $K(t)$, $t \in T$, есть решение дифференциального уравнения Риккати $\dot{K} = -KA(t) - A^T(t)K + KB(t)P^{-1}(t)B^T(t)K - Q(t)$, $K(t^*) = 0$.

Поскольку $\bar{u}^0(t_*, \mu) = P^{-1}(t_*)B^T(t_*)v_0(x_*, t_*)$, а $\bar{u}^0(t, \mu)$, $t \in T$, есть асимптотически субоптимальное управление нулевого порядка в задаче (1), (2), то согласно определению 2 вектор-функция

$$u^0(x, t) = P^{-1}(t)B^T(t)v_0(x, t), \quad (12)$$

где $v_0(x, t)$ задается формулой (11), будет асимптотически субоптимальной обратной связью нулевого порядка в исходной задаче.

Анализируя систему линейных алгебраических уравнений для компонент вектора v_1 , получаем

$$v_1(x_*, t_*) = -F_{22}^{-1}(t_*)(H^T M^{-1}(t_*)H(F_{12}(t_*)F_{22}^{-1}(t_*)\psi_1^0(t^*, x_*, t_*) - x_1^0(t^*, x_*, t_*)) - \psi_1^0(t^*, x_*, t_*)), \quad (13)$$

где $x_1^0(t, x_*, t_*)$, $\psi_1^0(t, x_*, t_*)$, $t \in T$, – решение задачи Коши для системы (9) с начальными условиями $x_1(t_*) = 0$, $\psi_1(t_*) = 0$, в которой $x^0(t) = x^0(t, x_*, t_*)$, $\psi^0(t) = \psi^0(t, x_*, t_*)$, $t \in T$, – траектории прямой и сопряженных систем, соответствующих оптимальному управлению в базовой задаче. При вычислении значений этих функций можно воспользоваться формулой Коши.

Из (10) следует, что асимптотически субоптимальная обратная связь первого порядка в задаче (1), (2) представима в виде $\bar{u}^{(1)}(x, t, \mu) = u^{(0)}(x, t) + \mu u^{(1)}(x, t)$, где $u^{(0)}(x, t)$ задается (11), (12), а для вычисления значений вектор-функции $u^{(1)}(x, t) = -P^{-1}(t)B^T(t)v_1(x, t)$ используется (13).

В задаче оптимального управления с закрепленным правым концом траектории, которая является частным случаем задачи (1), (2) ($H = E_n, g = 0$) формулы для асимптотически субоптимальных обратных связей упрощаются. Обратная связь нулевого порядка, как легко убедиться, принимает вид $u^{(0)}(x, t) = -P^{-1}(t)B^T(t)F_{12}^{-1}(t)F_{11}(t)x$ [10]. Относительная управляемость в данном случае означает полную управляемость [1].

Значительно проще строятся асимптотически субоптимальные обратные связи в задаче (1), (2) и случае, когда $Q(t) = 0, t \in T$. В этом случае $F_{21}(t) = K(t) = 0, F_{11}(t) = F_0(t), F_{22}^{-1}(t) = F_0^T(t), M(t) = C(t), t \in T$. Матричная функция $F_0(t)$ является решением начальной задачи $\dot{F}_0 = -F_0 A(t), F_0(t^*) = E_n$, а

$$C(t) = \int_t^{t^*} L(\tau)B(\tau)P^{-1}(\tau)B^T(\tau)L^T(\tau)d\tau, t \in T,$$

где $L(t), t \in T$, – решение начальной задачи $\dot{L} = -LA(t), L(t^*) = H$. Тогда (13) для асимптотически субоптимальной обратной связи нулевого порядка принимает вид

$$u^0(x, t) = -P^{-1}(t)B^T(t)L^T(t)C^{-1}(t)(L(t) - g).$$

Заключение. В сообщении предложены вычислительные процедуры построения асимптотических приближений к оптимальному программному управлению и оптимальной обратной связи в рассмотренной задаче. При их использовании вычисления сводятся к решению линейно-квадратичной задачи оптимального управления, интегрированию систем линейных дифференциальных уравнений, а также к нахождению корней невырожденных линейных алгебраических систем.

Список использованных источников

1. Красовский, Н. Н. Теория управления движением / Н. Н. Красовский. – М.: Наука, 1968. – 476 с.
2. Киселев, Ю. Н. Асимптотическое решение задачи оптимального быстрогодействия для систем управления, близкой к линейным / Ю. Н. Киселев // Докл. АН СССР. – 1968. – Т. 182, № 1. – С. 31–34.
3. Falb, P. L. Some successive approximation methods on control and oscillation theory / P. L. Falb, J. L. Jong. – New York, London: Academic Press, 1969. – 355 p. [https://doi.org/10.1016/s0076-5392\(08\)x6152-1](https://doi.org/10.1016/s0076-5392(08)x6152-1)
4. Черноусько, Ф. Л. Управления колебаниями / Ф. Л. Черноусько, Л. Д. Акуленко, Б. Н. Соколов. – М.: Наука, 1980. – 384 с.
5. Калинин, А. И. Асимптотика решений возмущенных задач оптимального управления / А. И. Калинин // Изв. РАН. Техн. кибернетика. – 1994. – № 3. – С. 104–114.
6. Габасов, Р. Качественная теория оптимальных процессов / Р. Габасов, Ф. М. Кириллова. – М.: Наука, 1971.
7. Мордухович, Б. Ш. Существование оптимальных управлений / Б. Ш. Мордухович // Соврем. пробл. матем. – М.: ВИНТИ, 1976. – Т. 6. – С. 207–271.
8. Математическая теория оптимальных процессов / Л. С. Понтрягин [и др.] – М.: Наука, 1983. – 392 с.
9. Калинин, А. И. Асимптотические методы оптимизации возмущенных динамических систем / А. И. Калинин. – Минск: Экоперспектива, 2000. – 183 с.
10. Калинин, А. И. Применение метода возмущений к задаче минимизации интегрального квадратичного функционала на траекториях квазилинейной системы / А. И. Калинин, Л. И. Лавринович // Изв. РАН. Теория и системы управления. – 2014. – № 2. – С. 3–12.

References

1. Krasovskii N. N. *Theory of Control of Motion*. Moscow, Nauka Publ., 1968. 476 p. (in Russian).
2. Kiselev Yu. N. An asymptotic solution of the problem of time-optimal control systems which are close to linear ones. *Doklady Akademii Nauk SSSR*, 1968, vol. 182, no. 1, pp. 31–34 (in Russian).
3. Falb P. L., Jong J. L. *Some Successive Approximation Methods on Control and Oscillation Theory*. New York, London, Academic Press, 1969. 355 p. [https://doi.org/10.1016/s0076-5392\(08\)x6152-1](https://doi.org/10.1016/s0076-5392(08)x6152-1)
4. Chernous'ko F. L., Akulenko L. D., Sokolov B. N. *Control of Oscillations*. Moscow, Nauka Publ., 1980. 384 p. (in Russian).
5. Kalinin A. I. Asymptotics of the Solutions of Perturbed Optimal Control Problems. *Journal of Computer and Systems Sciences International*, 1995, vol. 33, no. 6, pp. 75–84.

6. Gabasov R., Kirillova F. M. *Qualitative theory of optimal processes*. Moscow, Nauka Publ., 1971. (in Russian).
7. Mordukhovich B. Sh. Existence of Optimal Controls. *Sovremennye Problemy Matematiki [Modern problems of mathematics]*. Moscow, VINITI, 1976, vol. 6, pp. 207–271 (in Russian).
8. Pontryagin L. S., Boltyanskii V. G., Gamkrelidze R. V., Mishchenko E. F. *The Mathematical Theory of Optimal Processes*. Moscow, New York, Gordon and Breach, 1986. 392 p.
9. Kalinin A. I. *Asymptotic Methods for Optimization of Disturbed Dynamical Systems*. Minsk, Ekoperspektiva Publ., 2000. 183 p. (in Russian).
10. Kalinin A. I., Lavrinovich L. I. Application of the perturbation method for the minimization of an integral quadratic functional on the trajectories of a quasilinear system. *Journal of Computer and Systems Sciences International*, 2014, vol. 53, no. 2, pp. 149–158. <https://doi.org/10.1134/s1064230714020117>

Информация об авторах

Калинин Анатолий Иосифович – д-р физ.-мат. наук, профессор. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kalininai@bsu.by.

Лавринович Леонид Иванович – канд. физ.-мат. наук, доцент. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lavrinovich@bsu.by.

Information about the authors

Kalinin Anatoliy Iosiphovich – D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kalininai@bsu.by.

Lavrinovich Leonid Ivanovich – Ph. D. (Physics and Mathematics), Associate Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lavrinovich@bsu.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 519.6
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-525-530>

Поступило в редакцию 23.05.2018
Received 23.05.2018

П. И. Соболевский, С. В. Баханович

Институт математики Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ПЛОТНЫЕ ПОКРЫТИЯ ОБЛАСТИ ВЫЧИСЛЕНИЙ ГЕКСАГОНАЛЬНЫМИ ТАЙЛАМИ

(Представлено членом-корреспондентом Л. А. Яновичем)

Аннотация. Исследованы аспекты применения гексагонального тайлинга к алгоритмам с двумерной областью вычислений. Предложено формальное определение параметризованного гексагонального тайлинга. Получены необходимые и достаточные условия плотного покрытия области вычислений гексагональными тайлами.

Ключевые слова: тайлинг, гексагональный тайлинг, тайл, оптимизация программ, суперкомпьютер

Для цитирования. Соболевский, П. И. Плотные покрытия области вычислений гексагональными тайлами / П. И. Соболевский, С. В. Баханович // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 525–530. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-525-530>

Pavel I. Sobolevsky, Sergei V. Bakhanovich

Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

DENSE COVERAGE OF THE COMPUTATIONAL DOMAIN BY HEXAGONAL TILES

(Communicated by Corresponding Member Leonid A. Yanovich)

Abstract. The hexagonal tiling in application to algorithms with a two-dimensional computational domain is investigated. A formal definition of a parametrized hexagonal tiling is proposed. Necessary and sufficient conditions for a dense coverage of the computational domain by hexagonal tiles are obtained.

Keywords: tiling, hexagonal tiling, tile, code optimization, supercomputer

For citation: Sobolevsky P. I., Bakhanovich S. V. Dense coverage of the computational domain by hexagonal tiles. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 525–530 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-525-530>

Введение. Производительность последовательных и параллельных программ зависит от ряда факторов. Важное значение имеет то, насколько при разработке программ учитываются особенности архитектуры вычислительных систем. Одним из ключевых объектов внимания здесь является память компьютера, а точнее то, насколько рационально используется ее иерархическая структура. При разработке параллельных программ для суперкомпьютеров с распределенной памятью появляется еще один важный аспект – коммуникационная среда. В данном случае возникает задача минимизации накладных расходов на коммуникации при выполнении параллельных программ.

Для решения задач эффективного использования многоуровневой памяти и оптимизации обменов данными при разработке программных продуктов на практике широко используется техника тайлинга [1–4]. Суть тайлинга состоит в увеличении зернистости алгоритма: множество операций алгоритма разбивается на группы-тайлы, каждый тайл рассматривается как зерно вычислений или макрооперация. Как правило, техника тайлинга применяется к алгоритмам, заданным в виде гнезд циклов. В результате ее применения гнезда циклов программы преобразуются к гнездам циклов, содержащим большее (как правило, двукратное) количество вложенных циклов. Множество циклов можно условно разделить на две группы: глобальные циклы, задающие порядок выполнения макроопераций, и локальные циклы, описывающие порядок выполнения операций в рамках одного тайла.

Традиционно, техника тайлинга основана на использовании тайлов в форме n -мерных параллелепипедов. Техника постоянно развивается и одним из перспективных направлений ее развития является идея использования тайлов гексагональной формы [5]. Применение гексагональных тайлов дает возможность для ряда параллельных алгоритмов оптимизировать коммуникации более эффективно, чем это позволяет сделать классический тайлинг. Перспективность гексагонального тайлинга делает актуальной задачу разработки данной техники. Особую актуальность имеет решение этой задачи в рамках формализованного подхода – в виде строгого математического аппарата. Поскольку тайлинг – это преобразование алгоритма, то математический подход автоматически гарантирует его корректность. Кроме того, формализация обеспечивает большую вариативность тайлинга и, что не менее важно, дает возможность его интеграции в компиляторы последовательных и параллельных программ.

При разработке техники гексагонального тайлинга возникает целый спектр задач, и первой из них является задача плотного покрытия тайлами области вычислений алгоритма. Данная работа посвящена решению этой задачи в рамках формализованного подхода. В работе предложено формальное определение параметризованного гексагонального тайлинга. Основным результатом работы является необходимое и достаточное условие существования плотных покрытий области вычислений гексагональными тайлами. Полученные результаты являются развитием техники классического тайлинга, представленной в [4], на случай гексагонального тайлинга.

Гексагональный тайлинг. Будем предполагать, что область вычислений алгоритма (индексное множество) V – выпуклый многоугольник, состоящий из точек $J(J_1, J_2) \in Z^2$ с целочисленными координатами.

Основу теории гексагонального тайлинга составляет покрытие пространства Z^2 , в том числе области вычислений V , гексагональными тайлами – выпуклыми шестиугольниками с вершинами $J^{(i)} \in Z^2, 1 \leq i \leq 6$ (нумерация вершин по часовой стрелке). В рамках формализованного подхода гексагональный тайл можно определить как множество точек целочисленного пространства Z^2

$$T_6 = \left\{ J \in Z^2 \mid \bar{0} \leq H^{(1)}(J - J^{(1)}) \leq H^{(1)}(J^{(4)} - J^{(1)}) = \bar{R}^{(1)} - \bar{1}, \right. \\ \left. \bar{0} \leq H^{(2)}(J - J^{(2)}) \leq H^{(2)}(J^{(5)} - J^{(2)}) = \bar{R}^{(2)} - \bar{1} \right\}, \tag{1}$$

которое образовано пересечением двух параллелограммов, заданных унимодулярными матрица-

ми $H^{(k)} = \begin{pmatrix} h_{11}^{(k)} & 0 \\ h_{21}^{(k)} & h_{22}^{(k)} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \bar{h}_1^{(k)} \\ \bar{h}_2^{(k)} \end{pmatrix} \in Z^{2 \times 2}, |h_{11}^{(k)}| = |h_{22}^{(k)}| = 1, k = 1, 2$, и векторами $\bar{R}^{(k)} = (r_1^{(k)}, r_2^{(k)}) \in Z^2$,

$r_1^{(k)} \geq 1, r_2^{(k)} \geq 1, k = 1, 2$. Вариант гексагонального тайла, определяемого таким образом, изображен на рис. 1.

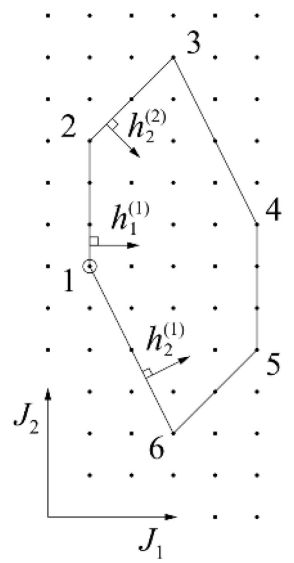


Рис. 1. Гексагональный тайл T_6
Fig. 1. Hexagonal tile T_6

Матрицы $H^{(1)}$ и $H^{(2)}$ составлены построчно из нормальных векторов прямых, на которых расположены стороны параллелограммов. Векторы $\bar{R}^{(1)}$ и $\bar{R}^{(2)}$ определяют размеры параллелограммов, в то время как матрицы $H^{(1)}$ и $H^{(2)}$ задают их форму и ориентацию на плоскости. Точки $J^{(1)}$ и $J^{(2)}$ являются точками привязки параллелограммов к плоскости и связаны соотношением $J^{(2)} = J^{(1)} + (0, \omega_0)$, где $\omega_0 \in Z$ – параметр, определяющий смещение параллелограмма с матрицей $H^{(2)}$ относительно параллелограмма с матрицей $H^{(1)}$ вдоль прямой с нормальным вектором $\bar{h}_1^{(1)}$. Значение параметра ω_0 влияет на соотношение между длинами параллельных сторон получаемого шестиугольника-тайла. С точки зрения гексагонального тайлинга, противоположащие параллельные стороны тайла должны быть равны. Значение параметра ω_0 , при котором шестиугольник T_6 удовлетворяет этому условию, определяется через параметры $H^{(k)}$ и $\bar{R}^{(k)}$. Это значение будет приведено позже.

Таким образом, матрицы $H^{(k)}$ и векторы $\bar{R}^{(k)}, k = 1, 2$, являются параметрами, определяющими форму и размеры гексагонального тайла.

Определив конфигурацию тайлов, далее необходимо осуществить покрытие ими пространства Z^2 и, тем самым, области вычислений V . Покрытие тайлами осуществляется с полным сохранением конфигурации тайлов, при этом каждый тайл получает свой уникальный идентификатор (индекс) $J^{gl} \in Z^2$. Данный идентификатор необходим для определения глобальных зависимостей между тайлами, для установления отношения соседства между ними и, в целом, для установления порядка выполнения тайлов, как макроопераций, при конечном преобразовании алгоритма.

По аналогии с традиционным тайлингом введем понятие начальной вершины тайла [4]. В данном случае начальной вершиной гексагонального тайла будем называть точку $J^{(1)}$. Начальная вершина фактически является точкой привязки тайла к плоскости (в пространстве Z^2). Тогда, с формальной точки зрения, покрытие пространства Z^2 тайлами вида (1) можно задать аффинной функцией вида

$$J^{(1)}(J^{gl}) = J^{\bar{0}} + PJ^{gl}, \quad J^{gl} \in Z^2. \quad (2)$$

Функция вида (2) устанавливает соответствие между идентификаторами тайлов и их начальными вершинами. Другими словами, данная функция для каждого тайла определяет точку его привязки в пространстве Z^2 . Функция, задающая покрытие, характеризуется двумя параметрами $J^{\bar{0}} \in Z^2$ и $P \in Z^{2 \times 2}$. Точка $J^{\bar{0}}$ по существу является начальной вершиной «нулевого» тайла ($J^{gl} = \bar{0}$). Невырожденная матрица P является ключевым параметром, поскольку определяет положение тайлов относительно друг друга. Именно от выбора этой матрицы зависит плотность укладки. Таким образом, тайлы вида (1) вместе с аффинной функцией (2), при выбранных параметрах $H^{(k)}$, $\vec{R}^{(k)}$, $J^{\bar{0}}$ и P , определяют гексагональный тайлинг в пространстве Z^2 .

Для упрощения дальнейших формулировок и обеспечения их корректности примем параметры тайлинга в следующем виде:

$$H^{(1)} = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ h_{21}^{(1)} & 1 \end{pmatrix}, \quad H^{(2)} = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ h_{21}^{(2)} & -1 \end{pmatrix}, \quad R^{(k)} = \begin{pmatrix} r_1^{(1)} & 0 \\ 0 & r_2^{(k)} \end{pmatrix}, \quad (3)$$

$$h_{21}^{(1)} \geq 0, \quad h_{21}^{(1)} + h_{21}^{(2)} \geq 1, \quad \omega_0 = 0,5(r_2^{(1)} + r_2^{(2)} - (h_{21}^{(1)} + h_{21}^{(2)})(r_1^{(1)} - 1)) - 1, \quad 0 < \omega_0 < r_2^{(1)} - 1.$$

В этом случае множество точек гексагонального тайла может быть представлено в виде

$$T_6(J^{gl}) = \left\{ J \in Z^2 \mid J_1^{(1)}(J^{gl}) \leq J_1 \leq J_1^{(1)}(J^{gl}) + r_1^{(1)} - 1, \right. \\ \left. J_2^{(1)}(J^{gl}) + \max(h_{21}^{(1)}(J_1^{(1)}(J^{gl}) - J_1), \omega_0 - r_2^{(2)} + 1 - h_{21}^{(2)}(J_1^{(1)}(J^{gl}) - J_1)) \leq J_2 \leq \right. \\ \left. \leq J_2^{(1)}(J^{gl}) + \min(r_2^{(1)} - 1 + h_{21}^{(1)}(J_1^{(1)}(J^{gl}) - J_1), \omega_0 - h_{21}^{(2)}(J_1^{(1)}(J^{gl}) - J_1)) \right\}. \quad (4)$$

Представление тайла (4) в отличие от определения (2) из всех вершин содержит только начальную. Каждая вершина $J^{(k)}(J^{gl})$ шестиугольника $T_6(J^{gl})$ может быть получена из начальной вершины путем ее сдвига на вектор $\vec{\lambda}^{(k)} = \lambda_1^{(k)}(0, 1) + \lambda_2^{(k)}(1, -h_{21}^{(1)})$:

$$J^{(k)}(J^{gl}) = J^{(1)}(J^{gl}) + \lambda_1^{(k)}(0, 1) + \lambda_2^{(k)}(1, -h_{21}^{(1)}), \quad k = 2, 3, 4, 5, 6, \\ \lambda_1^{(2)} = \omega_0, \quad \lambda_2^{(2)} = 0, \quad \lambda_1^{(3)} = r_2^{(1)} - 1, \quad \lambda_2^{(3)} = (r_2^{(1)} - \omega_0 - 1) / (h_{21}^{(1)} + h_{21}^{(2)}), \\ \lambda_1^{(4)} = r_2^{(1)} - 1, \quad \lambda_2^{(4)} = r_1^{(1)} - 1, \quad \lambda_1^{(5)} = r_2^{(1)} - \omega_0 - 1, \quad \lambda_2^{(5)} = r_1^{(1)} - 1, \\ \lambda_1^{(6)} = 0, \quad \lambda_2^{(6)} = (r_2^{(2)} - \omega_0 - 1) / (h_{21}^{(1)} + h_{21}^{(2)}).$$

Из данного представления следует, что координаты всех вершин гексагональных тайлов в покрытии будут иметь целочисленные координаты, если $(r_2^{(i)} - \omega_0 - 1) / (h_{21}^{(1)} + h_{21}^{(2)})$, $i = 1, 2$, – целые числа.

В рамках данного определения тайлинга далее предлагается формализованное решение задачи плотного покрытия тайлами области вычислений алгоритма.

Плотные покрытия. Пусть конфигурация гексагональных тайлов задана параметрами вида (3). Решение задачи плотного покрытия заключается в нахождении матрицы P , которая будет обеспечивать посредством отображения вида (2) плотную укладку тайлов на плоскости. Для решения этой задачи необходимо ввести ряд определений. Прежде всего – формальное определение плотного покрытия.

О п р е д е л е н и е 1. *Покрытие пространства Z^2 , а следовательно, и области вычислений $V \subset Z^2$, непересекающимися тайлами, будем называть плотным, если для любой точки $J \in Z^2$ существует единственный тайл в покрытии, которому эта точка принадлежит.*

Формализованное решение задачи плотной укладки непосредственно зависит от выбора направлений идентификации тайлов индексами J^{gl} . Направления идентификации тайлов, в свою очередь, определяют порядок выполнения операций конечного алгоритма на уровне макроопераций. Выбор направлений будем осуществлять с использованием понятия соседства на множестве тайлов.

Зафиксируем векторы $\bar{\xi}_1^{(1)}$, $\bar{\xi}_2^{(1)}$ и $\bar{\xi}_2^{(2)}$ с координатами, по модулю не превосходящими единицы, и такие, что $\bar{\xi}_2^{(2)} = \bar{\xi}_1^{(1)} - \bar{\xi}_2^{(1)}$.

О п р е д е л е н и е 2. *Соседними к заданному тайлу $T_6(J^{\text{gl}})$ будем называть тайлы $T_6(J^{\text{gl}} + \bar{\xi}_1^{(1)})$, $T_6(J^{\text{gl}} + \bar{\xi}_2^{(1)})$ и $T_6(J^{\text{gl}} + \bar{\xi}_2^{(2)})$, начальные вершины которых удовлетворяют условиям*

$$\begin{aligned} \bar{h}_1^{(1)}(J^{(1)}(J^{\text{gl}} + \bar{\xi}_1^{(1)}) - J^{(1)}(J^{\text{gl}})) &= r_1^{(1)}, \\ \bar{h}_2^{(1)}(J^{(1)}(J^{\text{gl}} + \bar{\xi}_2^{(1)}) - J^{(1)}(J^{\text{gl}})) &= r_2^{(1)}, \\ \bar{h}_2^{(2)}(J^{(1)}(J^{\text{gl}} + \bar{\xi}_2^{(2)}) - J^{(1)}(J^{\text{gl}})) &= r_2^{(2)}. \end{aligned} \quad (5)$$

Данное определение фактически устанавливает, что соседними к текущему тайлу $T_6(J^{\text{gl}})$ являются ближайшие тайлы по направлениям $\bar{\xi}_1^{(1)}$, $\bar{\xi}_2^{(1)}$ и $\bar{\xi}_2^{(2)}$ на множестве индексов тайлов. При этом направления, определяющие соседние тайлы, связаны с нормальными векторами прямых, на которых лежат стороны тайла. В плотных покрытиях соседние тайлы являются граничными к текущему в направлениях $\bar{h}_1^{(1)}$, $\bar{h}_2^{(1)}$ и $\bar{h}_2^{(2)}$.

Разнообразие связей направлений $\bar{\xi}_j^{(i)}$ с нормальными $\bar{h}_j^{(i)}$ порождает множество вариантов идентификации тайлов. В то же время решение задачи плотной укладки зависит от конкретного ее выбора. Поэтому далее выберем и зафиксируем один из вариантов идентификации: $\bar{\xi}_1^{(1)} = e_1 + e_2$, $\bar{\xi}_2^{(1)} = e_2$ и $\bar{\xi}_2^{(2)} = e_1$, где e_1 и e_2 – единичные векторы в пространстве Z^2 . Таким образом, соседними тайлами, лежащими в покрытии в направлениях $\bar{h}_1^{(1)}$, $\bar{h}_2^{(1)}$ и $\bar{h}_2^{(2)}$, будем полагать ближайшие тайлы, находящиеся в направлениях $e_1 + e_2$, e_2 и e_1 на множестве индексов J^{gl} . С учетом вида функции покрытия (2), условия (5) при таком выборе векторов $\bar{\xi}_j^{(i)}$ приводят в совокупности к системе уравнений вида

$$\begin{cases} \bar{h}_1^{(1)} P(e_1 + e_2) = r_1^{(1)}, \\ \bar{h}_2^{(1)} P e_2 = r_2^{(1)}, \\ \bar{h}_2^{(2)} P e_1 = r_2^{(2)}, \end{cases}$$

решением которой является матрица P в параметризованном виде

$$P = \begin{pmatrix} p & r_1^{(1)} - p \\ h_{21}^{(2)} p - r_2^{(2)} & r_2^{(1)} - h_{21}^{(1)}(r_1^{(1)} - p) \end{pmatrix}. \quad (6)$$

Параметризованность матрицы P вида (6) приводит к наличию множества вариантов укладки тайлов с заданным отношением соседства. Варианты упаковок приведены на рис. 2.

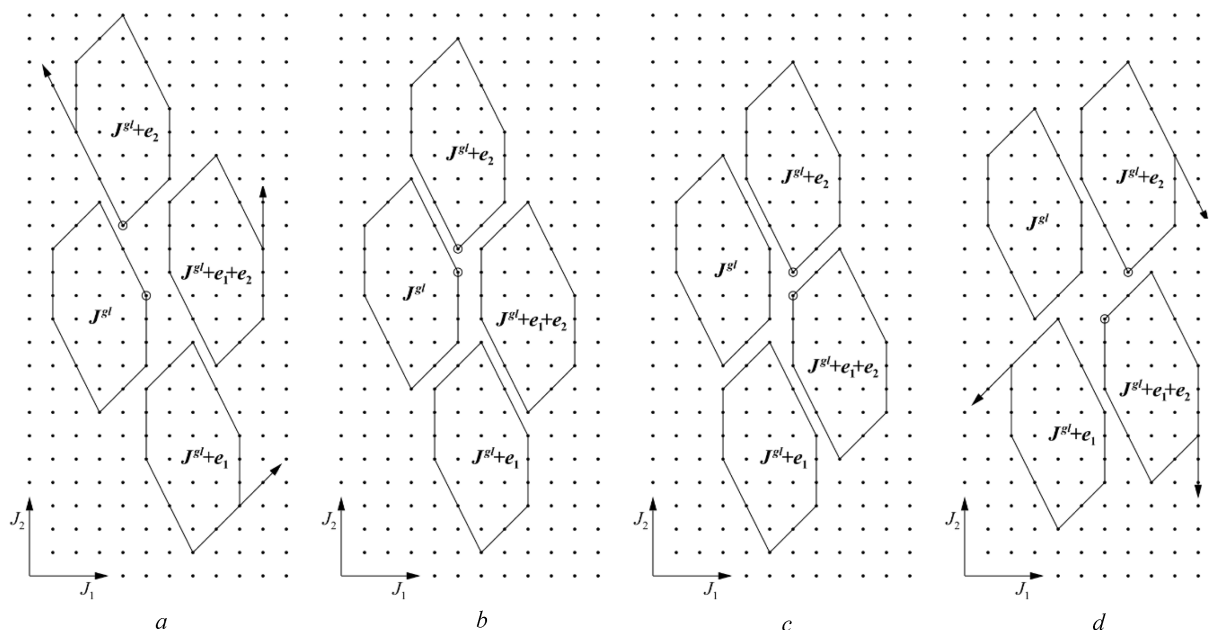


Рис. 2. Варианты покрытий гексагональными тайлами: *a* – неплотная укладка ($p > p_1$); *b* – плотная укладка ($p = p_1$); *c* – плотная укладка ($p = p_0$); *d* – неплотная укладка ($p < p_0$)

Fig. 2. Options for coatings with hexagonal tiles: *a* – loose laying ($p > p_1$); *b* – dense laying ($p = p_1$); *c* – dense laying ($p = p_0$); *d* – loose laying ($p < p_0$)

Множество вариантов покрытий для тайлов с целочисленными координатами вершин включает в себя только два варианта плотной укладки (рис. 2, *b, c*). Значения параметра p , соответствующие этим укладкам, будем обозначать p_0 и p_1 . С учетом выполнения условия (5) варианты упаковок идентифицируются дополнительными условиями на вершины соседних тайлов: $J_1^{(4)}(J^{gl}) = J_1^{(6)}(J^{gl} + e_2)$ (1-й вариант, рис. 2, *b*) или $J_1^{(4)}(J^{gl} + e_1 + e_2) = J_1^{(6)}(J^{gl} + e_2)$ (2-й вариант, рис. 2, *c*). Эти дополнительные условия и дают, соответственно, значения p_1 и p_0 параметра p .

Анализ функции укладки (2) с матрицей P вида (6) на предмет перемещения начальных вершин тайлов при изменении параметра p показывает, что при увеличении значения параметра p соседние тайлы $T_6(J^{gl} + e_1 + e_2)$, $T_6(J^{gl} + e_2)$ и $T_6(J^{gl} + e_1)$ смещаются относительно тайла $T_6(J^{gl})$ в направлениях, ортогональных нормальям $\bar{h}_1^{(1)}$, $\bar{h}_2^{(1)}$ и $\bar{h}_2^{(2)}$ соответственно. В этом случае при $p > p_1$ между тайлами появляются точки пространства Z^2 , не принадлежащие ни одному тайлу, причем их количество растет с увеличением параметра p . Данный случай изображен на рис. 2, *a*; стрелки при соседних тайлах показывают направления их перемещения.

При уменьшении значения параметра p наблюдается аналогичная предыдущему случаю ситуация: соседние тайлы перемещаются в обратных, коллинеарных направлениях, что, при $p < p_0$ приводит к появлению точек J , не принадлежащих ни одному из тайлов (рис. 2, *d*).

Таким образом, на основе вышеизложенных фактов имеет место следующее утверждение.

У т в е р ж д е н и е. Пусть параметры гексагонального тайлинга удовлетворяют условиям (3) и условию $(r_2^{(i)} - \omega_0 - 1) / (h_{21}^{(1)} + h_{21}^{(2)}) \in Z, i = 1, 2$; направления идентификации тайлов определяются векторами $\bar{\xi}_1^{(1)} = e_1 + e_2, \bar{\xi}_2^{(1)} = e_2$ и $\bar{\xi}_2^{(2)} = e_1$, а покрытие тайлами пространства Z^2 определяется функцией вида (2). Тогда, при сделанных предположениях, укладка тайлов определяется матрицей P вида (6), причем для того, чтобы укладка была плотной, необходимо и достаточно, чтобы параметр p принимал значение $p_0 = (r_2^{(2)} - \omega_0 - 1) / (h_{21}^{(1)} + h_{21}^{(2)})$ либо $p_1 = (r_2^{(2)} - \omega_0 - 1) / (h_{21}^{(1)} + h_{21}^{(2)}) + 1$.

Таким образом, в соответствии с утверждением, для тайлов с целочисленными координатами вершин существует ровно два варианта плотного покрытия пространства Z^2 . Необходимо отметить, что полученный критерий плотности укладки характерен только для указанного

в утверждении варианта идентификации тайлов. Вид матрицы P и значения параметра p , задающие плотное покрытие, индивидуальны для каждого выбора направлений идентификации тайлов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках подпрограммы «Математические методы» Государственной программы научных исследований «Конвергенция 2020».

Acknowledgements. The work is done within the framework of the subprogram “Mathematical Methods” of the State Research Program “Convergence 2020”.

Список использованных источников

1. Xue, J. *Loop Tiling For Parallelism* / J. Xue. – Norwell, MA, USA: Kluwer Academic Publishers, 2000. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4337-4>
2. Parameterized tiled loops for free / L. Renganarayanan [et al.] // *SIGPLAN Conference on Programming Language Design and Implementation*. – New York, NY, USA: ASMPress, 2007. – P. 405–414.
3. DynTile: Parametric Tiled Loop Generation for Parallel Execution on Multicore Processors / A. Hartono [et al.] // *24th International Parallel and Distributed Processing Symposium (2010 IPDPS Conference)*. – Atlanta, 2010.
4. Bakhanovich, S. V. Parametrized Tiling: Accurate Approximations and Analysis of Global Dependences / S. V. Bakhanovich, P. I. Sobolevsky // *Computational Mathematics and Mathematical Physics*. – 2014. – Vol. 54, N 11. – P. 1748–1758. <https://doi.org/10.1134/s0965542514110037>
5. The Relation Between Diamond Tiling and Hexagonal Tiling / T. Grosser [et al.] // *First International Workshop on High-Performance Stencil Computations*, January 21, 2014. – Vienna, Austria, 2014.

References

1. Xue J. *Loop Tiling For Parallelism*. Norwell, MA, USA, Kluwer Academic Publishers, 2000. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4337-4>
2. Renganarayanan L., Kim D., Rajopadhye S., Strout M. Parameterized tiled loops for free. *SIGPLAN Conference on Programming Language Design and Implementation*. New York, NY, USA, ASMPress, 2007, pp. 405–414.
3. Hartono A., Baskaran M., Ramanujam J., Sadayappan P. DynTile: Parametric Tiled Loop Generation for Parallel Execution on Multicore Processors. *24th International Parallel and Distributed Processing Symposium (2010 IPDPS Conference)*, Atlanta, 2010.
4. Bakhanovich S. V., Sobolevsky P. I. Parametrized Tiling: Accurate Approximations and Analysis of Global Dependences. *Computational Mathematics and Mathematical Physics*, 2014, vol. 54, no. 11, pp. 1748–1758. <https://doi.org/10.1134/s0965542514110037>
5. Grosser T., Verdoolaege S., Cohen A., Sadayappan P. The Relation Between Diamond Tiling and Hexagonal Tiling. *First International Workshop on High-Performance Stencil Computations*, Vienna, Austria, 2014.

Информация об авторах

Соболевский Павел Иосифович – д-р физ.-мат. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: sobolevsky@im.bas-net.by.

Баханович Сергей Викторович – канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: bsv@im.bas-net.by.

Information about the authors

Sobolevsky Pavel Iosiphovich – D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Chief researcher. Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sobolevsky@im.bas-net.by.

Bakhanovich Sergei Viktorovich – Ph. D. (Physics and Mathematics), Leading researcher. Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bsv@im.bas-net.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 517.958
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-531-539>

Поступило в редакцию 11.06.2018
Received 11.06.2018

Академик В. И. Корзюк¹, И. И. Столярчук²

¹*Институт математики Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

²*Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь*

КЛАССИЧЕСКОЕ РЕШЕНИЕ СМЕШАННЫХ ЗАДАЧ ДЛЯ УРАВНЕНИЯ ТИПА КЛЕЙНА–ГОРДОНА–ФОКА С КОСЫМИ ПРОИЗВОДНЫМИ В ГРАНИЧНЫХ УСЛОВИЯХ

Аннотация. В данной работе рассматривается смешанная задача для уравнения типа Клейна–Гордона–Фока в полуполосе с косыми производными в граничных условиях. При решении данной задачи возникают эквивалентные интегральные уравнения Вольтерры второго рода. Для полученных интегральных уравнений доказано существование единственного решения в классе дважды непрерывно дифференцируемых функций при заданной гладкости данных. С помощью метода характеристик показывается, что для гладкости решения исходной задачи необходимо и достаточно выполнения условий согласования заданных функций при их достаточной гладкости. Метод характеристик сводится к разбиению всей области решения на подобласти, в каждой из которых строятся решения подзадач с использованием начальных и граничных условий. Полученные решения затем склеиваются в общих точках, порождая условия склейки, которые и являются условиями согласования.

Данный подход позволяет строить как точные решения, так и приближенные. Точные решения могут быть найдены в том случае, если удастся разрешить эквивалентные интегральные уравнения Вольтерры. В противном случае можно найти приближенное решение задачи либо в аналитическом, либо в численном виде. При этом при построении приближенного решения существенными оказываются условия согласования, которые необходимо учитывать при использовании численных методов решения задачи.

Ключевые слова: уравнение Клейна–Гордона–Фока, метод характеристик, косые производные, классическое решение, смешанная задача, условия согласования

Для цитирования. Корзюк, В. И. Классическое решение смешанных задач для уравнения типа Клейна–Гордона–Фока с косыми производными в граничных условиях / В. И. Корзюк, И. И. Столярчук // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 531–539. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-531-539>

Viktor I. Korzyuk¹, Ivan I. Stolyarchuk²

¹*Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

²*Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

CLASSICAL SOLUTION TO THE MIXED PROBLEMS FOR THE KLEIN–GORDON–FOCK-TYPE EQUATION WITH CURVE DERIVATIVES IN BOUNDARY CONDITIONS

Abstract. The mixed problem for one-dimensional Klein–Gordon–Fock-type equation with curve derivatives in boundary conditions is considered in half-strip. The solution of this problem is reduced to solving the second type Volterra integral equations. Theorems of existence and uniqueness of the solution in the class of the twice continuously differentiable functions were proven for these equations when initial functions are smooth enough. It is proven that fulfillment of the matching conditions on the given functions is necessary and sufficient for the existence of the unique smooth solution when initial functions are smooth enough. The method of characteristics is used for the problem analysis. This method is reduced to the splitting the original area of the definition to the subdomains. The solution of the subproblem can be constructed in each subdomain with the help of the initial and boundary conditions. Then obtained solutions are glued in common points, and received glued conditions are the matching conditions.

This approach can be used in constructing as analytical solution, in case when solution of the integral equation can be found in explicit way, so for approximate solution. Moreover, approximate solutions can be constructed in numerical and analytical form. When numeric solution is constructed, then matching conditions are essential and they need to be considered while developing numerical methods.

Keywords: Klein–Gordon–Fock-type equation, characteristics method, curve derivatives, classical solution, mixed problem, matching conditions

For citation: Korzyuk V. I., Stolyarchuk I. I. Classical solution to the mixed problems for the Klein–Gordon–Fock-type equation with curve derivatives in boundary conditions. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 531–539 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-531-539>

Введение. В данном сообщении рассматривается смешанная задача для уравнения типа Клейна–Гордона–Фока с косыми производными в граничных условиях. В [1] рассмотрена смешанная задача для уравнения колебания полуграниченной струны, а в нашем сообщении изучена смешанная задача для уравнения Клейна–Гордона–Фока, в которой на обеих боковых границах полуполосы граничные условия содержат косые производные первого порядка. Для исследования поставленной задачи применяется хорошо зарекомендовавший себя метод характеристик, который использовался при изучении смешанных задач для волнового уравнения [2], а также первой смешанной задачи для уравнения Клейна–Гордона–Фока [3].

Постановка задачи. В области $Q = \{(t, x) | t \in (0; \infty), x \in (0; l)\}$ задается гиперболическое дифференциальное уравнение второго порядка

$$Lv = L^{(0)}v - \lambda(t, x)v = \partial_t^2 v - a^2 \partial_x^2 v - \lambda(t, x)v = f(t, x). \quad (1)$$

К (1) присоединяются начальные

$$v(0, x) = \varphi(x), \quad \partial_t v(0, x) = \psi(x), \quad x \in [0; l], \quad (2)$$

и граничные условия

$$\begin{aligned} B^{(0)}v &= r_1^{(0)}(t)\partial_t v(t, 0) + r_2^{(0)}(t)\partial_x v(t, 0) + r_3^{(0)}(t)v(t, 0) = \widetilde{\mu}^{(0)}(t), \quad t \in [0; \infty), \\ B^{(l)}v &= r_1^{(l)}(t)\partial_t v(t, l) + r_2^{(l)}(t)\partial_x v(t, l) + r_3^{(l)}(t)v(t, l) = \widetilde{\mu}^{(l)}(t), \quad t \in [0; \infty). \end{aligned} \quad (3)$$

Условия вида (3) называются граничными условиями с косыми производными [1; 4, с. 403].

Частное решение неоднородного уравнения. Рассмотрим неоднородное уравнение в области Q

$$\partial_t^2 w - a^2 \partial_x^2 w - \lambda(t, x)w = f(t, x) \quad (4)$$

с однородными начальными условиями

$$w(0, x) = 0, \quad \partial_t w(0, x) = 0, \quad x \in [0; l]. \quad (5)$$

В [5] построено частное решение $w \in C^2(\overline{Q})$ задачи (4), (5), если функции λ и f из класса $C^1(\overline{Q})$. Таким образом, как показано в [5; 6], решение задачи (1)–(3) сводится к решению задачи для однородного уравнения $Lu = 0$, т. е. задачи

$$\partial_t^2 u - a^2 \partial_x^2 u - \lambda(t, x)u = 0, \quad (6)$$

$$u(0, x) = \varphi(x), \quad \partial_t u(0, x) = \psi(x), \quad x \in [0; l], \quad (7)$$

$$\begin{aligned} r_1^{(0)}(t)\partial_t u(t, 0) + r_2^{(0)}(t)\partial_x u(t, 0) + r_3^{(0)}(t)u(t, 0) &= \mu^{(0)}(t), \quad t \in [0; \infty), \\ r_1^{(l)}(t)\partial_t u(t, l) + r_2^{(l)}(t)\partial_x u(t, l) + r_3^{(l)}(t)u(t, l) &= \mu^{(l)}(t), \quad t \in [0; \infty), \end{aligned} \quad (8)$$

где $\mu^{(i)}(t) = \widetilde{\mu}^{(i)}(t) - B^{(i)}w$, $i \in \{0, l\}$, где w – частное решение неоднородного уравнения (4).

Общее решение однородного уравнения. Решение задачи (6)–(8) в области Q сводится к решению локальных подзадач. Область Q с помощью прямых $t = kl / a$ разбивается на подобласти $Q^{(k)}$, $k = 0, 1, \dots$, по алгоритму, описанному в [5], а именно: $Q^{(k)} = \{(t, x) | x \in (0; l), t \in (kl / a; (k+1)l / a)\}$. В свою очередь каждая из областей $Q^{(k)}$ с помощью характеристик $x + at = (k+1)l$, $x - at = -kl$ разбивается на подобласти $Q^{(k,j)}$, $j = 1, 4$. Для областей $Q^{(k)}$ рассмотрим задачу (6)–(8) относительно $u^{(k)}$. В [5; 6] найдено общее решение (6), которое представимо в виде

$$u^{(k)}(t, x) = \int_{-kl}^{x-at} \int_{(k+1)l}^{x+at} (\mathcal{L}u^{(k)})(y, z) dz dy + p^{(k)}(x-at) + g^{(k)}(x+at), \quad (t, x) \in Q^{(k)}, \quad (9)$$

где $p^{(k)}, g^{(k)}$ – произвольные достаточно гладкие функции, а оператор $\mathcal{L}u^{(k)}(y, z) = -(2a)^{-2} \lambda u^{(k)}((2a)^{-1}(z-y), 0,5(z+y))$. Для интегрального уравнения (9) справедлива теорема о существовании единственного решения из класса $C^2(Q^{(k)})$ [5].

Т е о р е м а 1. Пусть $\lambda(t, x) \in C^1(\bar{Q})$. Решение уравнения (9) существует и единственно в классе $C^2(Q^{(k)})$ тогда и только тогда, когда $p^{(k)} \in C^2([-k+1)l; -(k-1)l])$, $g^{(k)} \in C^2([kl; (k+2)l])$, $k = 0, 1, \dots$

Решение задачи (6)–(8) в области Q определяется формулой $u(t, x) = u^{(k)}(t, x)$, $(t, x) \in Q^{(k)}$. Данное решение должно быть из класса $C^2(Q)$. Поэтому решения в областях $Q^{(k)}$ будем строить так, чтобы решения в точках соприкосновения склеивались непрерывно дифференцируемо до второго порядка включительно.

Задача (6)–(8) на $Q^{(k)}$. Рассмотрим условия типа Коши в области $Q^{(k)}$

$$u^{(k)}(t, x)|_{t=kl/a} = \varphi^{(k)}(x), \quad x \in [0; l], \quad \partial_t u^{(k)}(t, x)|_{t=kl/a} = \psi^{(k)}(x), \quad x \in [0; l], \quad (10)$$

где $\varphi^{(k)}(x) = u^{(k-1)}(kl/a, x)$, $\psi^{(k)}(x) = \partial_t u^{(k-1)}(kl/a, x)$.

Выпишем найденные в [3] функции $p^{(k)}(z)$, $z \in [-kl; -(k-1)l]$ и $g^{(k)}(y)$, $y \in [kl; (k+1)l]$,

$$p^{(k)}(z) = \frac{1}{2}(\varphi^{(k)}(z+kl) - \Psi^{(k)}(z+kl) - C) + \int_{(k+1)l}^{z+2kl} \int_z^{\eta-2kl} \mathcal{L}u^{(k)}(\xi, \eta) d\xi d\eta, \quad (11)$$

$$g^{(k)}(y) = \frac{1}{2}(\varphi^{(k)}(y-kl) + \Psi^{(k)}(y-kl) + C) + \int_{(k+1)l}^y \int_{\eta-2kl}^{-kl} \mathcal{L}u^{(k)}(\xi, \eta) d\xi d\eta, \quad (12)$$

где $\Psi^{(k)}(y) = \frac{1}{a} \int_l^y \psi^{(k)}(z) dz$; C – произвольная константа.

Исходя из формул (9), (11), (12) выпишем представление решения задачи в области $Q^{(k,1)}$

$$u^{(k)}(t, x) = \int_{x+at-2kl}^{x-at} \int_{y+2kl}^{x+at} \mathcal{L}u^{(k)}(\xi, \eta) d\eta d\xi + \frac{1}{2}(\varphi^{(k)}(x-at+kl) + \varphi^{(k)}(x+at-kl)) + \frac{1}{2}(\Psi^{(k)}(x+at-kl) - \Psi^{(k)}(x-at+kl)).$$

С помощью первого из условий (8) получаем следующее уравнение для нахождения неизвестной функции $p^{(k)}$ в области $Q^{(k,2)}$:

$$\theta(\xi) dp^{(k)}(\xi) + r_3^{(0)}\left(-\frac{\xi}{a}\right) p^{(k)}(\xi) = Z^{(k)}(\xi) - \frac{C}{2} r_3^{(0)}\left(-\frac{\xi}{a}\right),$$

где функция

$$Z^{(k)}(\xi) = \mu^{(0)}\left(-\frac{\xi}{a}\right) - \theta(\xi) \int_{(k+1)l}^{-\xi} \mathcal{L}u^{(k)}(\xi, z) dz - \left(r_2^{(0)}\left(-\frac{\xi}{a}\right) + ar_1^{(0)}\left(-\frac{\xi}{a}\right)\right) \times \left(\int_{-kl}^{\xi} \mathcal{L}u^{(k)}(y, -\xi) dy + dg^{(k)}(-\xi)\right) - r_3^{(0)}\left(-\frac{\xi}{a}\right) \left(\int_{-kl}^{\xi} \int_{(k+1)l}^{-\xi} \mathcal{L}u^{(k)}(y, z) dz dy + \widetilde{g^{(k)}}(-\xi)\right)$$

не содержит ни неизвестной функции $p^{(k)}$, ни свободной постоянной C , $a \widetilde{g^{(k)}}(y) = g^{(k)}(y) - C/2$, $\theta(\xi) = r_2^{(0)}(-\xi/a) - ar_1^{(0)}(-\xi/a)$. Функция $\theta(\xi)$ определяет наклон кривой производной в первом из условий (8). Если $\theta(\xi) = 0$, то это равносильно тому, что направление производной совпадает с характеристическим.

Решение в области $\mathcal{Q}^{(k,2)}$ можно определить по (9), где функции $p^{(k)}(\xi)$ определяются в зависимости от функции $\theta(\xi)$

$$p^{(k)}(\xi) = e^{-\int_{-kl}^{\xi} \frac{r_3^{(0)}(-\xi_1/a)}{\theta(\xi_1)} d\xi_1} \left(C_p + \int_{-kl}^{\xi} \frac{Z^{(k)}(\xi_1)}{\theta(\xi_1)} e^{-\int_{-kl}^{\xi_1} \frac{r_3^{(0)}(-\xi_2/a)}{\theta(\xi_2)} d\xi_2} d\xi_1 \right) - \frac{C}{2}, \quad \theta(\xi) \neq 0, \quad (13)$$

$$p^{(k)}(\xi) = \frac{\mu^{(0)}(-\xi/a)}{r_3^{(0)}(-\xi/a)} - \frac{2ar_1^{(0)}(-\xi/a)}{r_3^{(0)}(-\xi/a)} \left(\int_{-kl}^{\xi} \mathcal{L}u^{(k)}(y, -\xi) dy + d\mathbf{g}^{(k)}(-\xi) \right) - \\ - \int_{-kl(k+1)}^{\xi} \int_{-\xi}^{-\xi} \mathcal{L}u^{(k)}(y, z) dz dy - \frac{C}{2} - \widetilde{\mathbf{g}}^{(k)}(-\xi), \quad \theta(\xi) \equiv 0, \quad (14)$$

где C_p – некоторая константа.

Л е м м а 1. Пусть дана задача (6)–(8) на множестве $\overline{\mathcal{Q}^{(k,1)} \cup \mathcal{Q}^{(k,2)}}$, где $\lambda(t, x) \in C^1(\overline{\mathcal{Q}})$. Кроме того, пусть $\theta(\xi) \equiv 0$, $\varphi^{(k)} \in C^3([0; l])$, $\psi^{(k)} \in C^2([0; l])$, функции $\mu^{(0)} \in C^2([0; +\infty))$, $r_i^{(0)} \in C^2([0; +\infty))$, $i = \overline{1, 3}$. Тогда решение задачи (6)–(8) принадлежит классу $C^2(\overline{\mathcal{Q}^{(k,1)} \cup \mathcal{Q}^{(k,2)}})$ тогда и только тогда, когда выполняются условия согласования

$$\mu^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right) - r_3^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right)\varphi^{(k)}(0) - r_1^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right)(ad\varphi^{(k)}(0) + \psi^{(k)}(0)) = 0, \\ r_1^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right)\left(\frac{1}{a}\lambda\left(\frac{kl}{a}, 0\right)\varphi^{(k)}(0) + (ad^2\varphi^{(k)}(0) + d\psi^{(k)}(0))\right) - \\ - \frac{1}{a}r_3^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right)\left(\left(d\varphi^{(k)}(0) + \frac{1}{a}\psi^{(k)}(0)\right)\left(d\frac{r_1^{(0)}(t)}{r_3^{(0)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} - \psi^{(k)}(0) + \left(d\frac{\mu^{(0)}(t)}{r_3^{(0)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a}\right) = 0, \\ -ar_1^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right)\left(r_3^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right)\right)^{-1}\left(\frac{2}{a^2}\partial_t\lambda\left(\frac{kl}{a}, 0\right)\varphi^{(k)}(0) + \frac{2}{a^2}\lambda\left(\frac{kl}{a}, 0\right)\psi^{(k)}(0) + d^3\varphi^{(k)}(0) + \frac{1}{a}d^2\psi^{(k)}(0)\right) - \\ - d^2\varphi^{(k)}(0) - \frac{1}{a^2}\lambda\left(\frac{kl}{a}, 0\right)\varphi^{(k)}(0)\left(2\left(d\frac{r_1^{(0)}(t)}{r_3^{(0)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} + 1\right) + \frac{1}{a^2}\left(d^2\frac{\mu^{(0)}(t)}{r_3^{(0)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} - \\ - 2\left(d^2\varphi^{(k)}(0) + \frac{1}{a}d\psi^{(k)}(0)\right)\left(d\frac{r_1^{(0)}(t)}{r_3^{(0)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} - \frac{1}{a}\left(d\varphi^{(k)}(0) + \frac{1}{a}\psi^{(k)}(0)\right)\left(d^2\frac{r_1^{(0)}(t)}{r_3^{(0)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} = 0.$$

Л е м м а 2. Рассмотрим задачу (6)–(8) на множестве $\overline{\mathcal{Q}^{(k,1)} \cup \mathcal{Q}^{(k,2)}}$, где $\lambda(t, x) \in C^2(\overline{\mathcal{Q}})$. Пусть функция $\theta(\xi) \neq 0$, $\forall \xi \in [-(k+1)l, kl]$, $\varphi^{(k)} \in C^2([0; l])$, $\psi^{(k)} \in C^1([0; l])$, $\mu^{(0)} \in C^1([0; +\infty))$, $r_i^{(0)} \in C^1([0; +\infty))$, $i = \overline{1, 3}$. Тогда решение задачи (6)–(8) принадлежит классу $C^2(\overline{\mathcal{Q}^{(k,1)} \cup \mathcal{Q}^{(k,2)}})$ тогда и только тогда, когда выполняются условия согласования

$$\mu^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right) - r_3^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right)\varphi^{(k)}(0) - r_2^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right)d\varphi^{(k)}(0) - r_1^{(0)}\left(\frac{kl}{a}\right)\psi^{(k)}(0) = 0, \quad (15)$$

$$\begin{aligned} & \left(r_2^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right) dr_1^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right) - r_1^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right) dr_2^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right) + r_2^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right) r_3^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right) \right) \times \\ & \times \left(d\varphi^{(k)}(0) + \frac{1}{a} \psi^{(k)}(0) \right) - (\theta(-kl))^2 \frac{1}{a} \left(d \frac{\mu^{(0)}(t)}{r_2^{(0)}(t) - ar_1^{(0)}(t)} \right) \Big|_{t=kl/a} - \\ & - \mu^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right) r_3^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right) + \varphi^{(k)}(0) \left(-\frac{1}{a} (\theta(-kl))^2 \left(d \frac{r_3^{(0)}(t)}{r_2^{(0)}(t) - ar_1^{(0)}(t)} \right) \Big|_{t=kl/a} + r_3^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right)^2 \right) + \\ & + \left(ad^2 \varphi^{(k)}(0) r_1^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right) + \frac{1}{a} d\psi^{(k)}(0) r_2^{(0)} \left(\frac{kl}{a} \right) \right) \theta(-kl) - \frac{1}{2a^2} \theta(-kl) \lambda \left(\frac{kl}{a}, 0 \right) \varphi^{(k)}(0) = 0, \end{aligned} \tag{16}$$

а также условие на выбор константы в (13) $C_p = \frac{\varphi^{(k)}(0)}{2} - \frac{1}{2a} \int_l^0 \psi^{(k)}(\xi) d\xi + \int_{(k+1)l}^{kl} d\eta \int_{-kl}^{\eta-2kl} \times \mathcal{L}u^{(k)}(\xi, \eta) d\xi$.

Для доказательства данных лемм требуется приравнять значения функции $p^{(k)}(\xi)$, определенной по (13), (14), в точке $\xi = -kl$ к значению функции $p^{(k)}(\xi)$, найденной по (11) в точке $\xi = -kl$.

Л е м м а 3. Пусть функция $\theta(\xi) \rightarrow 0$. Тогда функция $p^{(k)}(\xi)$, определенная по (13), стремится к функции $p^{(k)}(\xi)$, определенной по (14), тогда и только тогда, когда $r_3^{(0)}(\xi)(r_2^{(0)}(\xi) - ar_1^{(0)}(\xi)) > 0$, в противном случае $p^{(k)}(\xi) \rightarrow \infty$.

Доказательство данной леммы приведено в [1].

З а м е ч а н и е 1. Если выполняется тождество $(r_1^{(0)}(\xi))^2 + (r_2^{(0)}(\xi))^2 \equiv 0$, то требования к функциям $\varphi^{(k)}$ и $\psi^{(k)}$ в лемме 1 можно ослабить: $\varphi^{(k)} \in C^2([0; l])$, $\psi^{(k)} \in C^1([0; l])$.

Исследование граничного условия на правой границе во многом повторяет исследование граничного условия на левой границе. Из второго условия в (8) получаем следующее уравнение для нахождения неизвестной функции $g^{(k)}$ в области $Q^{(k,3)}$:

$$\rho(\eta) dg(\eta) + r_3^{(l)} \left(\frac{\eta-l}{a} \right) g(\eta) = Y^{(k)}(\eta) + \frac{C}{2} r_3^{(l)} \left(\frac{\eta-l}{a} \right),$$

где

$$\begin{aligned} Y^{(k)}(\eta) = & \mu^{(l)} \left(\frac{\eta-l}{a} \right) - r_3^{(l)} \left(\frac{\eta-l}{a} \right) \left(\int_{-kl}^{2l-\eta} \int_{(k+1)l}^{\eta} \mathcal{L}u^{(k)}(y, z) dz dy + \widetilde{p^{(k)}}(2l-\eta) \right) - \\ & - \rho(\eta) \int_{-kl}^{2l-\eta} \mathcal{L}u^{(k)}(y, \eta) dy - \left(r_2^{(l)} \left(\frac{\eta-l}{a} \right) - ar_1^{(l)} \left(\frac{\eta-l}{a} \right) \right) \left(\int_{(k+1)l}^{\eta} \mathcal{L}u^{(k)}(2l-\eta, z) dz + dp^{(k)}(2l-\eta) \right). \end{aligned}$$

Здесь $\widetilde{p^{(k)}}(z) = p^{(k)}(z) + C/2$ и $\rho(\eta) = r_2^{(l)}((\eta-l)/a) + ar_1^{(l)}((\eta-l)/a)$. Функция $\rho(\eta)$ определяет наклон косой производной во втором из условий (8).

Решение в области $Q^{(k,3)}$ можно определить по (9), где функция $g^{(k)}$ задается следующим образом:

$$\begin{aligned} g^{(k)}(\eta) = & e^{-\int_{(k+1)l}^{\eta} \frac{r_3^{(l)}((\eta_1-l)/a)}{\rho(\eta_1)} d\eta_1} \times \\ & \times \left(C_g + \int_{(k+1)l}^{\eta} \frac{Y^{(k)}(\eta_1)}{\rho(\eta_1)} e^{\int_{(k+1)l}^{\eta_1} \frac{r_3^{(l)}((\eta_2-l)/a)}{\rho(\eta_2)} d\eta_2} d\eta_1 \right) + \frac{C}{2}, \rho(\eta) \neq 0; \end{aligned} \tag{17}$$

$$g^{(k)}(\eta) = \frac{\mu^{(l)}((\eta-l)/a)}{r_3^{(l)}((\eta-l)/a)} - \left(\int_{-kl}^{2l-\eta} \int_{(k+1)l}^{\eta} \mathcal{L}u^{(k)}(y, z) dz dy + \overline{p^{(k)}}(2l-\eta) \right) - \frac{2ar_1^{(l)}((\eta-l)/a)}{r_3^{(l)}((\eta-l)/a)} \times \\ \times \left(\int_{(k+1)l}^{\eta} \mathcal{L}u^{(k)}(2l-\eta, z) dz + dp^{(k)}(2l-\eta) \right) + \frac{C}{2}, \quad \rho(\eta) \equiv 0, \quad (18)$$

где C_g – некоторая константа.

Л е м м а 4. Пусть дана задача (6)–(8) на множестве $\overline{Q^{(k,1)} \cup Q^{(k,3)}}$, $\lambda(t, x) \in C^2(\overline{Q})$. Если $\rho(\eta) \equiv 0$, $\varphi^{(k)} \in C^3([0; l])$, $\psi^{(k)} \in C^2([0; l])$, $\mu^{(l)} \in C^2([0; +\infty))$, $r_i^{(l)} \in C^2([0; +\infty))$, $i = \overline{1, 3}$, то решение задачи (6)–(8) принадлежит классу $C^2(\overline{Q^{(k,1)} \cup Q^{(k,3)}})$ тогда и только тогда, когда выполняются условия согласования

$$\mu^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right) - r_3^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)\varphi^{(k)}(l) - ar_1^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)\left(d\varphi^{(k)}(l) - \frac{1}{a}\psi^{(k)}(l)\right) = 0, \\ r_1^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)\left(\frac{1}{a}\lambda\left(\frac{kl}{a}, l\right)\varphi^{(k)}(l) + a\left(d^2\varphi^{(k)}(l) - \frac{1}{a}d\psi^{(k)}(l)\right)\right) - \\ - \frac{1}{a}r_3^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)\left(d\varphi^{(k)}(l) - \frac{1}{a}\psi^{(k)}(l)\right)\left(d\frac{r_1^{(l)}(t)}{r_3^{(l)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} + \psi^{(k)}(l) - \left(d\frac{\mu^{(l)}(t)}{r_3^{(l)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} = 0, \\ a\left(r_3^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)\right)^{-1}r_1^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)\left(-\frac{2}{a^2}\partial_t\lambda\left(\frac{kl}{a}, l\right)\varphi^{(k)}(l) - \frac{2}{a^2}\lambda\left(\frac{kl}{a}, l\right)\psi^{(k)}(l) - d^3\varphi^{(k)}(l) + \frac{1}{a}d^2\psi^{(k)}(l)\right) - \\ - \frac{1}{a^2}\lambda\left(\frac{kl}{a}, l\right)\varphi^{(k)}(l)\left(-2\left(d\frac{r_1^{(l)}(t)}{r_3^{(l)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} + 1\right) + \frac{1}{a^2}\left(d^2\frac{\mu^{(l)}(t)}{r_3^{(l)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} - d^2\varphi^{(k)}(l) + \\ + 2\left(d\frac{r_1^{(l)}(t)}{r_3^{(l)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a}\left(d^2\varphi^{(k)}(l) + \frac{1}{a}d\psi^{(k)}(l)\right) + \frac{1}{a}\left(-d\varphi^{(k)}(l) + \frac{1}{a}\psi^{(k)}(l)\right)\left(d^2\frac{r_1^{(l)}(t)}{r_3^{(l)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} = 0.$$

Л е м м а 5. Пусть дана задача (6)–(8) на множестве $\overline{Q^{(k,1)} \cup Q^{(k,3)}}$, $\lambda(t, x) \in C^1(\overline{Q})$. Если $\rho(\eta) \neq 0$, $\forall \eta \in [(k+1)l, (k+2)l]$, $\varphi^{(k)} \in C^2([0; l])$, $\psi^{(k)} \in C^1([0; l])$, $\mu^{(l)} \in C^1([0; +\infty))$, $r_i^{(l)} \in C^1([0; +\infty))$, $i = \overline{1, 3}$, то решение задачи (6)–(8) принадлежит классу $C^2(\overline{Q^{(k,1)} \cup Q^{(k,3)}})$ тогда и только тогда, когда выполняются условия согласования

$$\mu^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right) - r_3^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)\varphi^{(k)}(l) - r_2^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)d\varphi^{(k)}(l) - r_1^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)\psi^{(k)}(l) = 0, \quad (19) \\ \left(r_2^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)r_3^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right) - r_1^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)dr_2^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right) + r_2^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)dr_1^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)\right)\left(d\varphi^{(k)}(l) + \frac{1}{a}\psi^{(k)}(l)\right) + \\ + \frac{1}{a}(\rho((k+1)l))^2\left(d\frac{\mu^{(l)}(t)}{r_2^{(l)}(t) + ar_1^{(l)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} - \mu^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)r_3^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right) + \\ + \varphi^{(k)}(l)\left(-\frac{1}{a}(\rho((k+1)l))^2\left(d\frac{r_3^{(l)}(t)}{r_2^{(l)}(t) + ar_1^{(l)}(t)}\right)\Bigg|_{t=kl/a} + r_3^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)^2\right) - \\ - \left(ad^2\varphi^{(k)}(l)r_1^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right) + \frac{1}{a}d\psi^{(k)}(l)r_2^{(l)}\left(\frac{kl}{a}\right)\right)\rho((k+1)l) = 0, \quad (20)$$

а также условие на выбор константы $C_g = \varphi^{(k)}(l) / 2$.

Для доказательства лемм 4 и 5 требуется приравнять значения функции $g^{(k)}(\eta)$, определенной по формулам (17), (18), в точке $\eta = (k+1)l$ к значению функции $g^{(k)}(\eta)$, найденной по (12) в точке $\eta = (k+1)l$.

Л е м м а 6. Пусть функция $\rho(\eta) \rightarrow 0$. Тогда функция $g^{(k)}(\eta)$, определенная по (17), стремится к функции $g^{(k)}(\eta)$, определенной по (18), тогда и только тогда, когда $r_3^{(l)}(\eta)(r_2^{(l)}(\eta) + ar_1^{(l)}(\eta)) > 0$, в противном случае $g^{(k)}(\eta)$, определенная по (17), стремится к бесконечности.

З а м е ч а н и е 2. Если выполняется тождество $(r_1^{(l)}(\eta))^2 + (r_2^{(l)}(\eta))^2 \equiv 0$, то требования на функции $\varphi^{(k)}$ и $\psi^{(k)}$ в лемме 4 можно ослабить: $\varphi^{(k)} \in C^2([0; l])$, $\psi^{(k)} \in C^1([0; l])$.

В области $Q^{(k,4)}$ решение автоматически строится по (9), где функция $g^{(k)}$ задается либо по (17), либо по (18), в зависимости от значения $\rho(\xi)$, а функция $p^{(k)}$ задается либо по (13), либо по (14), в зависимости от значения $\theta(\xi)$.

При выполнении условий лемм 1, 2 и 4, 5 решение задачи (6)–(8) существует и единственно в классе $C^2(\overline{Q^{(k)}})$.

Задача в полуполосе. В предыдущем пункте было построено решение задачи (6)–(8) и получены условия согласования для него в каждой отдельной области $Q^{(k)}$. Определим начальные функции $\varphi^{(k)}$ и $\psi^{(k)}$ из (10) следующим образом:

$$\begin{aligned} \varphi^{(k)}(x) &= u^{(k-1)}\left(\frac{kl}{a}, x\right) = \int_{-(k-1)l}^{x-kl} \int_{kl}^{x+kl} \mathcal{L}u^{(k)}(\xi, \eta) d\eta d\xi + p^{(k-1)}(x-kl) + g^{(k-1)}(x+kl), \\ \psi^{(k)}(x) &= \partial_t u^{(k-1)}\left(\frac{kl}{a}, x\right) = a \int_{-(k-1)l}^{x-kl} \mathcal{L}u^{(k)}(\xi, x+kl) d\xi - \\ &- a \int_{kl}^{x+kl} \mathcal{L}u^{(k)}(x-kl, \eta) d\eta - adp^{(k-1)}(x-kl) + adg^{(k-1)}(x+kl), \quad x \in [0; l]. \end{aligned} \tag{21}$$

Введем обозначение $u^{(k,k+1)}(t, x) = u^{(i)}(t, x)$, $(t, x) \in \overline{Q^{(i)}}$, $i = k, k+1$.

Л е м м а 7. Пусть выполнены условия лемм 1, 2 и 4, 5 в областях $Q^{(k)}$ и $Q^{(k+1)}$. Функции $\varphi^{(k+1)}$ и $\psi^{(k+1)}$ определены по (21). Для того чтобы решение $u^{(k,k+1)} \in C^2(\overline{Q^{(k+1)} \cup Q^{(k)}})$, необходимо и достаточно, чтобы $u^{(k)} \in C^{2+i}(Q^{(k)})$, где $i = 1$, если $\theta(\xi) \equiv 0$, но $(r_1^{(0)}(\xi))^2 + (r_2^{(0)}(\xi))^2 \neq 0$ или $\rho(\eta) \equiv 0$, но $(r_1^{(l)}(\eta))^2 + (r_2^{(l)}(\eta))^2 \neq 0$. В противном случае $i = 0$.

Доказательство данной леммы проводится путем приравнивания значений функций $u^{(k)}$ и $u^{(k+1)}$ на прямой $t = kl/a$, а также их производных до второго порядка включительно.

С л е д с т в и е. Пусть $\theta(\xi) \equiv 0$ и $(r_1^{(0)}(\xi))^2 + (r_2^{(0)}(\xi))^2 \neq 0$ или $\rho(\eta) \equiv 0$ и $(r_1^{(l)}(\eta))^2 + (r_2^{(l)}(\eta))^2 \neq 0$. Решение $u^{(k)} \in C^2(Q^{(k)})$ тогда и только тогда, когда $u^{(0)} \in C^{2+k}(Q^{(0)})$.

Данное следствие требует, чтобы в области Q выполнялись условия согласования на решение $u^{(0)}$ и его производные до порядка $2+k$ включительно в точках $(t, x) = (0, 0)$, $(t, x) = (0, l)$. Таким образом доказаны теоремы.

Т е о р е м а 2. Пусть $\theta(\xi) \equiv 0$ и $(r_1^{(0)}(\xi))^2 + (r_2^{(0)}(\xi))^2 \neq 0$ или $\rho(\eta) \equiv 0$ и $(r_1^{(l)}(\eta))^2 + (r_2^{(l)}(\eta))^2 \neq 0$. Функции $\varphi \in C^\infty([0; l])$, $\psi \in C^\infty([0; l])$, $\mu^{(j)}, r_i^{(j)} \in C^\infty([0; +\infty))$, $j \in \{0, l\}$, $i = \overline{1, 3}$, $\lambda \in C^\infty(\overline{Q})$. Решение задачи (6)–(8) существует и единственно в классе $C^\infty(\overline{Q})$ тогда и только тогда, когда выполняются условия согласования

$$\begin{aligned} &\left(d^j \left(\left(r_3^{(0)} \left(-\frac{z}{a} \right) \right)^{-1} \left(\mu^{(0)} \left(-\frac{z}{a} \right) - 2ar_1^{(0)} \left(-\frac{z}{a} \right) \left(\frac{1}{2} (d\varphi(-z) + \frac{1}{a} d^2\psi(-z)) \right) \right) \right) \right) \Bigg|_{z=0} - \\ &- \left(d^j \left(\frac{1}{2} (\varphi(-z) + \frac{1}{a} d\psi(-z)) - \int_l^{\frac{-zz}{\eta}} \mathcal{L}u(\xi, \eta) d\xi d\eta \right) \right) \Bigg|_{z=0} = \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= \left(d^j \left(\frac{1}{2} (\varphi(z) - \frac{1}{a} d\psi(z)) + \iint_{l_z}^{z\eta} \mathcal{L}u(\xi, \eta) d\xi d\eta \right) \right) \Big|_{z=0}, \quad j = \overline{0, \infty}, \\
&\left(d^j \left(\mu^{(l)} \left(\frac{y-l}{a} \right) \left(r_3^{(l)} \left(\frac{y-l}{a} \right) \right)^{-1} - \left(\frac{1}{2} (\varphi(y) - \frac{1}{a} d\psi(y)) + \iint_{l_0}^{y\eta} \mathcal{L}u(\xi, \eta) d\xi d\eta \right) \right) \right) \Big|_{y=l} - \\
&- \left(d^j \left(2ar_1^{(l)} \left(\frac{y-l}{a} \right) \left(r_3^{(l)} \left(\frac{y-l}{a} \right) \right)^{-1} \left(\frac{1}{2} (d\varphi(y) - \frac{1}{a} d^2\psi(y)) \right) \right) \right) \Big|_{y=l} = \\
&= \left(d^j \left(\frac{1}{2} (\varphi(y) + \psi(y)) + \iint_{l_\eta}^{y0} \mathcal{L}u(\xi, \eta) d\xi d\eta \right) \right) \Big|_{y=l}, \quad j = \overline{0, \infty}.
\end{aligned}$$

Т е о р е м а 3. Пусть $\theta(\xi) \neq 0$ и $\rho(\eta) \neq 0$. Функции $\varphi \in C^2([0; l])$, $\psi \in C^1([0; l])$, $\mu^{(j)}, r_i^{(j)} \in C^1([0; +\infty))$, $j \in \{0, l\}$, $i = \overline{1, 3}$, $\lambda \in C^1(\overline{Q})$. Решение задачи (6)–(8) существует и единственно в классе $C^2(\overline{Q})$ тогда и только тогда, когда выполняются условия согласования (15), (16), (19), (20) и условия выбора константы, описанные в леммах 2, 5.

З а м е ч а н и е 3. Пусть выполняются тождества $(r_1^{(l)}(\eta))^2 + (r_2^{(l)}(\eta))^2 \equiv 0$ и $(r_1^{(0)}(\xi))^2 + (r_2^{(0)}(\xi))^2 \equiv 0$, тогда получаем первую смешанную задачу, которая рассмотрена в [3].

З а к л ю ч е н и е. В данном сообщении рассмотрена смешанная задача для уравнения типа Клейна–Гордона–Фока с косыми производными в граничных условиях. Для нее были получены необходимые и достаточные условия существования единственного классического решения при заданной гладкости исходных данных, а также было показано, что при некоторых значениях граничных условий может происходить ухудшение гладкости решения.

Список использованных источников

1. Барановская, С. Н. Смешанная задача для уравнения колебания струны с зависящей от времени косой производной в краевом условии / С. Н. Барановская, Н. И. Юрчук // Дифференциальные уравнения. – 2009. – Т. 45, № 8. – С. 1188–1191.
2. Корзюк, В. И. Классическое решение смешанной задачи для волнового уравнения с интегральным условием / В. И. Корзюк, И. И. Столярчук // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 6. – С. 22–27.
3. Корзюк, В. И. Классическое решение первой смешанной задачи для уравнения Клейна–Гордона–Фока в полуполосе / В. И. Корзюк, И. И. Столярчук // Дифференциальные уравнения. – 2014. – Т. 50, № 8. – С. 1105–1117.
4. Михлин, С. Г. Курс математической физики / С. Г. Михлин. – Москва: Наука, 1968. – 576 с.
5. Корзюк, В. И. Классическое решение смешанной задачи для уравнения Клейна–Гордона–Фока с нелокальными условиями / В. И. Корзюк, И. И. Столярчук // Тр. Ин-та математики НАН Беларуси. – 2018. – Т. 26, № 1. – С. 56–72.
6. Корзюк, В. И. Классическое решение смешанной задачи для уравнения Клейна–Гордона–Фока с нелокальными условиями / В. И. Корзюк, И. И. Столярчук // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2017. – Т. 61, № 6. – С. 20–27.

References

1. Baranovskaya S. N., Yurchuk N. I. Mixed problem for the string vibration equation with a time-dependent oblique derivative in the boundary condition. *Differential Equations*, 2009, vol. 45, no. 8, pp. 1212–1215. <https://doi.org/10.1134/s0012266109080126>
2. Korzyuk V. I., Stolyarchuk I. I. Classical solution to the mixed problem for the wave equation with the integral condition. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 6, pp. 22–27 (in Russian).
3. Korzyuk V. I., Stolyarchuk I. I. Classical solution of the first mixed problem for the Klein–Gordon–Fock equation in a half-strip. *Differential Equations*, 2014, vol. 50, no. 8, pp. 1098–1111. <https://doi.org/10.1134/s0012266114080084>
4. Mikhailin S. G. *Course of mathematical physics*. Moscow, Nauka Publ., 1968. 576 p. (in Russian).
5. Korzyuk V. I., Stolyarchuk I. I. Classical solution of the mixed problem for the Klein–Gordon–Fock equation with the nonlocal conditions. *Trudy Instituta matematiki = Proceedings of the Institute of Mathematics*, 2018, vol. 26, no. 1, pp. 52–72 (in Russian).

6. Korzyuk V. I., Stolyarchuk I. I. Classical solution of the mixed problem for the Klein–Gordon–Fock equation with nonlocal conditions. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2017, vol. 61, no. 6, pp. 20–27 (in Russian).

Информация об авторах

Корзюк Виктор Иванович – академик, д-р физ.-мат. наук, профессор. Институт математики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 11, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: korzyuk@bsu.by.

Столярчук Иван Игоревич – магистр физ.-мат. наук, аспирант. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ivan.telkontar@gmail.com.

Information about the authors

Korzyuk Viktor Ivanovich – Academician, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor. Institute of Mathematics of the National Academy of Sciences of Belarus (11, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: korzyuk@bsu.by.

Stolyarchuk Ivan Igorevich – Master of Physics and Mathematics, Postgraduate student. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ivan.telkontar@gmail.com.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

ФИЗИКА
PHYSICS

УДК 621.315.592
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-540-545>

Поступило в редакцию 14.05.2018
Received 14.05.2018

**Член-корреспондент Ф. П. Коршунов¹, С. Б. Ластовский¹,
А. С. Якушевич¹, В. П. Маркевич², Л. И. Мурин¹**

¹Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по материаловедению, Минск,
Республика Беларусь

²Университет г. Манчестер, Великобритания

**ВЛИЯНИЕ ПОЛОЖЕНИЯ УРОВНЯ ФЕРМИ
НА ОТЖИГ ДЕФЕКТА МЕЖУЗЕЛЬНЫЙ АТОМ УГЛЕРОДА В КРЕМНИИ**

Аннотация. Методом DLTS изучено влияние зарядового состояния межузельного углерода (C_i) на кинетику его отжига в облученных быстрыми электронами и α -частицами n^+p -структурах, изготовленных на кристаллах кремния, легированных бором ($N_B = 5 \cdot 10^{13}$ и $2,5 \cdot 10^{15}$ см⁻³). Отжиги проводились как с приложением обратного смещения, так и без смещения. Показано, что в положительном зарядовом состоянии дефекта энергия активации отжига составляет $\Delta E = 0,88$ эВ, а в нейтральном зарядовом состоянии $\Delta E = 0,73$ эВ. Отличаются и значения частотных факторов, даже при одной и той же концентрации стоков для C_i .

Ключевые слова: кремний, облучение, дефекты, отжиг, межузельные атомы углерода, зарядовое состояние

Для цитирования. Влияние положения уровня Ферми на отжиг дефекта межузельный атом углерода в кремнии / Ф. П. Коршунов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 540–545. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-540-545>

**Fedor P. Korshunov¹, Stanislav B. Lastovskii¹, Hanna S. Yakushevich¹,
Vladimir P. Markevich², Leonid I. Murin¹**

¹Scientific-Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Manchester University, Manchester, United Kingdom

**EFFECT OF THE FERMI LEVEL POSITION ON THE ANNEALING CHARACTERISTIC
OF INTERSTITIAL CARBON DEFECT IN SILICON**

Abstract. We present experimental results showing that the migration ability of interstitial carbon atom (C_i) in silicon depends noticeably on its charge state. The experimental results were obtained from the analysis of deep level transient spectra in n^+p diodes subjected to irradiation with 4–6 MeV electrons or α -particles at $T < 273$ K and subsequent heat-treatments in the temperature range 280–330 K under reverse bias and without it. It has been found that in the positive charge state the C_i migration energy is 0.88 ± 0.02 eV, while in the neutral charge state it is lowered down to 0.73–0.74 eV.

Keywords: silicon, irradiation, defects, annealing, interstitial carbon, charge state

For citation: Korshunov F. P., Lastovskii S. B., Yakushevich H. S., Markevich V. P., Murin L. I. Effect of the Fermi level position on the annealing characteristic of interstitial carbon defect in silicon. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 540–545 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-540-545>

Введение. Кремний продолжает оставаться базовым материалом современной микро- и наноэлектроники. Одной из наиболее важных технологических примесей (после основных легирующих и кислорода) в кремнии является углерод. В исходных промышленных кристаллах Si атомы углерода, как правило, присутствуют в заметных концентрациях и занимают электрически неактивные узловые (C_s) положения. Хорошо известно, что атомы C_s являются эффективными

ловушками собственных межузельных атомов кремния, возникающих при облучении кристаллов Si высокоэнергетическими частицами. Межузельные атомы углерода (C_i), образующиеся по механизму Уоткинса, являются одними из основных вторичных радиационных дефектов межузельного типа в облученных кристаллах кремния и кремниевых приборах [1; 2]. Электронные и оптические характеристики C_i изучены достаточно полно [1]. Впервые данный дефект был обнаружен методом ИК поглощения (полосы поглощения у 921 и 930 см^{-1}) [3]. Дальнейшая идентификация была проведена методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) (спектры Si-G12 и Si-L6) [4; 5]. C_i наблюдается также в спектрах фотолюминесценции (линия у 856 мэВ) [6; 7]. В запрещенной зоне Si межузельному углероду соответствуют глубокие уровни акцепторного типа $E_C - 0,12$ эВ и донорного $-E_V + (0,27-0,29)$ эВ. Идентификация уровней была проведена методом DLTS [5; 8; 9], а также в результате анализа данных эффекта Холла [10; 11].

Механизм отжига C_i установлен достаточно надежно. Дефект становится подвижным в области комнатных температур. Мигрируя по кристаллу кремния, C_i взаимодействует с различными примесями и дефектами, в том числе с межузельным кислородом (O_i), углеродом в узле (C_s), атомами донорных примесей (фосфором, сурьмой), оловом и т. д., с последующим образованием стабильных комплексов различного типа (C_iO_i , C_iC_s , C_iP_s , C_iSb_s , C_iSn и т. п.) [1; 12]. Энергия активации отжига C_i , по данным различных авторов, находится в пределах $0,8 \pm 0,1$ эВ. В то же время в литературе нет единого мнения о том, зависят ли характеристики отжига C_i от зарядового состояния дефекта. В частности, еще в [4] методом ЭПР было установлено, что энергия активации переориентации C_i в положительно заряженном состоянии составляет 0,88 эВ. При этом отмечалось, что переориентация C_i должна приводить к миграции дефекта в решетке Si. В то же время в ряде работ [2; 5; 11–13], в которых исследовался отжиг межузельных атомов углерода в нейтральном зарядовом состоянии, была получена энергия активации отжига в интервале значений 0,70–0,77 эВ. Тем не менее, авторами [5; 6; 14] на основании анализа данных, полученных для некоторого типа образцов p -Si, был сделан недостаточно обоснованный и, как будет показано в настоящей работе, ошибочный вывод о том, что характеристики отжига C_i не зависят от зарядового состояния дефекта. Детальные исследования, проведенные нами методом DLTS, однозначно свидетельствуют о том, что константа скорости отжига межузельных атомов углерода в кремнии p -типа существенно зависит от положения уровня Ферми (зарядового состояния C_i).

Материалы и методы исследований. Исследовались диодные n^+p -структуры двух типов. Структуры первого типа были изготовлены на пластине кремния КДБ-5, выращенного методом Чохральского, с уровнем легирования бором $[B_s] = 2,5 \cdot 10^{15} \text{ см}^{-3}$ и исходным содержанием кислорода $[O_i] = 7,5 \cdot 10^{17} \text{ см}^{-3}$. P - n -переход формировался диффузией фосфора в p -базу при 1000 °С по стандартной технологии. Глубина залегания p - n -перехода составляла 2–3 мкм, площадь $2,1 \times 2,1 \text{ мм}^2$. Образцы второго типа изготавливались аналогичным методом на эпитаксиальном p -Si с $N_B = 5 \cdot 10^{13} \text{ см}^{-3}$. В качестве омических контактов напылялся алюминий.

Образцы первого типа облучались электронами на линейном ускорителе ЭЛУ-4 (номинальная энергия электронов $E_e = 4$ МэВ) флюенсом $\Phi = 3 \cdot 10^{15} \text{ см}^{-2}$ при плотности потока электронов, равной $10^{12} \text{ см}^{-2}\text{с}^{-1}$. Температура облучения не превышала 275 К, для чего образцы помещались в специальный контейнер со льдом. Образцы второго типа облучались α -частицами с помощью источника с изотопами Pu^{239} (энергия α -частиц соответствовала 5,144 и 5,157 МэВ) в течение 30 мин. Поверхностная активность источника была около $2 \cdot 10^8 \text{ Бк/см}^2$. Температура образцов в процессе облучения не превышала 260 К.

Концентрация и электронные характеристики радиационных дефектов (энергия активации эмиссии и сечение захвата носителей заряда) в базовой p -области облученных диодных n^+p -структур определялись методом нестационарной емкостной спектроскопии глубоких уровней (Deep Level Transient Spectroscopy – DLTS). Спектры DLTS измерялись в режиме заполнения ловушек основными носителями заряда при напряжениях смещения $U_{\text{см}} = -5$ В и заполнения $U_{\text{зап}} = -0,5$ В, длительности импульса заполнения – 0,01 с и окне скоростей эмиссии – 19 с^{-1} . Термический отжиг облученных образцов в интервале температур 280–330 К проводился в криостате DLTS-спектрометра без приложения обратного смещения и при $U_{\text{обр}} = -20$ В. По нашим оценкам (рис. 1), в первом случае атомы C_i для структур на основе КДБ-5 находились преимущественно

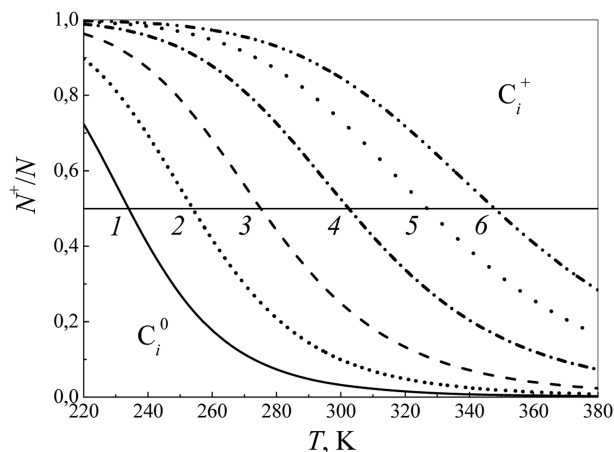


Рис. 1. Температурные зависимости функции заполнения донорного уровня $E(0/+)$ C_i дырками в кристаллах p -Si с разным уровнем легирования (детали расчета см. в тексте) p (cm^{-3}): 1 – $3 \cdot 10^{13}$; 2 – $1 \cdot 10^{14}$; 3 – $3 \cdot 10^{14}$; 4 – $1 \cdot 10^{15}$; 5 – $2,5 \cdot 10^{15}$; 6 – $5 \cdot 10^{15}$

Fig. 1. Temperature dependencies of function of occupancy with holes for the donor level $E(0/+)$ of C_i in p -type Si crystals with different doping levels (details of calculations are in the text) p (cm^{-3}): 1 – $3 \cdot 10^{13}$; 2 – $1 \cdot 10^{14}$; 3 – $3 \cdot 10^{14}$; 4 – $1 \cdot 10^{15}$; 5 – $2,5 \cdot 10^{15}$; 6 – $5 \cdot 10^{15}$

в положительном зарядовом состоянии, во втором (при приложении $U_{\text{обр}} = -20$ В) – в нейтральном, независимо от уровня легирования p -базы. Долю неотожженных межузельных атомов углерода определяли отношением амплитуды S пика C_i в спектре DLTS, измеренном после отжига, к амплитуде S_0 до отжига [2].

Результаты и их обсуждение. В зависимости от степени легирования кристаллов кремния p -типа уровень Ферми в области комнатных температур, когда имеет место отжиг C_i , может располагаться как выше, так и ниже донорного уровня C_i , т. е. в интервале $(E_V + 0,20)$ – $(E_V + 0,35)$ эВ и дефект может находиться как в нейтральном, так и положительно заряженном состояниях. Соответственно, изменение концентрации C_i в процессе термического отжига в кремнии p -типа, и в случае, когда кинетика отжига хорошо описывается моноэкспоненциальной зависимостью, может быть представлено в виде

$$[C_i] = [C_{i0}] \exp(-t / \tau),$$

где $[C_{i0}]$ – исходная (до отжига) концентрация межузельных атомов углерода; τ – характеристическое время отжига C_i , которое в случае доминирования одной и той же основной ловушки (стока) для дефекта в различных зарядовых состояниях имеет вид

$$\tau^{-1} = k_{\text{ef}} N_t,$$

где N_t – концентрация ловушки, а k_{ef} – эффективная константа скорости реакции, которая может быть записана как

$$k_{\text{ef}} = 4\pi \{ r^0 D(C_i^0) + r^+ D(C_i^+) \},$$

где r^0 и r^+ – радиусы захвата подвижных межузельных атомов углерода в нейтральном и положительно заряженных состояниях ловушкой (в нашем случае кислородом), $D(C_i^0)$ и $D(C_i^+)$ – коэффициенты диффузии этих атомов соответственно.

На рис. 1 приведены рассчитанные температурные зависимости функции заполнения донорного уровня $E(0/+)$ C_i дырками в кристаллах p -Si с разной концентрацией свободных дырок ($p = 3 \cdot 10^{13}$ – $5 \cdot 10^{15} \text{ cm}^{-3}$). Использовалась функция заполнения данного уровня, приведенная в [5]: $N^+ / N = 1 / \{ 1 + 0,5 \exp[(-0,27(\text{эВ}) / kT] N_V / p \}$. Данные по температурной зависимости эффективной плотности состояний в валентной зоне $N_V = 8,1 \cdot 10^{14} \cdot T^{1,85} \text{ cm}^{-3}$ были взяты из [15].

Из приведенных данных следует, что только в образцах первого типа с $[B_s] = 2,5 \cdot 10^{15} \text{ cm}^{-3}$ основная часть атомов C_i положительно заряжена в области температур 260–330 К. Следовательно, в базовой p -области этих n^+p -структур можно изменить зарядовое состояние C_i (перевести в нейтральное состояние) путем приложения обратного смещения $U_{\text{см}}$ в процессе термического отжига.

На рис. 2, а показаны изменения неотожженной доли дефектов C_i в облученных электронами Si n^+p -диодах ($[B_s] = 2,5 \cdot 10^{15} \text{ cm}^{-3}$) в процессе их 15-минутного изохронного отжига при различных значениях обратного смещения. Анализ DLTS спектров показывает, что независимо от величины обратного смещения в процессе отжига практически все подвижные атомы C_i захватываются межузельными атомами кислорода O_i с образованием комплекса C_iO_i . Однако скорость отжига заметно выше в образцах, отжигаемых под обратным смещением, т. е. когда дефект C_i

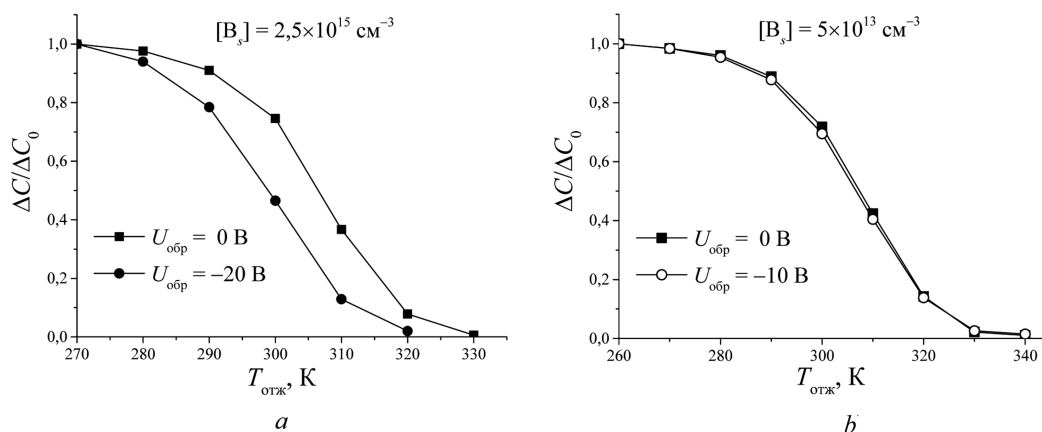


Рис. 2. Относительное изменение амплитуд DLTS-пиков ловушки C_i в результате изохронного (15 мин) отжига при различных значениях обратного смещения в (а) облученных электронами n^+ - p -структурах на p -Si с $[B_s] = 2,5 \cdot 10^{15} \text{ см}^{-3}$ и (б) облученных α -частицами n^+ - p -структурах на p -Si с $[B_s] = 5 \cdot 10^{13} \text{ см}^{-3}$

Fig. 2. Changes in normalized magnitude of DLTS peak due to the C_i trap upon 15-min isochronal annealing with various values of reverse bias in (a) n^+ - p -structures with $[B_s] = 2.5 \cdot 10^{15} \text{ cm}^{-3}$ irradiated with electrons and (b) n^+ - p -structures with $[B_s] = 5 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$ irradiated with α -particles

находится в нейтральном зарядовом состоянии. В то же время при $U_{см} = 0 \text{ В}$ основная часть дефектов положительно заряжена в исследуемом интервале температур отжига.

На рис. 2, б показаны изменения неотожженной доли дефектов C_i в облученных α -частицами Si n^+ - p -структурах с меньшим содержанием бора ($[B_s] = 5 \cdot 10^{13} \text{ см}^{-3}$) в процессе 15-минутного изохронного отжига при различных значениях обратного смещения. Для этих образцов скорость отжига C_i практически не зависит от величины прикладываемого смещения. Следует отметить, что в обоих режимах отжига основное зарядовое состояние C_i в исследуемом интервале температур является нейтральным.

Наряду с изохронным проводился и изотермический отжиг облученных n^+ - p -структур при разных значениях обратного смещения. Во всех случаях концентрация C_i экспоненциально уменьшалась с ростом времени отжига. Были определены характеристические времена отжига C_i согласно выражению $\tau = \nu^{-1} \exp(\Delta E / kT)$ для исследуемых образцов при разных значениях $U_{см}$ (рис. 3). Для n^+ - p -структур первого типа в положительном ($U_{см} = 0$) зарядовом состоянии энергия активации отжига C_i составляет $\Delta E = 0,885 \pm 0,015 \text{ эВ}$ с частотным фактором $\nu = 1,24 \cdot 10^{11} \text{ с}^{-1}$, в то время как в нейтральном ($U_{см} = -20 \text{ В}$) – $\Delta E = 0,73 \pm 0,02 \text{ эВ}$ с $\nu = 9,49 \cdot 10^8 \text{ с}^{-1}$. Как отмечалось

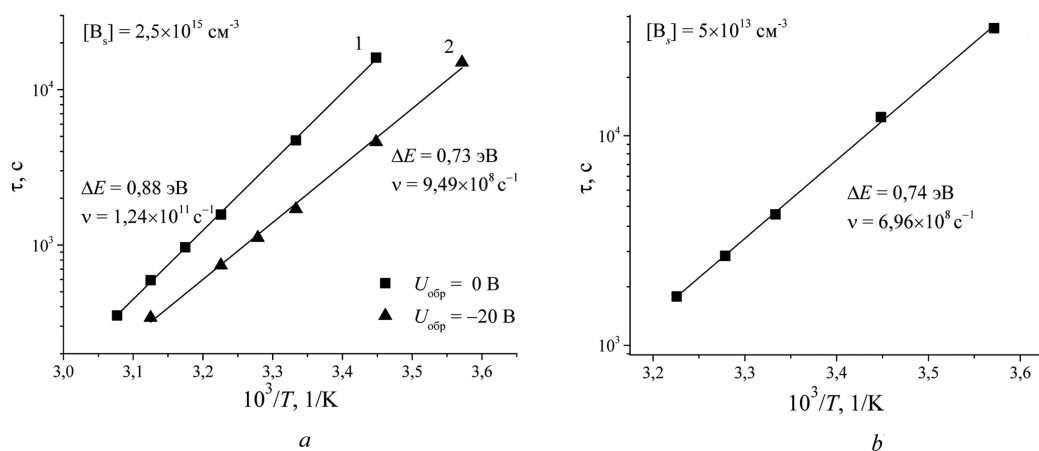


Рис. 3. Зависимости постоянных времени отжига C_i от температуры отжига для облученных n^+ - p -структур первого (а) и второго (б) типов

Fig. 3. Dependencies of elimination time constant of C_i versus annealing temperature for irradiated n^+ - p -structures of (a) the first and (b) the second types

выше, для n^+p -структур второго типа дефект C_i находится в нейтральном зарядовом состоянии независимо от значения U_{cm} . Здесь энергия активации отжига составляет $\Delta E = 0,74 \pm 0,015$ эВ с частотным фактором $\nu = 6,96 \cdot 10^8$ с⁻¹, что коррелирует с данными по отжигу образцов первого типа при $U_{cm} = -20$ В.

Таким образом, методом DLTS показано влияние зарядового состояния межузельных атомов углерода на кинетику их отжига в кремнии p -типа. Установлено, что скорость отжига C_i в положительном зарядовом состоянии существенно снижена по сравнению с таковой для нейтрального центра.

Благодарности. Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Ф17МС-022). Авторы выражают благодарность Л. Ф. Макаренко за предоставленные для экспериментальных исследований образцы n^+p -структур на p -Si с $[B_s] = 5 \cdot 10^{13}$ см⁻³.

Acknowledgements. This work was partially supported by the Belarusian Foundation for Basic Research (project no. Ф17МС-022). The authors are grateful to L. F. Makarenko for the samples of n^+p -structures on p -Si with $[B_s] = 5 \cdot 10^{13}$ cm⁻³ provided for experimental studies.

Список использованных источников

1. Davies, G. Carbon in monocrystalline silicon / G. Davies, R. C. Newman // Handbook on semiconductors; eds. T. S. Moss, S. Mahajan. – Amsterdam, 1994. – Vol. 3. – P. 1557–1643. [https://doi.org/10.1016/s0080-8784\(08\)60251-3](https://doi.org/10.1016/s0080-8784(08)60251-3)
2. Reactions of interstitial carbon with impurities in silicon particle detectors / L. F. Makarenko [et al.] // J. Appl. Phys. – 2007. – Vol. 101, N 11. – P. 113537(1–6). <https://doi.org/10.1063/1.2745328>
3. Bean, A. R. Low temperature electron irradiation of silicon containing carbon / A. R. Bean, R. C. Newman // Solid State Commun. – 1970. – Vol. 8, N 3. – P. 175–177. [https://doi.org/10.1016/0038-1098\(70\)90074-8](https://doi.org/10.1016/0038-1098(70)90074-8)
4. Watkins, G. D. EPR observation of the isolated interstitial carbon atom in silicon / G. D. Watkins, K. L. Brower // Phys. Rev. Lett. – 1976. – Vol. 36, N 22. – P. 1329–1332. <https://doi.org/10.1103/physrevlett.36.1329>
5. Song, L. W. EPR identification of the single-acceptor state of interstitial carbon in silicon / L. W. Song, G. D. Watkins // Phys. Rev. B. – 1990. – Vol. 42, N 9. – P. 5759–5764. <https://doi.org/10.1103/physrevb.42.5759>
6. Electronic and vibrational absorption of interstitial carbon in silicon / R. A. Woolley [et al.] // Mater. Sci. Forum. – 1986. – Vol. 10–12. – P. 929–934. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/msf.10-12.929>
7. Thonke, K. New photoluminescence defect spectra in silicon irradiated at 100 K: observation of interstitial carbon / K. Thonke, A. Teschner, R. Sauer // Solid State Commun. – 1987. – Vol. 61, N 4. – P. 241–244. [https://doi.org/10.1016/0038-1098\(87\)91010-6](https://doi.org/10.1016/0038-1098(87)91010-6)
8. Carbon interstitial in electron-irradiated silicon / Y. H. Lee [et al.] // Solid State Commun. – 1977. – Vol. 21, N 1. – P. 109–111. [https://doi.org/10.1016/0038-1098\(77\)91489-2](https://doi.org/10.1016/0038-1098(77)91489-2)
9. Kimerling, L. C. Defect states in proton-bombarded silicon at $T < 300$ K / L. C. Kimerling, P. Blood, W. M. Gibson // Defects and radiation effects in semiconductors, 1978 / ed. J. H. Albany. – London; Bristol: Institute of Physics, 1979. – Ser. 46. – P. 273–280.
10. Djerassi, H. Effects of ⁶⁰Co γ -rays on high resistivity p -type Si / H. Djerassi, J. Merlo-Flores, J. Messier // J. Appl. Phys. – 1966. – Vol. 37, N 12. – P. 4510–4516. <https://doi.org/10.1063/1.1708071>
11. Электрически активные дефекты межузельного типа в облученном n -кремнии / А. Г. Литвинко [и др.] // ФТП. – 1980. – Т. 14, № 4. – С. 776–780.
12. Efficiency of interaction of interstitial carbon with oxygen, tin, and substitution carbon in irradiated silicon / M. I. Gritsenko [et al.] // Ukr. J. Phys. – 2010. – Vol. 55, N 2. – P. 222–227.
13. Studies of defects introduced by electron irradiation at 4.2 K in p -silicon by thermally stimulated capacitance technique / J. C. Brabant [et al.] // J. Appl. Phys. – 1976. – Vol. 47, N 11. – P. 4809–4813. <https://doi.org/10.1063/1.322522>
14. Tipping, A. K. The diffusion coefficient of interstitial carbon in silicon / A. K. Tipping, R. C. Newman // Semicond. Sci. Technol. – 1987. – Vol. 2, N 5. – P. 315–317. <https://doi.org/10.1088/0268-1242/2/5/013>
15. Green, M. A. Intrinsic concentration, effective densities of states, and effective mass in silicon / M. A. Green // J. Appl. Phys. – 1990. – Vol. 67, N 6. – P. 2944–2954. <https://doi.org/10.1063/1.345414>

References

1. Davies G., Newman R. C. Carbon in monocrystalline silicon. Moss T. S., Mahajan S., eds. *Handbook on semiconductors*. Amsterdam, 1994, vol. 3, pp. 1557–1643. <https://doi.org/10.1002/cvde.19960020108>
2. Makarenko L. F., Moll M., Korshunov F. P., Lastovski S. B. Reactions of interstitial carbon with impurities in silicon particle detectors. *Journal of Applied Physics*, 2007. vol. 101, no. 11, pp. 113537(1–6). <https://doi.org/10.1063/1.2745328>
3. Bean A. R., Newman R. C. Low temperature electron irradiation of silicon containing carbon. *Solid State Communications*, 1970, vol. 8, no. 3, pp. 175–177. [https://doi.org/10.1016/0038-1098\(70\)90074-8](https://doi.org/10.1016/0038-1098(70)90074-8)
4. Watkins G. D., Brower K. L. EPR observation of the isolated interstitial carbon atom in silicon. *Physical Review Letters*, 1976, vol. 36, no. 22, pp. 1329–1332. <https://doi.org/10.1103/physrevlett.36.1329>
5. Song L. W., Watkins G. D. EPR identification of the single-acceptor state of interstitial carbon in silicon. *Physical Review B*, 1990, Vol. 42, no. 9, pp. 5759–5764. <https://doi.org/10.1103/physrevb.42.5759>

6. Woolley R. A., Woolley R., Lightowers E. C., Tipping A. K., Claybourn M., Newman R. C. Electronic and vibrational absorption of interstitial carbon in silicon. *Materials Science Forum*, 1986, vol. 10–12, pp. 929–934. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/msf.10-12.929>
7. Thonke K., Teschner A., Sauer R. New photoluminescence defect spectra in silicon irradiated at 100 K: observation of interstitial carbon. *Solid State Communications*, 1987, vol. 61, no. 4, pp. 241–244. [https://doi.org/10.1016/0038-1098\(87\)91010-6](https://doi.org/10.1016/0038-1098(87)91010-6)
8. Lee Y. H., Cheng L. J., Gerson J. D., Mooney P. M., Corbett J. W. Carbon interstitial in electron-irradiated silicon. *Solid State Communications*, 1977, vol. 21, no. 1, pp. 109–111. [https://doi.org/10.1016/0038-1098\(77\)91489-2](https://doi.org/10.1016/0038-1098(77)91489-2)
9. Kimerling L. C., Blood P., Gibson W. M. Defect states in proton-bombarded silicon at $T < 300$ K. Albany J. H. (ed.). *Defects and radiation effects in semiconductors*. London, Bristol, Institute of Physics, 1979, ser. 46, pp. 273–280.
10. Djerassi H., Merlo-Flores J., Messier J. Effects of ^{60}Co γ -rays on high resistivity p -type Si. *Journal of Applied Physics*, 1966, vol. 37, no. 12, pp. 4510–4516. <https://doi.org/10.1063/1.1708071>
11. Litvinko A. G., Makarenko L. F., Murin L. I., Tkachev V. D. Electrically active interstitial defects in irradiated n -silicon. *Fizika i tehnika poluprovodnikov = Semiconductors*, 1980, vol. 14, no. 4, pp. 776–780 (in Russian).
12. Gritsenko M. I., Kobzar O. O., Pomozov Y. V., Sosnin M. G., Khirunenko L. I. Efficiency of interaction of interstitial carbon with oxygen, tin, and substitution carbon in irradiated silicon. *Ukrainian Journal of Physics*, 2010, vol. 55, no. 2, pp. 222–227.
13. Brabant J. C., Pugnet M., Barbolla J., Brousseau M. Studies of defects introduced by electron irradiation at 4.2 K in p -silicon by thermally stimulated capacitance technique. *Journal of Applied Physics*, 1976, vol. 47, no. 11, pp. 4809–4813. <https://doi.org/10.1063/1.322522>
14. Tipping A. K., Newman R. C. The diffusion coefficient of interstitial carbon in silicon. *Semiconductor Science and Technology*, 1987, vol. 2, no. 5, pp. 315–317. <https://doi.org/10.1088/0268-1242/2/5/013>
15. Green M. A. Intrinsic concentration, effective densities of states, and effective mass in silicon. *Journal of Applied Physics*, 1990, vol. 67, no. 6, pp. 2944–2954. <https://doi.org/10.1063/1.345414>

Информация об авторах

Коршунов Федор Павлович – член-корреспондент, д-р техн. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. НИЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: korshun@ifftp.bas-net.by.

Ластовский Станислав Брониславович – канд. физ.-мат. наук, заведующий лабораторией. НИЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lastov@ifftp.bas-net.by.

Якушевич Анна Сергеевна – мл. науч. сотрудник. НИЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: yakushevich@ifftp.bas-net.by.

Маркевич Владимир Павлович – канд. физ.-мат. наук, науч. сотрудник. Университет г. Манчестер (ул. Sackville, Манчестер M139PL, Великобритания). E-mail: V.Markevich@manchester.ac.uk.

Мурин Леонид Иванович – канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник. НИЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: murin@ifftp.bas-net.by.

Information about the authors

Korshunov Fedor Pavlovich – Corresponding Member, D. Sc. (Engineering), Professor, Chief researcher. Scientific-Practical Materials Research Centre of NAS of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: korshun@ifftp.bas-net.by.

Lastovskii Stanislav Bronislavovich – Ph. D. (Physics and Mathematics), Head of the Laboratory. Scientific-Practical Materials Research Centre of NAS of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lastov@ifftp.bas-net.by.

Yakushevich Hanna Sergeevna – Junior researcher. Scientific-Practical Materials Research Centre of NAS of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yakushevich@ifftp.bas-net.by.

Markevich Vladimir Pavlovich – Ph. D. (Physics and Mathematics), Researcher. University of Manchester (Sackville Str., Manchester M139PL, United Kingdom). E-mail: V.Markevich@manchester.ac.uk.

Murin Leonid Ivanovich – Ph. D. (Physics and Mathematics), Leading Researcher. Scientific-Practical Materials Research Centre of NAS of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: murin@ifftp.bas-net.by.

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 538.91; 539.21

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-546-554>

Поступило в редакцию 07.06.2018

Received 07.06.2018

**И. А. Романов¹, Л. А. Власукова¹, член-корреспондент Ф. Ф. Комаров², И. Н. Пархоменко¹,
Н. С. Ковальчук³, М. А. Моховиков², А. В. Мудрый⁴, О. В. Мильчанин²**

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко
Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

³НПО «Интеграл», Минск, Республика Беларусь

⁴Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по материаловедению,
Минск, Республика Беларусь

ФОТО- И ЭЛЕКТРОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ СТРУКТУР ОКСИД-НИТРИД-ОКСИД-КРЕМНИЙ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КРЕМНИЕВОЙ ОПТОЭЛЕКТРОНИКЕ

Аннотация. Структуры $\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0,9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$ с суммарной толщиной диэлектрических слоев 140 нм изготовлены методом химического осаждения из газовой фазы. Элементный состав и излучательные свойства полученных структур исследовались методами резерфордского обратного рассеяния (ROR), фото- и электролюминесценции (ФЛ, ЭЛ). Методом ROR установлено наличие областей оксинитрида кремния на границах нитридного и оксидных слоев.

Показано, что фотолюминесценция образца обусловлена свечением обогащенного кремнием слоя $\text{SiN}_{0,9}$, тогда как электролюминесценция – свечением слоев оксида и оксинитрида кремния. Возбуждаемая He–Cd лазером ($E_{\text{возб}} = 3,82$ эВ) фотолюминесценция структуры характеризуется широкой интенсивной полосой с максимумом при 1,9 эВ, связанной с излучательной рекомбинацией носителей заряда, локализованных в хвостах разрешенных зон нитрида кремния. Происхождение менее интенсивной полосы при 2,8 эВ в спектре ФЛ обусловлено наличием собственных дефектов (N-центров) в слое $\text{SiN}_{0,9}$.

ЭЛ возбуждалась в гальваностатическом режиме в системе электролит–диэлектрик–полупроводник (ЭДП) при средней величине напряженности электрического поля в структуре 5–6 МВ/см. Величина напряженности электрического поля в слоях оксида кремния составляла 7–8 МВ/см и превышала значение этого параметра в слое $\text{SiN}_{0,9}$ в ~4 раза. Электроны, ускоренные в электрических полях 7–8 МВ/см, могут разогреваться до энергии более 5 эВ, достаточной для возбуждения центров люминесценции в слоях оксида и оксинитрида кремния. Для изученной композиции $\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0,9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$ полосы ЭЛ с энергиями 1,9 и 2,3 эВ связаны с наличием в слоях оксида кремния силанольных групп (Si–OH) и трехкоординированных атомов кремния ($\text{O}_3=\text{Si}\cdot$). Полоса с энергией 2,7 эВ приписана излучательной релаксации двухкоординированных атомов кремния ($\text{O}_2=\text{Si}$) в переходных областях оксинитрида кремния. Интенсивность свечения этой полосы обладает наибольшей устойчивостью к воздействию сильных электрических полей после протекания через образец заряда 1–3 Кл/см².

Ключевые слова: нитрид кремния, оксид кремния, фотолюминесценция, электролюминесценция, кремниевая оптоэлектроника

Для цитирования. Фото- и электролюминесценция структур оксид-нитрид-оксид-кремний для применения в кремниевой оптоэлектронике / И. А. Романов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 546–554. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-546-554>

**Ivan A. Romanov¹, Liudmila A. Vlasukova¹, Corresponding Member Fadei F. Komarov², Irina N. Parkhomenko¹,
Natalia S. Kovalchuk³, Maxim A. Mohovikov², Alexander V. Mudryi⁴, Oleg V. Milchanin²**

¹Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

²A. N. Sevchenko Institute of Applied Physics Problems of the Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

³Joint Stock Company “Integral”, Minsk, Republic of Belarus

⁴Scientific and Practical Materials Research Center of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus

PHOTO- AND ELECTROLUMINESCENCE OF OXIDE-NITRIDE-OXIDE-SILICON STRUCTURES FOR SILICON-BASED OPTOELECTRONICS

Abstract. Oxide-nitride-oxide-silicon ($\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0,9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$) structures have been fabricated by chemical vapor deposition. The elemental composition and light emission properties of “ $\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0,9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$ ” structures have been studied using Rutherford backscattering spectroscopy (RBS), photo- and electroluminescence (PL, EL). The RBS measurements has shown the presence of an intermediate silicon oxynitride layers at the SiO_2 – $\text{SiN}_{0,9}$ interfaces.

It has been shown that the photoluminescence of the $\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0.9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$ structure is due to the emission of a $\text{SiN}_{0.9}$ layer, and the electroluminescence is attributed to the emission of silicon oxide and oxynitride layers. A broad intense band with a maximum at 1.9 eV dominates the PL spectrum. This band attributed to the radiative recombination of excited carriers between the band tail states of the $\text{SiN}_{0.9}$ layer. The origin of the less intense PL band at 2.8 eV is associated with the presence of nitrogen defects in the silicon nitride.

EL was excited in the electrolyte-dielectric-semiconductor system. The electric field strength in the SiO_2 layers reached 7–8 MV/cm and exceeded this parameter in nitride layer nearly four times. The electrons accelerating in electric field of 7–8 MV/cm could heat up to energies more than 5 eV. It is sufficient for the excitation of luminescence centres in the silicon oxide and oxynitride layers. The $\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0.9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$ composition EL bands with quantum energies of 1.9 and 2.3 eV are related to the presence of silanol groups ($\text{Si}-\text{OH}$) and three-coordinated silicon atoms ($\equiv\text{Si}\cdot$) in the silicon oxide layers. The EL band with an energy of 2.7 eV is attributed to the radiative relaxation of silylene ($\text{O}_2=\text{Si}$) centers in the silicon oxynitride regions. It is observed the least reduction of this band intensity under the influence of strong electric fields after a charge flow of 1–3 C/cm².

Keywords: silicon oxide, silicon oxynitride, photoluminescence, electroluminescence, silicon optoelectronics

For citation: Romanov I. A., Vlasukova L. A., Komarov F. F., Parkhomenko I. N., Kovalchuk N. S., Mohovikov M. A., Mudryi A. V., Milchanin O. V. Photo- and electroluminescence of oxide-nitride-oxide-silicon structures for silicon-based optoelectronics. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 546–554 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-546-554>

Введение. Нитрид и оксид кремния являются основными материалами при разработке светоизлучающих устройств, совместимых с кремниевой электроникой, а также устройств энергонезависимой памяти нового поколения – мемристоров [1]. На основе систем $\text{SiO}_2/\text{SiN}_x/\text{SiO}_2$ разрабатывается широкий спектр элементов кремниевой интегральной оптоэлектроники: оптические волноводы с малыми потерями света [2], электрооптические модуляторы и оптические мультиплексоры [3], а также светоизлучающие структуры [4]. В таких устройствах нитрид кремния, замкнутый между двумя слоями оксида кремния, играет роль активного слоя, в котором осуществляется хранение информации, распространение оптического сигнала и генерация квантов света. Изменяя соотношение азота к кремнию (параметр x) в пленках SiN_x , можно управлять оптическими и электрофизическими свойствами нитрида кремния в широких пределах. К настоящему времени проведено значительное количество исследований фотолюминесценции обогащенного кремнием нитрида ($\text{SiN}_{x<4/3}$). Такой материал может излучать свет в широком спектральном диапазоне: от видимого до ближнего ИК. Увеличение доли атомов кремния в нитриде в сравнении со стехиометрическим соотношением ($\text{SiN}_{1,33}$) приводит к сдвигу спектра люминесценции и края поглощения в длинноволновую область [5]. Аморфный нитрид кремния может стать перспективным материалом для создания на его основе светодиодов, интегрируемых в кремниевые чипы. В [6] уже показана возможность создания на основе обогащенного кремнием нитрида ($\text{SiN}_{x<1,33}$) светоизлучающих структур с напряжением включения, не превышающим 10 В.

Изучение электролюминесценции (ЭЛ) слоев оксида, нитрида и оксинитрида кремния представляет несомненный интерес как для изучения электронных процессов в этих слоях, так и с точки зрения их практического применения. Метод электролюминесценции является не только ключевой методикой, позволяющей определить пригодность разрабатываемых структур для создания на их основе приборов кремниевой оптоэлектроники, но также позволяет изучить состав, структурные особенности, определить концентрацию центров люминесценции, исследовать деградацию диэлектрических слоев в результате воздействия сильного электрического поля [2; 7]. Интерес к исследованию электролюминесценции структур $\text{SiO}_2/\text{SiN}_x/\text{SiO}_2/\text{Si}$ также обусловлен перспективами разработки на их основе комбинированных систем излучатель–волновод–фотоприемник для передачи информации внутри интегральных схем.

Для исследования электролюминесценции структур на основе оксида и нитрида кремния в качестве прозрачного проводящего электрода целесообразно использовать электролит. Преимуществами электролита перед твердотельными контактами для реализации метода ЭЛ являются более высокое напряжение пробоя, высокая спектральная прозрачность в исследуемом диапазоне длин волн, возможность измерения спектрального распределения ЭЛ при послойном стравливании (наращивании) диэлектрического слоя [7; 8]. Инжекционная способность электролитического контакта значительно меньше, чем аналогичная характеристика металлического контакта, что, по-видимому, является одной из причин более высоких напряжений пробоя

диэлектрика в системе Si/SiO₂/электролит по сравнению с системой Si/SiO₂/металл [7]. Методом электролюминесценции в системе «электролит–диэлектрик–полупроводник» (ЭДП) были исследованы структуры Si₃N₄/SiO₂/Si [8]. Спектры ЭЛ таких структур характеризовались двумя полосами с максимумами при 1,9 и 2,7 эВ. Ранее была установлена связь полосы ЭЛ при 1,9 эВ с наличием в SiO₂ силанольных групп (Si–OH) [9]. Полоса с максимумом при 2,7 эВ характерна для излучательной релаксации возбужденных силиленовых центров (O₂=Si). Наличие дефектов O₂=Si: характерно для оксинитрида кремния, что позволило авторам [8] сделать вывод о формировании слоя оксинитрида кремния на границе SiO₂–Si₃N₄.

На сегодняшний день разрабатываемые светоизлучающие структуры на основе нитрида кремния обладают низким квантовым выходом люминесценции (не более 2–3 %). Одним из способов увеличения интенсивности люминесценции пленок нитрида кремния является формирование слоев SiN_x между двумя отражателями из оксида кремния. В [4] показано, что применение оптических микрорезонаторов SiO₂/SiN_{x<1,33}/SiO₂/Si позволяет усилить сигнал фотолюминесценции нитридного слоя до 20 раз.

В настоящей работе представлены результаты исследований многослойной структуры SiO₂/SiN_{0,9}/SiO₂/Si методами резерфордовского обратного рассеяния, фото- и электролюминесценции. Обсуждаются возможные механизмы свечения полученной композиции.

Материалы и методы исследования. Для создания структур SiO₂/SiN_{x<1,33}/SiO₂/Si методом химического осаждения из газовой фазы на кремниевой пластине *p*-типа с кристаллографической ориентацией (111) формировались слои оксида и нитрида кремния. Верхний и нижний слои диоксида кремния наносились методом плазменно-ассистированного осаждения из смеси моносилана (SiH₄) и закиси азота (N₂O) при температуре 350 °С. Обогащенная кремнием пленка SiN_x формировалась при температуре 830 °С в реакторе пониженного давления с использованием дихлорсилана и аммиака в качестве прекурсоров. Скорость натекания газов (SiH₂Cl₂ + NH₃) и давление в реакторе поддерживались на уровне 135 см³/мин и 40 Па соответственно. Парциальное давление реагирующих газов SiH₂Cl₂/NH₃ составляло 8/1.

Общая толщина диэлектрических слоев SiO₂/SiN_x/SiO₂ определялась методом растровой электронной микроскопии. Показатель преломления и край поглощения слоя SiN_x, а также толщины слоев оксида и нитрида кремния вычислялись из данных, полученных методом спектральной эллипсометрии на установке UVISEL 2 (HORIBA).

Для анализа распределения элементов по глубине в слоях SiO₂/SiN_x/SiO₂/Si использовался метод резерфордовского обратного рассеяния (POP) ионов He⁺ с энергией 1500 кэВ. Спектр фотолюминесценции (ФЛ) регистрировался в спектральном диапазоне 1,4–3,7 эВ при возбуждении He–Cd лазером с λ_{возб} = 325 нм (3,82 эВ). Спектры электролюминесценции (ЭЛ) регистрировались в спектральном диапазоне 1,8–3,4 эВ в системе электролит–диэлектрик–полупроводник в гальваностатическом режиме при положительном смещении кремниевой подложки. В качестве электролита использовался 1М водный раствор Na₂SO₄. Спектры ЭЛ регистрировались при напряжениях более 60 В на образце и плотностях тока 0,8–1 мА/см². Регистрация спектров ФЛ и ЭЛ проводилась при комнатной температуре.

Результаты и их обсуждение. На рис. 1, *a* представлен профиль распределения элементов по глубине в структуре SiO₂/SiN_x/SiO₂/Si, полученный из спектра POP. Из рассчитанного концентрационного профиля проведена оценка параметра «*x*», определяющего атомное соотношение N/Si в нитридном слое. Схематическое изображение сформированной диэлектрической композиции и толщины диэлектрических слоев, вычисленные из данных спектральной эллипсометрии, представлены на рис. 1, *b*. Как видно из рисунка, параметр *x* в нитридном слое составил 0,9. В стехиометрическом соединении Si₃N₄ параметр *x* равен 1,33. Таким образом, в нашем эксперименте слой SiN_{0,9} характеризуется избытком кремния по сравнению с Si₃N₄. Слой SiO₂, граничащий с кремниевой подложкой, содержит ~3 ат. % избыточного кремния. Результаты исследований элементного состава диэлектрических слоев показали наличие областей оксинитрида кремния на границах нитридного и оксидных слоев. Общая толщина диэлектрических слоев, измеренная методом растровой электронной микроскопии, составляет 130 нм, что хорошо согласуется с суммой толщин диэлектрических слоев, полученных из данных спектральной эллипсометрии (140 нм).

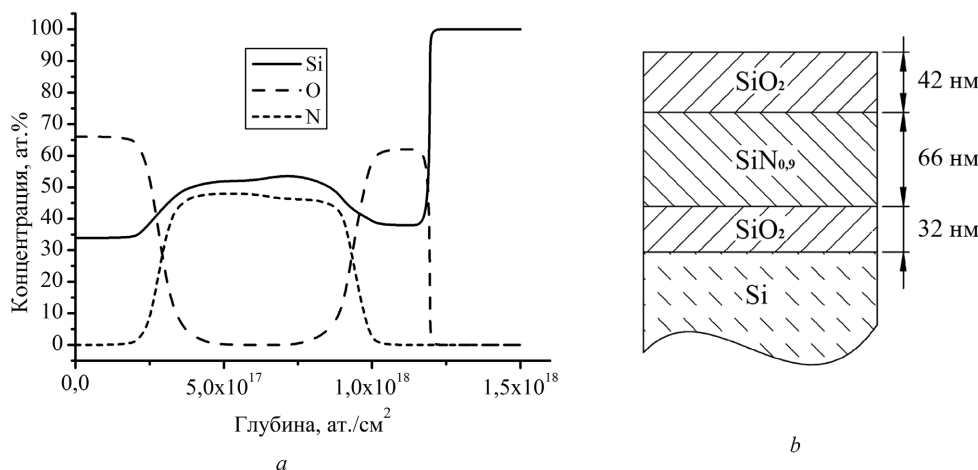


Рис. 1. Распределение элементов по глубине диэлектрических слоев (a) и схематическое изображение полученной композиции по данным эллипсометрии (b)

Fig. 1. Distribution of elements versus the depth of dielectric layers (a) and a schematic representation of the resulting composition from ellipsometry data (b)

На рис. 2 представлены спектры электро- и фотолюминесценции структур SiO₂/SiN_{0.9}/SiO₂/Si, аппроксимированные полосами гауссовой формы. Как видно из рисунка, спектры ФЛ и ЭЛ отличаются спектральным распределением интенсивности люминесценции. Это отличие может быть обусловлено различной энергией возбуждения центров люминесценции: фотолюминесценция возбуждалась лазером с энергией 3,8 эВ, а средняя энергия электронов в системе ЭДП может значительно превышать величину 4 эВ [7; 10]. На спектре ЭЛ отчетливо проявляются полосы с максимумами в красной (1,9 эВ), зеленой (2,3 эВ) и синей (2,7 эВ) области спектра, причем последняя полоса имеет наибольшую интенсивность. Для спектра ФЛ, наоборот, максимальная интенсивность наблюдается в красной области спектра при 1,9 эВ. Кроме того, на спектре ФЛ проявляется синяя полоса низкой интенсивности при 2,8 эВ.

Несмотря на одинаковое положение в спектрах ФЛ и ЭЛ полосы в красной области (1,9 эВ), механизм ее возникновения отличается для двух используемых в работе способов накачки (оптическая и электрическая). На это указывает тот факт, что ширина на полувысоте максимума полосы с энергией 1,9 эВ в спектре ФЛ значительно больше, чем в спектре ЭЛ. Ранее в спектрах

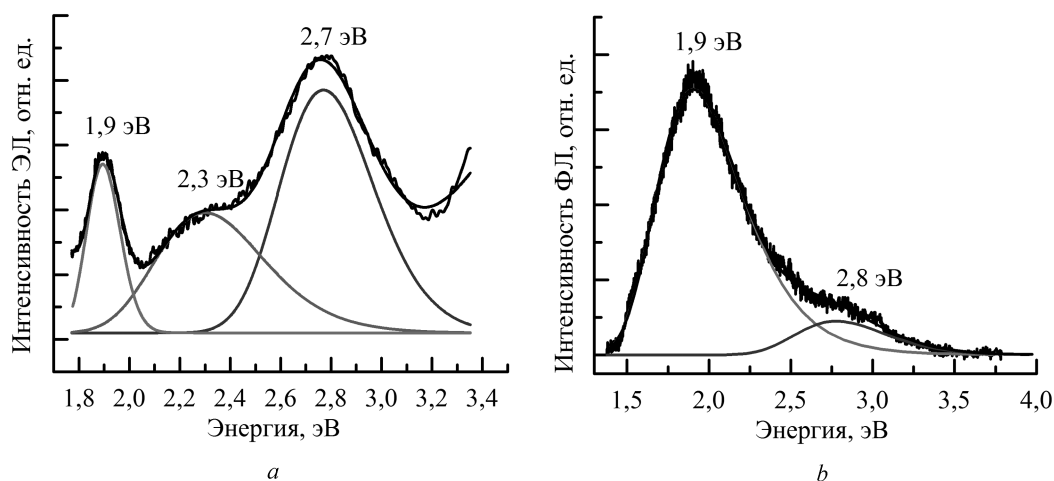


Рис. 2. Спектр электролюминесценции, полученный при постоянной плотности тока, протекающего через тестовую структуру, равной 1,0 мА/см² (a) и спектр фотолюминесценции (b)

Fig. 2. The electroluminescence spectrum taken at a constant current density (1.0 mA/cm²) through the test structure (a) and the photoluminescence spectrum (b)

фотолюминесценции стекла была зарегистрирована интенсивная полоса с энергией 1,9 эВ и полушириной 0,18 эВ, которую авторы [9] связали с наличием в SiO_2 силанольных групп (Si-OH). Появление этой полосы объясняется излучательными переходами между расщепленными под воздействием локальных электрических полей $2p$ -орбиталями немостикового атома кислорода, образующегося в результате диссоциации связи SiO-H [7]. Так как в нашем случае в процессе формирования слоев SiO_2 использовались газы, содержащие водород и кислород, это могло приводить к образованию связей Si-OH по всей толщине слоев оксида кремния. Таким образом, возникновение полосы ЭЛ с энергией 1,9 эВ в структуре $\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0,9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$ можно связать с наличием в слоях SiO_2 силанольных групп (Si-OH). Такую интерпретацию полосы ЭЛ при 1,9 эВ подтверждает равенство значений ее полуширины, полученных нами и авторами работ [9; 10].

Как известно, для возникновения люминесценции посредством возбуждения силанольных групп в оксиде кремния необходима энергия 4,75–6 эВ [7; 9]. Поэтому в спектре ФЛ, возбуждаемом лазером с энергией 3,8 эВ, полоса, обусловленная излучательными переходами между расщепленными $2p$ -орбиталями немостикового атома кислорода, проявляться не может. В случае оптической накачки красное свечение, по-видимому, обусловлено собственной люминесценцией нитрида кремния. Край поглощения слоя $\text{SiN}_{0,9}$, вычисленный на основе данных эллипсомерии, равен 3,2 эВ, следовательно, энергия возбуждающего лазера (3,8 эВ) превышает ширину запрещенной зоны нитрида кремния. В этом случае люминесценция может быть обусловлена излучательной рекомбинацией носителей заряда, локализованных в хвостах разрешенных зон нитрида кремния [5]. Большая протяженность зоны хвостовых состояний, по-видимому, и обуславливает довольно большое значение ширины красной полосы в спектре ФЛ.

В спектре ЭЛ проявляется широкая полоса с максимумом при 2,3 эВ. Наличие полосы с энергией $2,26 \pm 0,05$ эВ в спектрах электро- и катодолюминесценции структур SiO_2/Si связывается с присутствием в окисном слое дефектов типа трехкоординированного атома кремния ($\equiv\text{Si}\cdot$) [7]. Большая концентрация дефектов $\equiv\text{Si}\cdot$ характерна для диэлектрических слоев, содержащих избыточные атомы кремния по сравнению со стехиометрией [11]. В нашем случае наличие избыточных атомов кремния характерно для слоя SiO_2 , нанесенного на кремниевую подложку, и составляет ~3 ат. %. Это позволяет предположить, что полоса ЭЛ с максимумом при 2,3 эВ обусловлена внутрицентровыми переходами в атомах трехкоординированного кремния преимущественно в нижнем слое оксида кремния.

Природа наиболее интенсивной полосы в спектре ЭЛ с максимумом при 2,7 эВ, вероятнее всего, обусловлена излучательной релаксацией возбужденных силиленовых центров, которые представляют собой двухкоординированные по кислороду атомы кремния ($\text{O}_2=\text{Si}\cdot$). Интенсивная полоса люминесценции при 2,7 эВ наблюдалась в слоях SiO_2 , имплантированных кремнием и аргоном [10; 12], а также в структурах Si-SiO_2 , сформированных по технологии SIMOX [10]. Возбуждение силиленовых центров происходит за счет взаимодействия диэлектрика с горячими электронами, образующимися в сильных электрических полях и обладающими избыточной энергией выше 5 эВ [8; 10]. Ранее была установлена связь полосы при 2,7 эВ с наличием в структурах $\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ переходного слоя оксинитрида кремния, которому свойственна высокая концентрация силиленовых центров [8]. По-видимому, в нашем случае переходный слой оксинитрида, выявленный с помощью POP, также играет важную роль в излучательной рекомбинации при электрическом способе накачки.

Полоса ФЛ в синей области с максимумом вблизи 3 эВ приписывается авторами работы [13] излучательной рекомбинации носителей заряда, локализованных на уровнях N_4^+ и N_2^0 . По нашему мнению, полоса ФЛ с максимумом при 2,8 эВ для структуры $\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0,9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$ связана с наличием в слое $\text{SiN}_{0,9}$ азотных дефектов N_4^+ и N_2^0 , а ее малую интенсивность можно объяснить невысокой концентрацией таких дефектов в обогащенном кремнием нитриде.

Напряженность электрического поля является важным параметром при исследовании электрооптических характеристик диэлектрических слоев. Распределение напряженности электрического поля в структуре $\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0,9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$ зависит от проводимости нитрида и оксида кремния и распределения заряда по глубине диэлектрических слоев. Из [7; 8; 10] известно, что центры люминесценции в диоксиде кремния возбуждаются электронами, ускоренными в сильных элек-

трических полях (6–20 МВ/см). Проводимость нитрида кремния с избытком кремния хорошо описывается механизмом туннелирования носителей заряда между ловушками [14]. При этом величина проводимости SiN_x стремительно возрастает с увеличением концентрации избыточного кремния (уменьшением значения параметра x) в нитриде [14; 15]. В [15] проведены измерения вольт-амперных характеристик композиций $\text{Al/SiN}_x/\text{Si}$. Для обогащенного кремнием нитрида с показателем преломления 2,2 (измерен на длине волны 632,8 нм) напряженность электрического поля составляла 2 МВ/см при плотности тока 1 мА/см^2 . В нашем случае показатель преломления слоя $\text{SiN}_{0,9}$ равен 2,18, что близко к значению этого параметра (2,2) для нитрида кремния из [15]. При возбуждении ЭЛ горячими электронами с плотностью тока 1 мА/см^2 средняя величина напряженности электрического поля в структуре $\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0,9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$ составляла 5–6 МВ/см. Это позволило предположить, что напряженность электрического поля в слоях оксида и оксинитрида кремния составляет 7–8 МВ/см и превышает величину напряженности электрического поля в слое $\text{SiN}_{0,9}$ в ~4 раза. Как упоминалось выше, электрическое поле в слое SiO_2 с напряженностью 6–10 МВ/см приводит к разогреву электронов до энергий выше 5 эВ [7]. Электроны, ускоренные до таких энергий, могут возбуждать центры люминесценции с характеристическими полосами, представленными на рис. 2, а. Это является подтверждением того, что наблюдаемая электролюминесценция, прежде всего, связана с процессами ударной ионизации, происходящими в оксиде и оксинитриде кремния.

Для создания эффективных светоизлучателей на базе слоистых диэлектрических композиций $(\text{SiO}_2/\text{SiN}_x)_n/\text{Si}$ необходима информация о процессах их деградации, которую можно получить, изучая изменение интенсивности полос ЭЛ в зависимости от напряженности электрического поля и заряда, протекшего через образец. В нашем эксперименте в начальный момент времени через тестовую структуру пропускали постоянный ток плотностью 1,1 мА/см^2 . При этом наблюдался рост напряжения на образце до ~110 В, после чего напряжение начинало плавно уменьшаться. Рост напряженности поля при постоянной плотности тока обусловлен экранирующим действием отрицательного заряда в оксиде, создаваемого при захвате инжектированных электронов на ловушки [7], а также при захвате электронов и дырок в слое нитрида кремния [2]. Дальнейшее уменьшение напряжения на структуре связано с деградацией диэлектрических слоев, сопровождающейся уменьшением интенсивности спектра ЭЛ. При прохождении через образец постоянного тока плотностью 1,1 мА/см^2 регистрируемый сигнал электролюминесценции появлялся только после протекания заряда ~0,05 Кл/см² и сопровождался его увеличением по крайней мере до тех пор, пока величина протекшего через образец заряда была менее 0,3 Кл/см². Так как нитрид кремния характеризуется высокой плотностью глубоких ловушек (10^{19} – 10^{23} см⁻³) [2; 14], отсутствие сигнала ЭЛ на начальном этапе времени можно объяснить процессом захвата носителей заряда на ловушки в нитриде, препятствующим ударному возбуждению люминесцентных центров «горячими» электронами [7].

На рис. 3 представлены спектры электролюминесценции, зарегистрированные при различных плотностях тока, протекающего через образцы $\text{SiO}_2/\text{SiN}_{0,9}/\text{SiO}_2/\text{Si}$. Все спектры можно аппроксимировать тремя гауссианами с максимумами при 1,9, 2,7 эВ и ~2,4 эВ, как показано на рис. 2, б.

В таблице приведены значения напряжения на структуре и заряда, протекшего через образец в процессе записи спектра, а также интегральных интенсивностей трех полос в спектрах ЭЛ, зарегистрированных при различных плотностях тока. За единицу приня-

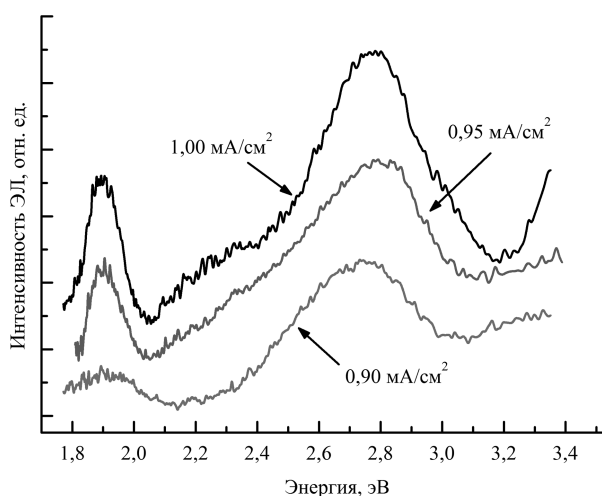


Рис. 3. Спектры электролюминесценции образцов, записанные при трех плотностях тока: 1,0, 0,95 и 0,9 мА/см^2

Fig. 3. Electroluminescence spectra of the samples, taken at three current densities: 1.0, 0.95 and 0.9 mA/cm^2

Интенсивности полос ЭЛ в зависимости от плотности тока, величины протекающего заряда и напряжения на образцах

Intensity of EL bands depending on the current density, the magnitude of the leakage charge and the applied voltage

Плотность тока, мА/см ² Current density, mA/cm ²	Протекший заряд, Кл/см ² Leakage charge, C/cm ²	Напряжение на образце, В Applied voltage, V	Интенсивность полосы ЭЛ, отн. ед. Intensity of EL bands, drb. un.		
			1,9 эВ	~2,4 эВ	2,7 эВ
1,00	0,5–1,4	75,1–71,6	1,00	1,00	1,00
1,00	1,5–2,4	71,2–70,0	0,74	0,60	0,71
1,00	2,5–3,4	69,5–67,8	0,25	0,22	0,31
0,95	0,5–1,4	74,8–71,1	0,60	0,68	0,56
0,90	0,5–1,4	74,5–72,6	0,17	0,16	0,45

та интенсивность n -й полосы в спектре ЭЛ, измеренном при токе 1,00 мА/см² и протекшем через образец заряде (0,5–1,4 Кл/см²).

Длительное воздействие электрического поля высокой напряженности приводит к уменьшению напряжения на образце при фиксированном токе и тушению электролюминесценции. Как видно из таблицы, протекание через образец заряда величиной 2 Кл/см² приводит к уменьшению интенсивности полос ЭЛ примерно в три раза при плотности тока 1 мА/см². Полоса с максимумом при 2,7 эВ обладает наибольшей устойчивостью к воздействию сильных электрических полей после протекания через образец заряда 1–3 Кл/см². Следует отметить, что интенсивность полос с максимумами при 1,9 и ~2,4 эВ уменьшается в шесть раз при уменьшении плотности тока с 1 до 0,9 мА/см², а интенсивность полосы с максимумом при 2,7 эВ – в 2 раза. Анализ данных таблицы показывает, что интенсивность полос ЭЛ нелинейно зависит от плотности тока. В [7] сообщалось о линейной зависимости интенсивности полосы при 2,7 эВ от протекающего через образец SiO₂/Si тока в режимах, не приводящих к процессу окислосложения. В нашем случае нелинейная зависимость этих величин может быть связана с особенностями переноса носителей заряда в исследуемой структуре и сложным распределением электрического поля по глубине диэлектрических слоев.

Заключение. Изучены элементный состав, фото- и электролюминесценция структуры SiO₂/SiN_{0,9}/SiO₂/Si, полученной методом химического осаждения из газовой фазы. Методом POP выявлено наличие областей оксинитрида кремния на границах нитридного и оксидных слоев.

Анализ спектров фото- и электролюминесценции показал различную природу полос люминесценции: если в случае оптической накачки ($E_{\text{возб}} = 3,82$ эВ) свечение обусловлено люминесценцией нитрида кремния, то электрическая накачка приводит к высвечиванию центров люминесценции оксида и оксинитрида кремния.

В спектре ФЛ преобладает широкая интенсивная полоса в красной области с максимумом при 1,9 эВ, которая обусловлена рекомбинацией носителей заряда, локализованных в хвостах разрешенных зон нитрида кремния. Полоса ФЛ с максимумом при 2,8 эВ приписывается излучательной рекомбинации носителей заряда, локализованных на уровнях N₄⁺ и N₂⁰ в слое SiN_{0,9}.

Спектр ЭЛ характеризуется полосами с энергиями в красной (1,9 эВ), зеленой (2,3 эВ) и синей (2,7 эВ) области спектра, причем последняя полоса имеет наибольшую интенсивность. Полоса в красной области спектра ЭЛ связана с наличием в слоях SiO₂ силанольных групп (Si–OH). ЭЛ в зеленой области объясняется внутрицентровыми переходами в атомах трехкоординированного кремния в нижнем слое SiO₂, содержащего ~3 ат. % избыточного кремния. Полоса ЭЛ с максимумом при 2,7 эВ, по-видимому, обусловлена излучательной релаксацией двухкоординированных атомов кремния (O₂=Si) в областях оксинитрида кремния. Показано, что интенсивность свечения этой полосы обладает наибольшей устойчивостью к воздействию сильных электрических полей после протекания через образец заряда 1–3 Кл/см².

Список использованных источников

1. Nanocrystalline Si pathway induced unipolar resistive switching behavior from annealed Si-rich SiN_x/SiN_y multilayers / X. Jiang [et al.] // Journal of Applied Physics. – 2014. – Vol. 116, N 12. – P. 123705 (5 p.). <https://doi.org/10.1063/1.4896552>
2. Белый, В. И. Нитрид кремния в электронике / В. И. Белый, Л. Л. Васильева, В. А. Гриценко. – Новосибирск: Наука, 1982. – 200 с.

3. Low-loss Si₃N₄ arrayed-waveguide grating (de) multiplexer using nano-core optical waveguides / D. Dai [et al.] // *Optics express*. – 2011. – Vol. 19, N 15. – P. 14130–14136. <https://doi.org/10.1364/oe.19.014130>
4. Enhancement of photoluminescence signal from ultrathin layers with silicon nanocrystals / S. A. Dyakov [et al.] // *Appl. Phys. Lett.* – 2012. – Vol. 100, N 6. – P. 061908 (4 p.). <https://doi.org/10.1063/1.3682537>
5. Photoluminescence from silicon nitride – no quantum effect / J. Kistner [et al.] // *Journal of Applied Physics*. – 2011. – Vol. 110, N 2. – P. 023520 (5 p.). <https://doi.org/10.1063/1.3607975>
6. Strong violet and green-yellow electroluminescence from silicon nitride thin films multiply implanted with Si ions / Z. H. Cen [et al.] // *Applied Physics Letters*. – 2009. – Vol. 94, N 4. – P. 041102 (3 p.). <https://doi.org/10.1063/1.3068002>
7. Барабан, А. П. Электроника слоев SiO₂ на кремнии / А. П. Барабан, В. В. Булавинов, П. П. Коноров. – Л., 1988. – 304 с.
8. Electroluminescence of Si–SiO₂–Si₃N₄ structures / A. P. Baraban [et al.] // *Technical Physics Letters*. – 2002. – Vol. 28, N 12. – P. 978–980. <https://doi.org/10.1134/1.1535507>
9. Skuja, L. The origin of the intrinsic 1.9 eV luminescence band in glassy SiO₂ / L. Skuja // *Journal of Non-Crystalline Solids*. – 1994. – Vol. 179. – P. 51–69. [https://doi.org/10.1016/0022-3093\(94\)90684-x](https://doi.org/10.1016/0022-3093(94)90684-x)
10. Electroluminescence of ion-implanted Si–SiO₂ structures / A. P. Baraban [et al.] // *Technical Physics*. – 2000. – Vol. 45, N 8. – P. 1042–1044. <https://doi.org/10.1134/1.1307014>
11. Blue luminescence from Si⁺-implanted SiO₂ films thermally grown on crystalline silicon / L. S. Liao [et al.] // *Applied Physics Letters*. – 1996. – Vol. 68, N 6. – P. 850–852. <https://doi.org/10.1063/1.116554>
12. The effect of annealing on the electroluminescence of SiO₂ layers with excess silicon / A. P. Baraban [et al.] // *Technical Physics Letters*. – 2004. – Vol. 30, N 2. – P. 85–87. <https://doi.org/10.1134/1.1666947>
13. Excitation dependent photoluminescence study of Si-rich a-SiN_x:H thin films / R. Kumar Bommali [et al.] // *Journal of Applied Physics*. – 2012. – Vol. 112, N 12. – P. 123518 (6 p.). <https://doi.org/10.1063/1.4770375>
14. Nasyrov, K. A. Charge transport in dielectrics via tunneling between traps / K. A. Nasyrov, V. A. Gritsenko // *Journal of Applied Physics*. – 2011. – Vol. 109, N 9. – P. 093705 (5 p.). <https://doi.org/10.1063/1.3587452>
15. Brown, G. A. Electrical Characteristics of Silicon Nitride Films Prepared by Silane-Ammonia Reaction / G. A. Brown, W. C. Robinette, H. G. Carlson // *Journal of the Electrochemical Society*. – 1968. – Vol. 115, N 9. – P. 948–955. <https://doi.org/10.1149/1.2411484>

References

1. Jiang X., Ma Z., Yang H., Yu J., Wang W., Zhang W., Li W., Xu J., Xu L., Chen K., Huang X., Feng D. Nanocrystalline Si pathway induced unipolar resistive switching behavior from annealed Si-rich SiN_x/SiN_y multilayers. *Journal of Applied Physics*, 2014, vol. 116, no. 12, p. 123705 (5 p.). <https://doi.org/10.1063/1.4896552>
2. Belyi V. I., Vasilyeva L. L., Gritsenko V. A. *Silicon nitride in electronics*. Novosibirsk, Nauka Publ., 1982. 200 p. (in Russian).
3. Dai D., Wang Z., Bauters J. F., Tien M.-C., Heck M. J. R., Blumenthal D. J., Bowers J. E. Low-loss Si₃N₄ arrayed-waveguide grating (de) multiplexer using nano-core optical waveguides. *Optics express*, 2011, vol. 19, no. 15, pp. 14130–14136. <https://doi.org/10.1364/oe.19.014130>
4. Dyakov S. A., Zhigunov D. M., Hartel A., Zacharias M., Perova T. S., Timoshenko V. Yu. Enhancement of photoluminescence signal from ultrathin layers with silicon nanocrystals. *Applied Physics Letters*, 2012, vol. 100, no. 6, pp. 061908 (4 p.). <https://doi.org/10.1063/1.3682537>
5. Kistner J., Chen X., Weng Y., Strunk H. P., Schubert M. B., Werner J. H. Photoluminescence from silicon nitride – no quantum effect. *Journal of Applied Physics*, 2011, vol. 110, no. 2, p. 023520 (5 p.). <https://doi.org/10.1063/1.3607975>
6. Cen Z. H., Chen T. P., Ding L., Liu Y., Wong J. I., Yang M., Liu Z., Goh W. P., Zhu F. R., Fung S. Strong violet and green-yellow electroluminescence from silicon nitride thin films multiply implanted with Si ions. *Applied Physics Letters*, 2009, vol. 94, no. 4, p. 041102 (3 p.). <https://doi.org/10.1063/1.3068002>
7. Baraban A. P., Bulavinov V. V., Konorov P. P. *Electronics of SiO₂ layers on silicon*. Leningrad, 1988. 304 p. (in Russian).
8. Baraban A. P., Egorov D. V., Askinazi A. Y., Miloglyadova L. V. Electroluminescence of Si–SiO₂–Si₃N₄ structures. *Technical Physics Letters*, 2002, vol. 28, no. 12, pp. 978–980. <https://doi.org/10.1134/1.1535507>
9. Skuja L. The origin of the intrinsic 1.9 eV luminescence band in glassy SiO₂. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 1994, vol. 179, pp. 51–69. [https://doi.org/10.1016/0022-3093\(94\)90684-x](https://doi.org/10.1016/0022-3093(94)90684-x)
10. Baraban A. P., Konorov P. P., Malyavka L. V., Troshikhin A. G. Electroluminescence of ion-implanted Si–SiO₂ structures. *Technical Physics*, 2000, vol. 45, no. 8, pp. 1042–1044. <https://doi.org/10.1134/1.1307014>
11. Liao L. S., Bao X. M., Zheng X. Q., Li N. S., Min N. B. Blue luminescence from Si⁺-implanted SiO₂ films thermally grown on crystalline silicon. *Applied Physics Letters*, 1996, vol. 68, no. 6, pp. 850–852. <https://doi.org/10.1063/1.116554>
12. Baraban A. P., Egorov D. V., Petrov Y. V., Miloglyadova L. V. The effect of annealing on the electroluminescence of SiO₂ layers with excess silicon. *Technical Physics Letters*, 2004, vol. 30, no. 2, pp. 85–87. <https://doi.org/10.1134/1.1666947>
13. Kumar Bommali R., Preet Singh S., Rai S., Mishra P., Sekhar B. R., Vijaya Prakash G., Srivastava P. Excitation dependent photoluminescence study of Si-rich a-SiN_x:H thin films. *Journal of Applied Physics*, 2012, vol. 112, no. 12, p. 123518 (6 p.). <https://doi.org/10.1063/1.4770375>
14. Nasyrov K. A., Gritsenko V. A. Charge transport in dielectrics via tunneling between traps. *Journal of Applied Physics*, 2011, vol. 109, no. 9, p. 093705 (5 p.). <https://doi.org/10.1063/1.3587452>

15. Brown George A., Robinette W. C., Carlson H. G. Electrical Characteristics of Silicon Nitride Films Prepared by Silane-Ammonia Reaction. *Journal of The Electrochemical Society*, 1968, vol. 115, no. 9, pp. 948–955. <https://doi.org/10.1149/1.2411484>

Информация об авторах

Романов Иван Александрович – аспирант. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 1, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: romivan@bsu.by.

Власукова Людмила Александровна – канд. физ.-мат. наук, заведующая лабораторией. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 5, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vlasukova@bsu.by.

Комаров Фадей Фадеевич – член-корреспондент, д-р физ.-мат. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко БГУ (ул. Курчатова, 7, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: komarovf@bsu.by.

Пархоменко Ирина Николаевна – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 5, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: parhomir@yandex.by.

Ковальчук Наталья Станиславовна – канд. техн. наук, заместитель главного инженера ОАО «Интеграл» (ул. Казинца, 121а, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: 7033696@mail.ru

Моховиков Максим Александрович – мл. науч. сотрудник. Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко (ул. Курчатова, 7, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: m.mohovikov@gmail.com.

Мудрый Александр Викторович – канд. физ.-мат. наук, гл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mudryi@ifttp.bas-net.by.

Мильчанин Олег Владимирович – ст. науч. сотрудник. Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко (ул. Курчатова, 7, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: milchanin@tut.by.

Information about the authors

Romanov Ivan Alexandrovich – Postgraduate student. Belarusian State University (1, Kurchatov Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: romivan@bsu.by.

Vlasukova Liudmila Alexandrovna – Ph. D. (Physics and Mathematics), Head of the Laboratory. Belarusian State University (5, Kurchatov Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vlasukova@bsu.by.

Komarov Fadei Fadeevich – Corresponding Member, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Head of the Laboratory. A. N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems of Belarusian State University (7, Kurchatov Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: komarovf@bsu.by.

Parkhomenko Irina Nikolaevna – Ph. D. (Physics and Mathematics), Senior researcher. Belarusian State University (5, Kurchatov Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: parhomir@yandex.by.

Kovalchuk Natalia Stanislavovna – Ph. D. (Engineering), Deputy chief engineer. Joint Stock Company “Integral” (121a, Kazinets Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). 7033696@mail.ru.

Makhavikou Maxim Alexandrovich – Junior researcher. A. N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems (7, Kurchatov Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m.mohovikov@gmail.com.

Mudryi Alexander Victorovich – Ph. D. (Physics and Mathematics), Chief researcher. Scientific and Practical Materials Research Center of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mudryi@ifttp.bas-net.by.

Milchanin Oleg Vladimirovich – Senior researcher. A. N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems (7, Kurchatov Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: milchanin@tut.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 536.424
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-555-562>

Поступило в редакцию 09.04.2018
Received 09.04.2018

Член-корреспондент **И. О. Троянчук**, **М. В. Бушинский**

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по материаловедению,
Минск, Республика Беларусь*

СТРУКТУРА, МАГНИТНЫЕ И МАГНИТОТРАНСПОРТНЫЕ СВОЙСТВА СЛОИСТОГО КОБАЛЬТИТА $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$

Аннотация. Исследованы структура, магнитные и магнитотранспортные свойства перовскита $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$. Показано, что образец является структурно двухфазным. Основная фаза имеет тетрагонально искаженную элементарную ячейку и описывается пространственной группой $I4/mmm$. Уширение рефлексов с индексами, соответствующими удвоению параметра c элементарной ячейки, указывает на отсутствие строгой трансляционной симметрии вдоль оси c . Наличие уширенного сверхструктурного рефлекса, наблюдаемого на малых углах на рентгенограммах при температуре меньше 400 К, обусловлено моноклинной фазой, содержание которой значительно меньше, чем тетрагональной. Спонтанная намагниченность появляется при формировании моноклинной фазы. Магнитная структура является преимущественно антиферромагнитной структурой G -типа с магнитными моментами $1,5\mu_B$ в слоях из октаэдров CoO_6 и $2\mu_B$ в анион-дефицитных $\text{CoO}_{4+\gamma}$ слоях. Электропроводность состава $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$ имеет полупроводниковый характер. Магнитосопротивление достигает 57 % в поле 14 Тл при температуре 5 К и значительно уменьшается с ростом температуры.

Ключевые слова: магнитные материалы, фазовые превращения, обменное взаимодействие

Для цитирования: Троянчук, И. О. Структура, магнитные и магнитотранспортные свойства слоистого кобальтита $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$ / И. О. Троянчук, М. В. Бушинский // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 555–562. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-555-562>

Corresponding Member **Igor O. Troyanchuk**, Maxim V. Bushinsky

Scientific-Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

STRUCTURE, MAGNETIC AND MAGNETIC TRANSPORT PROPERTIES OF LAYERED COBALTITE $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$

Abstract. The structure, magnetic and magnetotransport properties of perovskite $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$ are studied. It is shown that the sample is structurally two-phase. The main phase has a tetragonal-distorted unit cell and is described by the spatial group $I4/mmm$. The broadening of the reflexes with indexes corresponding to a doubling of the parameter from the unit cell indicates that there is no strict translational symmetry along the c -axis. The presence of a broadened superstructural reflex observed at small angles on X-ray diffraction patterns at temperatures below 400 K is due to the monoclinic phase, whose content is much smaller than the tetragonal phase. Spontaneous magnetization appears during the formation of the monoclinic phase. The magnetic structure is predominantly an antiferromagnetic G -type structure with magnetic moments of $1.5\mu_B$ in the layers of CoO_6 octahedra and $2\mu_B$ in the anion-deficient $\text{CoO}_{4+\gamma}$ layers. The electrical conductivity of $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$ has a semiconductor in character. The magnetoresistance reaches 57 % in a field of 14 T at a temperature of 5 K and decreases strongly with increasing temperature.

Keywords: magnetic materials, phase transitions, exchange interactions

For citation: Troyanchuk I. O., Bushinsky M. V. Structure, magnetic and magnetic transport properties of layered cobaltite $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 555–562 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-555-562>

Введение. Сложные оксиды кобальта со структурой перовскита вызывают интерес вследствие различных спиновых состояний иона Co^+ , наличия связи между магнитными и транспортными свойствами [1] и эффектом гигантского магнитосопротивления [2] в этих соединениях. Характер магнитных взаимодействий в кобальтитах зависит от спинового состояния ионов Co^{3+} , которые могут находиться в низкоспиновом (t_{2g}^6 , $S = 0$), промежуточном спиновом ($t_{2g}^5 e_g$, $S = 1$)

и высокоспиновом ($t_{2g}^4 e_g^2$, $S = 2$) состояниях. В базовом соединении LaCoO_3 ионы Co^{3+} находятся в низкоспиновом состоянии ниже 30 К [1]. Увеличение температуры выше 30 К ведет к увеличению намагниченности, которая достигает максимума при 110 К. При температуре выше 500 К наблюдается постепенный переход полупроводник–металл с увеличением намагниченности при повышении температуры. Эти переходы сопровождаются изменением спинового состояния ионов Co^{3+} . На поверхности кристаллитов в порошках и внутри эпитаксиальных пленок LaCoO_3 обнаружен ферромагнетизм с температурой Кюри $T_C \sim 85$ К [3].

Замещение ионов La ионами Sr в системе $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{CoO}_3$ ведет к ферромагнетизму с температурой Кюри до 305 К (SrCoO_3) [4]. Базовое соединение $\text{SrCoO}_{3-\gamma}$ в зависимости от условий синтеза и содержания кислорода может иметь различные структурные искажения: при $\gamma = 0,5$ – орторомбические, при $\gamma \approx 0,15$ – тетрагональные, а близкое к стехиометрическому по кислороду соединение характеризуется кубической элементарной ячейкой с пространственной группой $Pm\bar{3}m$ [4]. Уменьшение содержания кислорода ведет к переходу из ферромагнитного состояния с температурой Кюри $T_C \approx 305$ К ($\gamma \approx 0$) к антиферромагнитному с температурой Нееля $T_N \approx 537$ К ($\gamma \approx 0,5$) [5]. В [6] было показано, что небольшое замещение ионов Sr редкоземельными ионами (порядка 5 %) может стабилизировать кубическую фазу $\text{Sr}_{0,95}\text{Y}_{0,05}\text{CoO}_{3-\gamma}$ в условиях синтеза на воздухе, тогда как кубическая фаза $\text{SrCoO}_{3-\gamma}$ получается только под высоким давлением кислорода [4]. В зависимости от содержания кислорода составы $\text{Sr}_{0,95}\text{Y}_{0,05}\text{CoO}_{3-\gamma}$ могут быть также тетрагональными ($a_p \times a_p \times 2a_p$) (a_p – параметр примитивной элементарной ячейки, пространственная группа $P4/mmm$).

Относительно недавно были получены анион-дефицитные слоистые кобальтиты $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10,5+\delta}$ (приведенная формула $\text{Sr}_{0,75}\text{Y}_{0,25}\text{CoO}_{3-\gamma}$), в которых редкоземельные ионы замещают ионы стронция и могут упорядочиваться [7]. Эти соединения являются преимущественно антиферромагнитными с температурой Нееля выше комнатной [7]. Относительно небольшая ферромагнитная компонента возникает одновременно с магнитным упорядочением [7]. Кристаллическая структура слоистых кобальтитов $\text{Sr}_3\text{LnCo}_4\text{O}_{10,5+\delta}$ состоит из чередующихся анион-дефицитных слоев $\text{CoO}_{4+\delta}$ и слоев, состоящих из октаэдров CoO_6 , соприкасающихся вершинами [7].

Соединения $\text{Sr}_3\text{LnCo}_4\text{O}_{10,5+\delta}$ характеризуются высокой температурой магнитного упорядочения, которая достигает 360 К [8]. Ниже температуры магнитного упорядочения появляется спонтанная намагниченность, достигающая максимального значения вблизи комнатной температуры [8]. Кроме того, согласно [8], магнитное упорядочение сопровождается появлением сверхструктуры типа $4\sqrt{2}a_p \times 2\sqrt{2}a_p \times 4a_p$ и кристаллическая структура описывается моноклинной группой $A2/mn$. Показано, что магнитная структура $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10,5}$ является преимущественно антиферромагнитной структурой G -типа с T_N близкой к 350 К.

Соединения $\text{Sr}_3\text{LnCo}_4\text{O}_{10,5+\delta}$ проявляют переход первого рода антиферромагнетик–ферромагнетик [9], аналогичный тому, который наблюдается в серии слоистых кобальтитов $\text{LnBaCo}_2\text{O}_{5,5}$ [10]. Ферромагнитная компонента исчезает при небольшом замещении ионов Sr^{2+} ионами Ca^{2+} или ионов Co на ионы Fe [7; 11]. Происхождение ферромагнитной компоненты объясняется орбитальным упорядочением [12], ферромагнетизмом, обусловленным наличием неэквивалентных позиций ионов Co^{3+} в анион-дефицитных слоях [13], образованием ферромагнитных регулярных спиновых кластеров в обогащенных кислородом слоях CoO_6 [14] или неколлинеарной магнитной структурой в анион-дефицитных слоях $\text{CoO}_{4+\gamma}$ [7; 9].

В [12] методом рентгеновской спектроскопии было проведено исследование слоистого кобальтита $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10,5}$, которое указало на наличие упорядочения $3d$ -орбиталей ионов кобальта ниже точки Нееля. Поэтому ферромагнитная компонента этого соединения была объяснена упорядочением $3d$ -орбиталей ионов Co^{3+} , находящихся в промежуточном спиновом состоянии в слоях, обогащенных ионами кислорода. Однако упорядочение $3d$ -орбиталей ионов кобальта может быть связано с анион-дефицитными слоями. В связи с наличием разных точек зрения на природу ферромагнитной компоненты в слоистых кобальтитах $\text{Sr}_{3-x}\text{Ln}_x\text{Co}_4\text{O}_{10,5+\delta}$ нами было проведено исследование структуры, магнитных и магнитотранспортных свойств кобальтита $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{3-\gamma}$ в котором содержание иттрия и кислорода является промежуточным между $\text{SrCoO}_{2,5}$ и $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10,5+\delta}$.

Материалы и методы исследования. Поликристаллический образец состава $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{3-\gamma}$ был получен по обычной керамической технологии на воздухе. Исходные реактивы Y_2O_3 , Co_3O_4 и SrCO_3 высокой чистоты были взяты в стехиометрическом соотношении и тщательно перемешаны в планетарной шаровой мельнице фирмы RETSCH PM-100 в течение 30 мин со скоростью 250 об/мин. Перед взвешиванием оксид Y_2O_3 был предварительно отожжен при температуре 1000 °С для удаления влаги. Синтез образцов проводился в два этапа. Предварительный обжиг был проведен при температуре 1000 °С. Окончательный синтез проходил при температуре 1185 °С в течение 8 ч. Затем образец охлаждался в течение 12 ч до температуры 300 °С. Рентгеноструктурные исследования ($95 \text{ K} \leq T \leq 420 \text{ K}$) проводились на источнике синхротронного излучения в исследовательском центре института Пауля Шеррера (Виллиген, Швейцария). Нейтронографические исследования в интервале температур 10–420 К были выполнены на дифрактометре высокого разрешения D2B в институте Лауэ-Ланжевена (Гренобль, Франция). Уточнение кристаллической и магнитной структур выполнено по методу Ритвельда с использованием программного пакета FullProf [15]. Магнитные и магнитотранспортные измерения были проведены на установке измерения физических свойств (Cryogenic Ltd.) в магнитных полях до 14 Тл в диапазоне температур 5–315 К. Измерения электропроводности выполнены четырехконтактным методом с использованием индиевых контактов, нанесенных с помощью ультразвука.

Результаты и их обсуждение. Рентгеноструктурные исследования состава $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{3-\gamma}$ были проведены в температурном диапазоне 95–420 К. На рис. 1 показана рентгенограмма, полученная при температуре 100 К, а также результат ее обработки в программе Fullprof в двухфазной структурной модели. Основная структурная фаза $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{3-\gamma}$ рассчитана в тетрагональной пространственной группе $I4/mmm$ с элементарной ячейкой типа $2a_p \times 2a_p \times 4a_p$ (a_p – параметр примитивной кубической ячейки). Фазовых переходов для этой фазы в исследуемом температурном интервале не наблюдалось. На рентгенограммах (95–420 К) обнаружено сильное уширение рефлексов с индексами 103, 202, 206 и т. д., связанное с удвоением параметра элементарной ячейки вдоль оси c (вставка на рис. 1). Такое уширение рефлексов, вероятнее всего, обусловлено отсутствием строгой трансляционной симметрии вдоль оси c . Кроме того, на рентгенограммах в области малых углов ($4\text{--}4,5^\circ$) наблюдается сильно уширенный сверхструктурный рефлекс, который присутствовал вплоть до температуры 400 К (вставка на рис. 1). Наличие данного сверхструктурного рефлекса, скорее всего, связано с существованием моноклинно искаженной фазы, так как он описывается в рамках сверхструктуры, присущей пространственной группе $A2/m$.

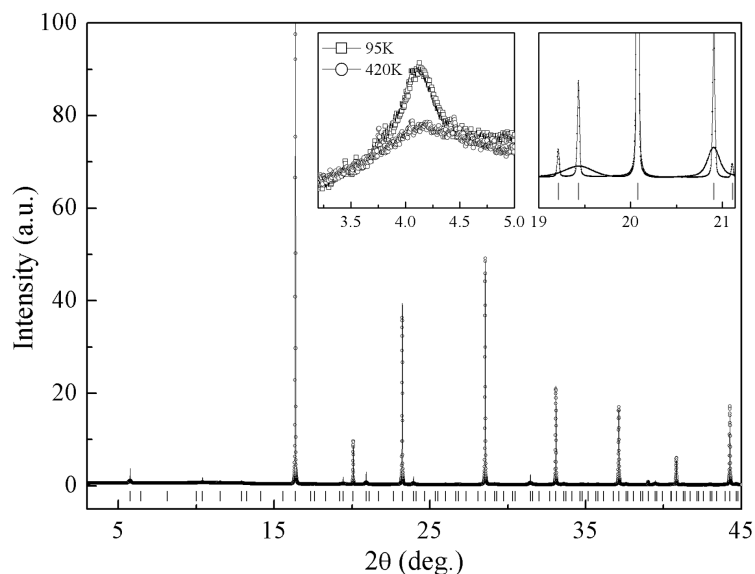


Рис. 1. Рентгенограмма состава $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{3-\gamma}$, полученная при температуре 100 К. Экспериментальные данные изображены кружками, рассчитанные – сплошной линией. Внизу показана разность между измеренными и рассчитанными данными
 Fig. 1. X-ray diffraction patterns recorded at 100 K for $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{3-\gamma}$. The points and line refer to observed and calculated profiles. The bottom line represents their difference

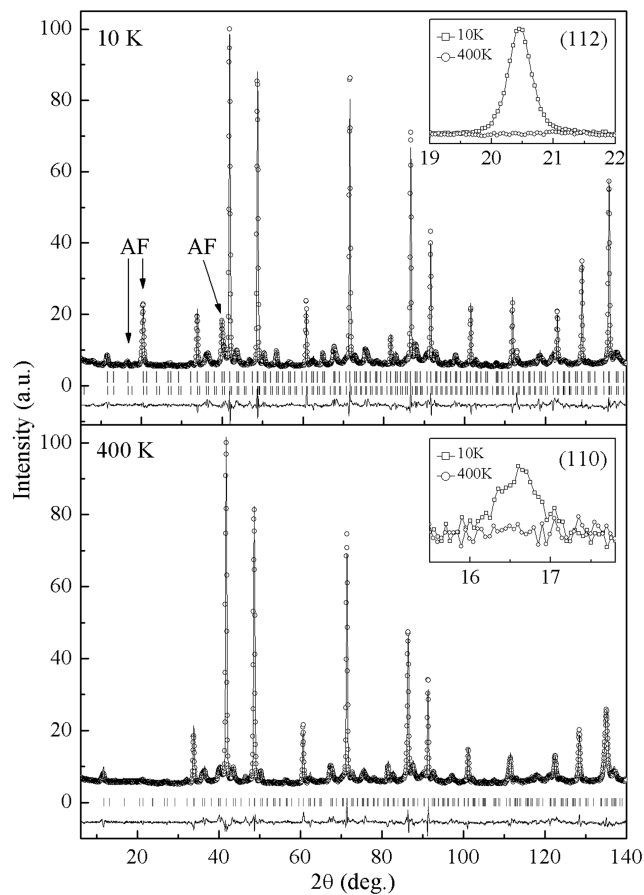


Рис. 2. Профили нейтронограмм образца $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{3-\gamma}$, полученные при температурах 10 и 400 К

Fig. 2. Neutron powder diffraction patterns recorded at 10 and 400 K for $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{3-\gamma}$

Нейтронографические исследования проведены при температуре 10, 260 и 400 К. На рис. 2 показаны результаты расчета кристаллической и магнитной структур основной фазы состава $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{3-\gamma}$ при 10 и 400 К, который был проведен в рамках пространственной группы $I4/mmm$ и ячейки типа $2a_p \times 2a_p \times 4a_p$. Согласно полученным данным, кристаллическая структура состоит из чередующихся вдоль оси c слоев из октаэдров CoO_6 и анион-дефицитных слоев $\text{CoO}_{4+\gamma}$, что ранее было показано для других слоистых кобальтитов $\text{Sr}_{0.75}\text{Y}_{0.25}\text{CoO}_{3-\gamma}$ [7]. При 400 К моноклинно искаженная фаза отсутствует.

Уточненное из нейтронографических данных содержание кислорода в образце близко к 2,63, это означает, что ион кобальта находится в трехвалентном состоянии. Анализ нейтронографических данных, полученных при температуре 10 К, показал, что основной магнитный вклад присутствует в рефлексах 110, 112, 202, 211, где индексы относятся к ячейке типа $2a_p \times 2a_p \times 4a_p$ (рис. 2). Из этого следует, что базовая магнитная структура может быть описана антиферромагнитным упорядочением G -типа с магнитной ячейкой типа $2a_p \times 2a_p \times 4a_p$ с двумя различными магнитными позициями в слоях из октаэдров CoO_6 и анион-дефицитных слоях. Возрастание интенсивности рефлекса ПО при понижении температуры указывает на различную величину магнитных моментов ионов Co в слоях из октаэдров CoO_6 и анион-дефицитных слоях $\text{CoO}_{4+\gamma}$. Уточнение магнитной структуры в модели, когда направления магнитных моментов совпадают с кристаллоструктурной осью c , позволяет более точно описать вклад во все магнитные рефлексы по сравнению с моделью, в которой магнитные моменты обеих подрешеток направлены коллинеарно вдоль кристаллоструктурных осей a или b . Магнитные моменты в анион-дефицитных слоях и в слоях из октаэдров CoO_6 при температуре 10 К равны $2\mu_B$ и $1,5\mu_B$ соответственно. При температуре 400 К магнитный вклад не выявлен. Основные расчетные кристаллоструктурные и магнитные параметры приведены в таблице.

Параметры кристаллической и магнитной структур состава $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$, уточненные по методу Ритвельда
Parameters of the crystalline and magnetic structures of the $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$ composition specified by the Rietveld method

Параметр Parameter	Температура, К Temperature, K		
	10	260	400
$a, b, \text{Å}$	7,6907(3)	7,7017	7,7022
$c, \text{Å}$	15,3830(1)	15,4126	15,4394
$V, \text{Å}^3$	909,86(14)	914,174	915,926
Sr1/Y1	0,0,z		
z	0,86471	0,86432	0,86571
$B_{\text{iso}}, \text{Å}^2$	1,45(34)	1,87(50)	2,27(03)
Sr_2/Y_2	0,0,5,z		
z	0,86844	0,86772	0,86673
$B_{\text{iso}}, \text{Å}^2$	1,13(10)	1,37(94)	1,79(56)
Sr_3/Y_3	0,0,z		
z	0,37409	0,37438	0,375
$B_{\text{iso}}, \text{Å}^2$	0,27(84)	0,64(27)	0,75(6)
Co_1	$x,y,0$		
x	0,24172	0,24154	0,24439
y	0,24172	0,24154	0,24439
Магнитный момент μ_z, μ_B	1,517	1,199	
$B_{\text{iso}}, \text{Å}^2$	0,63(33)	0,89(61)	1,02(38)
Co_2	0,25,0,75,0,25		
Магнитный момент μ_z, μ_B	1,964	1,534	
$B_{\text{iso}}, \text{Å}^2$	0,29(61)	0,68(32)	1,37(02)
O_1	$0,y,z$		
y	0,2481	0,24817	0,24883
z	0,2545	0,25471	0,25428
$B_{\text{iso}}, \text{Å}^2$	1,22(56)	1,62(82)	1,91(94)
O_2	x,y,z		
x, y	0,23086	0,23119	0,22927
z	0,11635	0,11615	0,11599
$B_{\text{iso}}, \text{Å}^2$	2,14(99)	2,50(20)	2,72(38)
O_3	$0,y,0$		
y	0,75(48)	0,75399	0,75536
$B_{\text{iso}}, \text{Å}^2$	0,17(01)	0,41(05)	0,16(30)
O_4	$x,0,5,0$		
x	0,21197	0,21065	0,21238
$B_{\text{iso}}, \text{Å}^2$	2,78(52)	3,15(56)	3,50(41)
R_p/R_{wp} (%)	4,66/6,37	4,24/5,77	4,01/5,33
R_{Bragg} (%)	9,53	9,93	11,4
Магнитный R -фактор	13,1	11,9	
χ^2	13,5	11,1	9,5

Зависимость намагниченности от температуры состава $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$ показана на рис. 3 (вставка). Измерения проводились в режиме охлаждения в поле (FC) $B = 0,03$ Тл. По результатам данных магнитных измерений была грубо оценена температура Нееля, которая составляет около $T_N \approx 380$ К. С уменьшением температуры от 320 до 5 К намагниченность сначала увеличивается, достигая максимального значения 0,5 э.м.е/г при $T \approx 130$ К, а затем слегка уменьшается.

На рис. 3 показаны полевые зависимости намагниченности состава $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$. Коэрцитивная сила при гелиевой температуре составляет 0,75 Тл и с ростом температуры до 220 К, как и намагниченность, слабо меняется. Величина остаточной намагниченности составляет $\sim 0,022\mu_B$ на ион кобальта (0,65 э.м.е/г) при температуре 5 К и незначительно уменьшается до $0,017\mu_B$ на

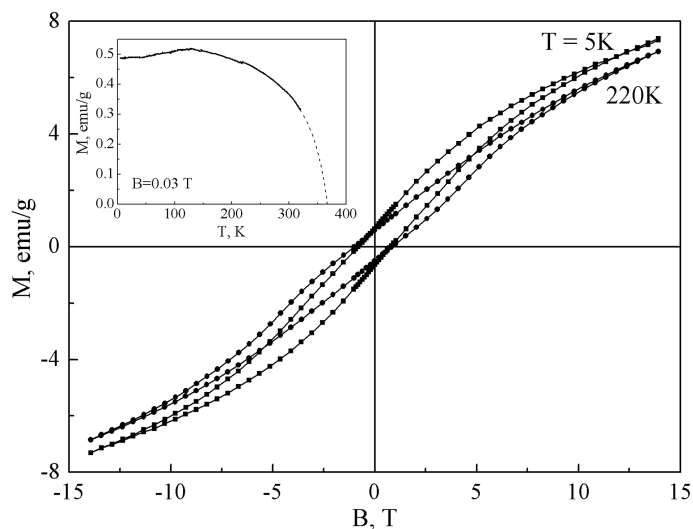


Рис. 3. Полевые зависимости намагниченности состава $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{2.63}$ при температурах 5 и 220 К

Fig. 3. Field dependences of magnetization for $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{2.63}$ measured at temperature 5 and 220 K

ион кобальта (0,5 э.м.е/г) при температуре 220 К. Насыщения намагниченности в полях до 14 Тл не наблюдалось. Намагниченности при температурах 5 и 220 К в поле 14 Тл приблизительно равны.

Измерение электротранспортных свойств состава $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{2.63}$ показало, что зависимость электропроводности от температуры носит полупроводниковый характер (рис. 4, вставка). Величина удельного электрического сопротивления увеличивается от $\sim 0,02 \text{ Ом} \cdot \text{см}$ при 300 К до $\sim 20 \text{ кОм} \cdot \text{см}$ при гелиевой температуре. Аномалий на зависимости удельного электрического сопротивления от температуры не обнаружено. Отрицательный магниторезистивный эффект, определенный как $\text{MR} = (\rho(0) - \rho(H)) / \rho(0) 100 \%$, достигает 57 % при температуре 5 К в магнитном поле $B = 14 \text{ Тл}$ (рис. 4). С увеличением температуры магнитосопротивление значительно уменьшается до 1,6 % в поле 14 Тл при температуре 220 К.

Полученные данные свидетельствуют о том, что кристаллическая структура при увеличении содержания иттрия в системе $\text{Sr}_{1-x}\text{Y}_x\text{CoO}_{2.63+\gamma}$ меняется от тетрагональной $P4/mmm$ ($a_p \times a_p \times 2a_p$) до моноклинной $A2/m$ через промежуточную тетрагональную фазу $I4/mmm$ ($2a_p \times 2a_p \times 4a_p$), в которой нет строгой трансляционной симметрии вдоль оси c . Одновременное исчезновение моноклинной фазы и спонтанной намагниченности является доказательством того, что тип кристаллической структуры определяет возникновение ферромагнитной компоненты.

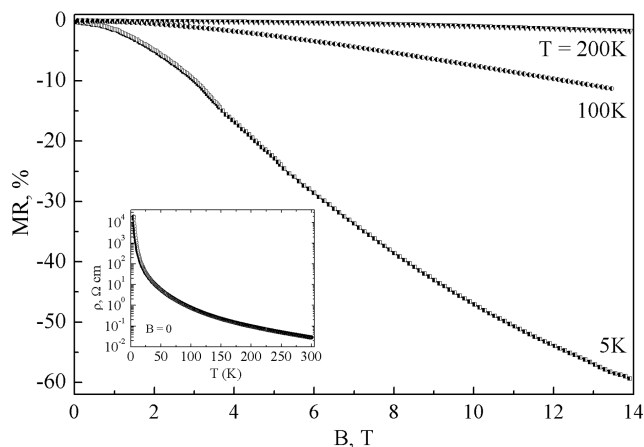


Рис. 4. Зависимости магнитосопротивления состава $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{2.63}$ при температурах 5, 100 и 200 К

Fig. 4. Dependences of the magnetoresistance of the composition $\text{Sr}_{0.9}\text{Y}_{0.1}\text{CoO}_{2.63}$ at temperatures of 5, 100 and 200 K

Заклучение. Методом рентгеновских и нейтронографических исследований, измерения магнитных и магнитотранспортных свойств были определены свойства перовскита $\text{Sr}_{0,9}\text{Y}_{0,1}\text{CoO}_{2,63}$. Установленное содержание кислорода соответствует тому, что кобальт находится в трехвалентном состоянии. Образец является структурно двухфазным. Основная фаза описана тетрагональной пространственной группой $I4/mmm$ со сверхструктурной ячейкой $2a_p \times 2a_p \times 4a_p$ вследствие наличия чередующихся слоев CoO_6 и $\text{CoO}_{4+\gamma}$. Рефлексы, обусловленные удвоением параметра решетки вдоль оси c , сильно размыты, что свидетельствует об отсутствии строгой трансляционной симметрии вдоль оси c . Ниже температуры 400 К на передних углах рентгенограмм наблюдался сильно размытый пик, который индексируется в пространственной моноклинной группе $A2/m$ ($2\sqrt{2}a_p \times 2\sqrt{2}a_p \times 4a_p$). Наличие спонтанной намагниченности с T_C значительно выше комнатной температуры связывается с моноклинной фазой, которая появляется одновременно со спонтанной намагниченностью. Магнитная структура антиферромагнетика в основном является структурой G -типа. Величина магнитных моментов Co^{3+} в слоях CoO_6 и $\text{CoO}_{4+\delta}$ равна $1,5\mu_B$ и $2\mu_B$ соответственно. Электропроводность имеет полупроводниковый характер. Магнитосопротивление при низких температурах большое, однако его величина значительно уменьшается с повышением температуры, несмотря на слабое изменение намагниченности.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Ф17Д-007).

Acknowledgements. The work has been financially supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (Grant Ф17Д-007).

Список использованных источников

1. Особенности спинового, зарядового и орбитального упорядочений в кобальтитах / Н. Б. Иванова [и др.] // УФН. – 2009. – № 179. – С. 837–960.
2. Structural and Magnetic Studies of Ordered Oxygen-Deficient Perovskites $\text{LnBaCo}_2\text{O}_{5+\delta}$, Closely Related to the “112” Structure / A. Maignan [et al.] // J. Solid State Chem. – 1999. – Vol. 142. – P. 247–260. <https://doi.org/10.1006/jssc.1998.7934>
3. Ferromagnetic order in epitaxially strained LaCoO_3 thin films / D. Fuchs [et al.] // Phys. Rev. B. – 2007. – Vol. 75, N 14. – P. 144402-1–144402-5. <https://doi.org/10.1103/physrevb.75.144402>
4. Synthesis of cubic SrCoO_3 single crystal and its anisotropic magnetic and transport properties / Y. Long [et al.] // J. Phys.: Condens. Matter. – 2011. – Vol. 23, N 24. – P. 245601-1–245601-6. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/23/24/245601>
5. Crystallographic and magnetic structure of $\text{SrCoO}_{2,5}$ brownmillerite: Neutron study coupled with band-structure calculations / A. Muñoz [et al.] // Phys. Rev. B. – 2008. – Vol. 78, N 5. – P. 054404-1–054404-8. <https://doi.org/10.1103/physrevb.78.054404>
6. Oxygen vacancy ordering and magnetism in the rare earth stabilised perovskite form of “ $\text{SrCoO}_{3-\delta}$ ” / M. James [et al.] // Solid State Sciences. – 2004. – Vol. 6, N 7. – P. 655–662. <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2003.03.001>
7. Магнитные превращения в системе $\text{Sr}_{0,78}\text{Y}_{0,22}\text{Co}_{1-x}\text{Fe}_x\text{O}_{3-\gamma}$ со структурой типа перовскита / И. О. Троянчук [и др.] // ЖЭТФ. – 2009. – Т. 135, № 3. – С. 490–497.
8. Structure-property relationship in the ordered-perovskite-related oxide $\text{Sr}_{3,12}\text{Er}_{0,88}\text{Co}_4\text{O}_{10,5}$ / S. Ishiwata [et al.] // Phys. Rev. B. – 2007. – Vol. 75, N 22. – P. 220406-1–220406-4. <https://doi.org/10.1103/physrevb.75.220406>
9. Магнитный фазовый переход I рода в слоистых кобальтитах $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10,5+\delta}$ / И. О. Троянчук [и др.] // Письма в ЖЭТФ. – 2011. – Т. 94, № 12. – С. 930–933.
10. Phase Transitions in the $\text{Gd}_{0,5}\text{Ba}_{0,5}\text{CoO}_3$ Perovskite / I. O. Troyanchuk [et al.] // Phys. Rev. Lett. – 1998. – Vol. 80, N 15. – P. 3380–3383. <https://doi.org/10.1103/physrevlett.80.3380>
11. Spin State Control of the Perovskite Rh/Co Oxides / I. Terasaki [et al.] // Materials. – 2010. – Vol. 3, N 2. – P. 786–799. <https://doi.org/10.3390/ma3020786>
12. Orbital Ordering of Intermediate-Spin State of Co^{3+} in $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10,5}$ / H. Nakao [et al.] // J. Phys. Soc. Jpn. – 2011. – Vol. 80, N 2. – P. 023711-1–023711-4. <https://doi.org/10.1143/jpsj.80.023711>
13. Complex room-temperature ferrimagnetism induced by zigzag stripes of oxygen vacancies in $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10+\delta}$ / D. D. Khalyavin [et al.] // Phys. Rev. B. – 2011. – Vol. 83, N 14. – P. 140403-1–140403-4. <https://doi.org/10.1103/physrevb.83.140403>
14. Bettis, J. L. Origin of the Room-Temperature Ferromagnetism in $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10+\delta}$ ($0.5 < \delta < 1.0$): Formation of Ferromagnetic Spin Bags in the Oxygen-Rich Perovskite / J. L. Bettis, H. Xiang, M.-H. Whangbo // Chem. Mater. – 2012. – Vol. 24, N 16. – P. 3117–3119. <https://doi.org/10.1021/cm302007q>
15. Roisnel, T. WinPLOTR: A Windows Tool for Powder Diffraction Pattern Analysis / T. Roisnel, J. Rodríguez-Carvajal // Mater. Sci. Forum. – 2001. – Vol. 378–381. – P. 118–123. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/msf.378-381.118>

References

1. Ivanova N. B., Ovchinnikov S. G., Kazak N. V., Korshunov M. M., Eremin I. M. Specific features of spin, charge, and orbital ordering in cobaltites. *Physics-Uspokhi*, 2009, vol. 52, no. 8, pp. 789–810. <https://doi.org/10.3367/ufne.0179.200908b.0837>
2. Maignan A., Martin C., Pelloquin D., Nguyen N., Raveau B. Structural and Magnetic Studies of Ordered Oxygen-Deficient Perovskites $\text{LnBaCo}_2\text{O}_{5+\delta}$, Closely Related to the “112” Structure. *Journal Solid State Chemie*, 1999, vol. 142, pp. 247–260. <https://doi.org/10.1006/jssc.1998.7934>

3. Fuchs D., Pinta C., Schwarz T., Schweiss P., Nagel P., Schuppler S., Schneider R., Merz M., Roth G., Löhneysen H. Ferromagnetic order in epitaxially strained LaCoO_3 thin films. *Physical Review B*, 2007, vol. 75, no. 14, pp. 144402-1–144402-5. <https://doi.org/10.1103/physrevb.75.144402>
4. Long Y., Kaneko Y., Ishiwata Sh., Taguchi Y., Tokura Y. Synthesis of cubic SrCoO_3 single crystal and its anisotropic magnetic and transport properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2011, vol. 23, no. 24, pp. 245601-1–245601-6. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/23/24/245601>
5. Muñoz A., De la Calle C., Alonso J. A., Botta P. M., Pardo V., Baldomir D., Rivas J. Crystallographic and magnetic structure of $\text{SrCoO}_{2.5}$ brownmillerite: Neutron study coupled with band-structure calculations. *Physical Review B*, 2008, vol. 78, no. 5, pp. 054404-1–054404-8. <https://doi.org/10.1103/physrevb.78.054404>
6. James M., Cassidy D., Wilson K. F., Horvat J., Withers R. L. Oxygen vacancy ordering and magnetism in the rare earth stabilised perovskite form of “ $\text{SrCoO}_{3-\delta}$ ”. *Solid State Sciences*, 2004, vol. 6, no. 7, pp. 655–662. <https://doi.org/10.1016/j.solid-statesciences.2003.03.001>
7. Troyanchuk I. O., Karpinsky D. V., Chobot A. N., Dobryanskiĭ V. M., Chobot G. M., Sazonov A. P. Magnetic transformations in the $\text{Sr}_{0.78}\text{Y}_{0.22}\text{Co}_{1-x}\text{Fe}_x\text{O}_{3-y}$ system with a perovskite structure. *Journal of Experimental and Theoretical Physics*, 2009, vol. 108, no. 3, pp. 428–434. <https://doi.org/10.1134/s1063776109030078>
8. Ishiwata S., Kobayashi W., Terasaki I., Kato K., Takata M. Structure-property relationship in the ordered-perovskite-related oxide $\text{Sr}_{3.12}\text{Er}_{0.88}\text{Co}_4\text{O}_{10.5}$. *Physical Review B*, 2007, vol. 75, no. 22, pp. 220406-1–220406-4. <https://doi.org/10.1103/physrevb.75.220406>
9. Troyanchuk I. O., Bushinsky M. V., Dobryanskiĭ V. M., Pushkarev N. V. First-order magnetic phase transition in layered $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10.5}$ + δ -type cobaltites. *Journal of Experimental and Theoretical Physics Letters*, 2012, vol. 94, no. 12, pp. 849–852. <https://doi.org/10.1134/s002136401124009x>
10. Troyanchuk I. O., Kasper N. V., Khalyavin D. D., Szymczak H., Szymczak R., Baran M. Phase Transitions in the $\text{Gd}_{0.5}\text{Ba}_{0.5}\text{CoO}_3$ Perovskite. *Physical Review Letters*, 1998, vol. 80, no. 15, pp. 3380–3383. <https://doi.org/10.1103/physrevlett.80.3380>
11. Terasaki I., Shibusaki S., Yoshida S., Kobayashi W. Spin State Control of the Perovskite Rh/Co Oxides. *Materials*, 2010, vol. 3, no. 2, pp. 786–799. <https://doi.org/10.3390/ma3020786>
12. Nakao H., Murata T., Bizen D., Murakami Y., Ohoyama K., Yamada K., Ishiwata S., Kobayashi W., Terasaki I. Orbital Ordering of Intermediate-Spin State of Co^{3+} in $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10.5}$. *Journal of the Physical Society of Japan*, 2011, vol. 80, no. 2, pp. 023711-1–023711-4. <https://doi.org/10.1143/jpsj.80.023711>
13. Khalyavin D. D., Chapon L. C., Suard E., Parker J. E., Thompson S. P., Yaremchenko A. A., Kharton V. V. Complex room-temperature ferrimagnetism induced by zigzag stripes of oxygen vacancies in $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10+\delta}$. *Physical Review B*, 2011, vol. 83, no. 14, pp. 140403-1–140403-4. <https://doi.org/10.1103/physrevb.83.140403>
14. Bettis J. L., Xiang H., Whangbo M.-H. Origin of the Room-Temperature Ferromagnetism in $\text{Sr}_3\text{YCo}_4\text{O}_{10+\delta}$ ($0.5 < \delta < 1.0$): Formation of Ferromagnetic Spin Bags in the Oxygen-Rich Perovskite Layers. *Chemistry of Materials*, 2012, vol. 24, no. 16, pp. 3117–3119. <https://doi.org/10.1021/cm302007q>
15. Roisnel T., Rodríguez-Carvajal J. WinPLOTR: A Windows Tool for Powder Diffraction Pattern Analysis. *Materials Science Forum*, 2001, vol. 378–381, pp. 118–123. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/msf.378-381.118>

Информация об авторах

Троянчук Игорь Олегович – член-корреспондент, д-р физ.-мат. наук, профессор, заведующий лабораторией. Научно-практический центр НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: troyan@physics.by.

Бушинский Максим Владиславович – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: bushinsky@physics.by.

Information about the authors

Troyanchuk Igor Olegovich – Corresponding Member, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Head of the Laboratory. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: troyan@physics.by.

Bushinsky Maxim Vladislavovich – Ph. D. (Physics and Mathematics), Senior researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bushinsky@physics.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

ХИМИЯ
CHEMISTRY

УДК 54-432+544.778.3+547.97+535.243.3
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-563-568>

Поступило в редакцию 11.05.2018
Received 11.05.2018

К. В. Лазнев, Ж. В. Игнатович, И. Н. Кухто, академик В. Е. Агабеков

*Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

**ПОЛИВИНИЛСПИРТОВЫЕ МАГНИТНЫЕ МИКРОСФЕРЫ, СОДЕРЖАЩИЕ
2-АМИНОПИРИМИДИН-БИС-ЭТЕН-БИС-ДИАЛКИЛФЕНИЛАМИНЫ
В КАЧЕСТВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ИНДИКАТОРОВ pH**

Аннотация. Флуоресцентные красители 4,4'-(1E,1'E)-2,2'-(2-аминопиримидин-4,6-диил) бис(этен-2,1-диил) бис(N,N-диметилфениламин) (АПМ) и 4'-(1E,1'E)-2,2'-(2-аминопиримидин-4,6-диил) бис(этен-2,1-диил) бис(N,N-диэтилфениламин) (АПЭ) были включены в состав сшитых глутаральдегидом поливинилспиртовых микросфер, содержащих магнетит. Спектры флуоресценции полученных микросфер зависят от pH среды. Разработана методика оценки pH в интервале 4–9 по соотношению яркостей зеленого и красного каналов фрагментов цифровых изображений микросфер, полученных цветной камерой микроскопа. Микросферы практически не теряют флуорохромы в процессе хранения (180 дней) и могут применяться как индикаторы локального pH среды, в частности, при исследовании фагоцитоза.

Ключевые слова: микросферы, флуоресцентные красители, pH

Для цитирования. Поливинилспиртовые магнитные микросферы, содержащие 2-аминопиримидин-бис-этен-бис-диалкилфениламины в качестве флуоресцентных индикаторов pH / К. В. Лазнев [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 563–568. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-563-568>

Konstantin V. Laznev, Zhanna V. Ignatovich, Irina N. Kukhta, Academician Vladimir E. Agabekov

Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

**POLYVINYL ALCOHOL MAGNETIC MICROSPHERES CONTAINING 2-AMINOPYRIMIDIN-BIS(ETHENE)-
BIS(DIALKYLPHENYLAMINE) COMPOUNDS AS FLUORESCENT pH INDICATORS**

Abstract. The fluorescent dyes 4,4'-(1E,1'E)-2,2'-(2-aminopyrimidin-4,6-diyl) bis(ethene-2,1-diyl) bis(N,N-dimethylphenylamine) (APM) and 4'-(1E,1'E)-2,2'-(2-aminopyrimidin-4,6-diyl) bis(ethene-2,1-diyl) bis(N,N-diethylphenylamine) (APE) were incorporated into glutaraldehyde-crosslinked polyvinyl alcohol microspheres containing magnetite. Fluorescence spectra of the obtained microspheres depend on pH of the medium. A technique for pH measurement within the range of 4–9 based on calculation of the green/red ratio of the fragments of color microimages of the microspheres was developed. Only negligible loss of the fluorochromes from the microspheres occurred during the storage time of 180 days. Thus the microspheres may be used as local pH indicators, e. g. for phagocytosis studies.

Keywords: microspheres, fluorescent dyes, pH

For citation: Laznev K. V., Ignatovich Zh. V., Kukhta I. N., Agabekov V. E. Polyvinyl alcohol magnetic microspheres containing 2-aminopyrimidin-bis(ethene)-bis(dialkylphenylamine) compounds as fluorescent pH indicators. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 563–568 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-563-568>

Микросферы и наночастицы, содержащие pH-чувствительные флуорохромы, могут применяться для локальной оценки pH. В биологии и медицине они позволяют оценивать pH в отдельных компартментах клеток, в частности, визуализировать процесс слияния лизосом с фагосомой при фагоцитозе [1; 2].

Ранее [3] нами были получены поливинилспиртовые магнитные микросферы (ММС), сшитые глутаральдегидом, особенностью которых является низкая способность к неспецифическо-

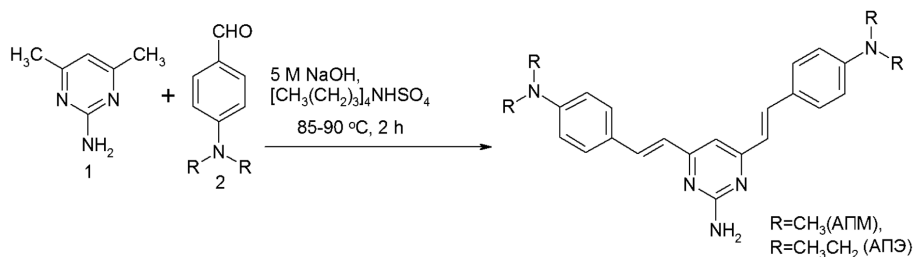


Рис. 1. Синтез 2-аминопиримидин-бис-этен-бис-диалкилфениламинов

Fig. 1. Synthesis of 2-aminopyrimidin-bis(ethene)-bis-(dialkylphenylamine)s

му связыванию с клетками, что позволяет использовать их как биологически инертный носитель антигенов и лекарств. Взаимодействие данных микросфер с клетками определяется свойствами иммобилизованных на микросферах биологических молекул [4]. Наличие магнитного материала позволяет более эффективно по сравнению с центрифугированием осаждавать микросферы и связавшие их клетки, применяя магнит.

По методике [5] синтезированы 2-аминопиримидин-бис-этен-бис-диалкилфениламины (рис. 1) АПМ и АПЭ, известные в качестве двухфотонных флуорохромов. Поскольку спектры флуоресценции этих веществ существенно зависят от pH, было предположено, что АПМ и АПЭ могут применяться в составе микросфер в качестве компонентов, обеспечивающих pH-зависимую флуоресценцию.

Цель работы – включение красителей АПМ и АПЭ в состав гелевых поливинилспиртовых ММС и установление зависимости спектров флуоресценции полученных микросфер от pH среды.

Экспериментальная часть. Общая методика синтеза 2-аминопиримидин-бис-этен-бис-диалкилфениламинов согласно [5], с изменениями. К нагретому до 50 °С и перемешиваемому 5 М раствору NaOH добавили 0,25 г (2 ммоль, 1 экв) 2-амино-4,6-диметилпиримидина, затем 4 ммоль, 2 экв N-диалкиламинобензальдегида и 0,5 ммоль катализатора межфазного переноса – тетрабутиламмония гидросульфата. Реакционную смесь перемешивали при 90–95 °С в течение 2 ч (рис. 1). Отфильтровали твердый осадок продукта реакции (АПМ или АПЭ), который промыли водой 3 × 30 мл и перекристаллизовывали из смеси хлороформ–диэтиловый эфир. Наблюдение за ходом реакции и оценку индивидуальности продуктов проводили методом хроматографирования в тонком слое на пластинках фирмы Merck «DC-Plastictblen Kieselgel 60 F₂₅₄» в системе бутанол : этанол : NH₄OH, 8 : 1 : 1 и хлороформ : метанол, 95 : 5. Элементный анализ выполняли на приборе VARIO Micro Cube CHNS-анализатор. Температуры плавления соединений определяли на блоке Кофлера. ИК спектры получали на фурье-спектрометре Bruker Tensor 27 (в таблетках KBr) в области 400–4000 см⁻¹. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C записаны на спектрометре Bruker Avance-500 в CDCl₃, DMSO-d₆, внутренний стандарт – TMC, рабочая частота 500 МГц для ¹H и 125 МГц для ¹³C. Константы спин-спинового взаимодействия приведены в герцах (Гц), значения химических сдвигов приведены в миллионных долях (м. д.) по шкале δ от TMC (0 м. д.), DMSO (2,50 м. д.) в ЯМР ¹H и от CDCl₃ (77,0 м. д.), DMSO (39,43 м. д.) – в спектрах ЯМР ¹³C. Хроматографический анализ и запись масс-спектров соединений производились на комплексе высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) Accela с масс-детектором LCQ-Fleet (трехмерная ионная ловушка) в режиме химической ионизации при атмосферном давлении (APCI), детектирование положительных и отрицательных ионов, CID 35 %. Условия ВЭЖХ: колонка HYPERSIF Gold (50 мм × 2,1 мм × 1,9 мкм), подвижная фаза – 95 % MeCN (100 мкл/мин), объем инъектируемой пробы 30 нг.

Прогнозирование влияния протонной таутометрии на спектры поглощения АПМ и АПЭ проводили с использованием пакета квантово-химических программ Gaussian 03 [6]. Проведена полная оптимизация геометрии свободной молекулы, а также ее протонированной формы с противоионом OH в основном состоянии в рамках теории функционала плотности (DFT), функционал B3LYP, базисный набор 6-31G. Для оптимизированных структур методом TD DFT рассчитаны спектры поглощения.

Поливинилспиртовые ММС получали по описанной ранее методике [3], с модификациями. Получали наночастицы магнетита: смешивали 180 мкл раствора FeSO_4 0,36М подкисленного и 320 мкл раствора FeCl_3 0,37М; добавляли полученный раствор в пробирку с 200 мкл 25 % раствора NH_3 на вортексе; инкубировали 15 мин при 60 °С; осаждали магнитом, трижды отмывали 2 мл дистиллированной воды и окончательно осаждали. Получали магнитную жидкость, содержащую поливиниловый спирт (ПВС): к 10 мкл влажного осадка магнетита добавляли 50 мкл ледяной уксусной кислоты, 200 мкл дистиллированной воды и 250 мкл р-ра ПВС (ГОСТ 10779–78, марка 11/2) 10 %_{м/об} в дистиллированной воде, обрабатывали ультразвуком (УЗ) 22 кГц 100 Вт до кипения. Полученную магнитную жидкость в объеме 200 мкл вносили в 2400 мкл раствора Tween 85 1,5 %_м и Span 85 2,8 %_м в изооктане (ИО/ПАВ) и эмульгировали, пипетируя 5 мин на водяной бане при 60 °С. Для пипетирования использовали дозатор 150 мкл с наконечником 200 мкл, укороченным до выходного сечения $\approx 1 \text{ мм}^2$, приводимый с частотой $\approx 6 \text{ Гц}$ электромешалкой с зажатым в патрон эксцентриком. По окончании эмульгирования суспензию отстаивали 5 мин и удаляли надосажок. К осадку добавляли эмульсию сшивающего агента: 100 мкл раствора CaCl_2 1М и ГА 25 %_{об} в дистиллированной воде, внесенные в 2400 мкл ИО/ПАВ и обработанные УЗ 22 кГц 100 Вт до прозрачного состояния. Пипетировали $\approx 2 \text{ Гц}$ 1 ч при 65 °С. Полученные ММС осаждали магнитом, инкубировали в 5 %_{об} растворе ГА в этаноле 2 мин при 60 °С, трижды отмывали дистиллированной водой, ресуспендировали в водном растворе уксусной кислоты 10 %_{об} и ПВС 1 %_{м/об}, обрабатывали УЗ 22 кГц 100 Вт 30 с, пипетировали $\approx 2 \text{ Гц}$ 1 ч при 65 °С, дважды отмывали дистиллированной водой и один раз – буфером NaCl 0,5М, NaP_i 0,2М при pH 9. Финальной стадией синтеза ММС была обработка боргидридом натрия для конверсии непрореагировавших альдегидных групп в спиртовые, а оснований Шиффа (продуктов сшивки) – во вторичные амины. Проводили 2 цикла обработки NaBH_4 10 мг/мл в буфере NaCl 0,5М, NaP_i 0,2М, pH 9, 20 мин при 60 °С, в конце первого цикла – обработка УЗ 22 кГц 50 Вт в течение 15 с. Восстановленные боргидридом ММС трижды отмывали фосфатно-солевым буфером pH 7,4 (ФСБ, Sigma кат. № P4417) и ресуспендировали в ФСБ.

Включение АПМ и АПЭ в состав микросфер проводили двумя методами: добавляя 50 мкл насыщенного раствора красителя в этаноле в 200 мкл магнитной жидкости перед эмульгированием и сшивкой либо используя для приготовления масляной фазы эмульсии изооктан, предварительно насыщенный красителем.

Флуоресценцию микросфер исследовали в камере Горяева на оптическом микроскопе Планар Микро МБ с каналом возбуждения флуоресценции на основе ртутной лампы сверхвысокого давления Osram HBO 100W/2, оснащенной цветной цифровой камерой и микроспектрометром Ocean Optics STS-VIS. Для анализа изображений использовали программное обеспечение ImageJ [7]. Статистическую обработку данных проводили в Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. Синтез АПМ: Выход 62 %, кристаллы желтого цвета, т. пл. 204–206 °С. ИК спектр (ν , см^{-1} , KBr): 3315, 2891, 1602 ($\text{CH}=\text{CH}$), 1560, 1509, 1441, 1385, 1185. Спектр ^1H -ЯМР, CDCl_3 , δ (м. д.): 7,68 д 2H ($J = 5,9 \text{ Гц}$), 7,47 д 4H ($J = 8,8 \text{ Гц}$), 6,75 д 2H ($J = 5,9 \text{ Гц}$), 6,70 д 4H ($J = 8,8 \text{ Гц}$), 6,68 с1H, 4,93 шс 2H (NH_2), 3,01 с 12H (4Me). Спектр ЯМР ^{13}C , CDCl_3 , δ , м. д.: 190,328, 167,775, 162,609, 154,271, 150,275, 131,948, 128,672, 128,584, 125,058, 112,541, 110,919, 40,041. Масс-спектр, m/z : $[\text{M}]^+$ 385,2. Найдено, %: С 74,76, Н 7,08, N 18,17. $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_5$. Вычислено, %: С 74,77, Н 7,06, N 18,17.

Синтез АПЭ: Выход 50 %, кристаллы желтого цвета, т. пл. 206–208 °С. ИК спектр (ν , см^{-1} , KBr): 3310, 3170, 1558, 1516, 1449, 1400, 1353, 1264, 1184. Спектр ^1H -ЯМР, CDCl_3 , δ (м. д.): 7,57 д 2H ($J = 5,8 \text{ Гц}$), 7,51 д 4H ($J = 8,8 \text{ Гц}$), 6,65 д 2H ($J = 5,8 \text{ Гц}$), 6,77 д 4H ($J = 8,8 \text{ Гц}$), 6,68 с1H, 4,90 шс 2H (NH_2), 3,4 к 8H (4CH_2 , $J = 6,8 \text{ Гц}$), 1,3 т 12H (4Me, $J = 6,8 \text{ Гц}$). Спектр ЯМР ^{13}C , CDCl_3 , δ , м. д.: 189,234, 167,766, 162,606, 153,212, 150,275, 131,948, 128,672, 128,584, 125,058, 112,541, 110,919, 47,089, 12,7. Масс-спектр, m/z : $[\text{M}]^+$ 441,2. Найдено, %: С 76,15, Н 7,98, N 15,87. $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_5$. Вычислено, %: С 76,16, Н 7,99, N 15,86.

Строение синтезированных соединений установлено по совокупности данных элементного анализа, спектров ЯМР ^1H и ^{13}C , ИК спектров. Наличием пика молекулярного иона $[\text{M}]^+$ ($I_{\text{отн}}$ 2–56 %) в масс-спектрах подтвержден брутто-состав продуктов. В ИК спектрах АПМ и АПЭ присут-

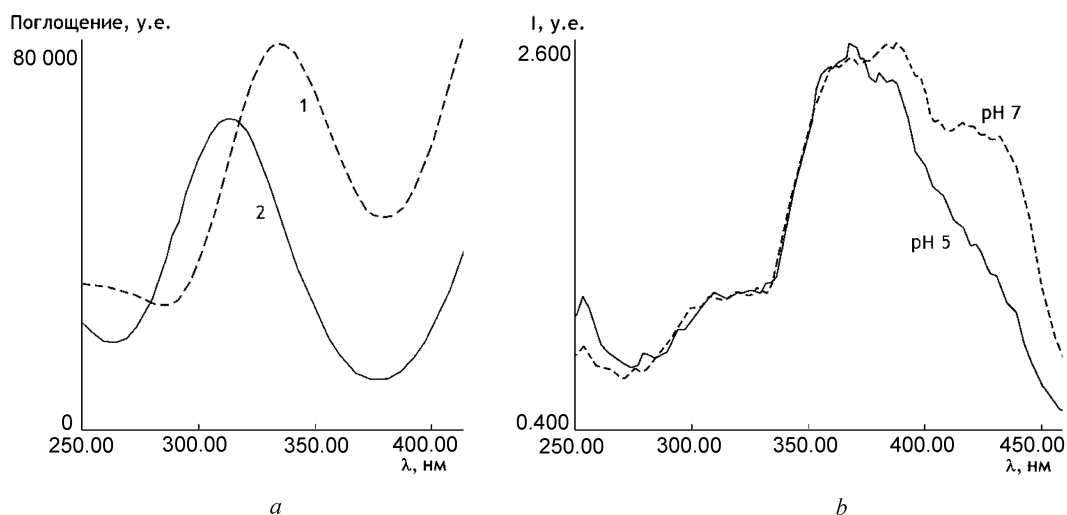


Рис. 2. Расчетные спектры поглощения (а) и реальные спектры возбуждения, нормированные по оси Y (b) АПЭ: 1 – нейтральная молекула, 2 – протонированная форма

Fig. 2. Calculated absorbance spectra (a) and real excitation spectra aligned by OY (b) of APE: 1 – neutral molecule, 2 – protonated

ствуют полосы валентных колебаний групп NH_2 в области $3310\text{--}3315\text{ см}^{-1}$, --HC=CH-- связи в области 1602 см^{-1} и полосы деформационных колебаний группы NH_2 при $1560\text{--}1558\text{ см}^{-1}$. В спектрах ЯМР ^1H сигналы атомов водорода пиримидинового и фенильных циклов расположены в области сигналов ароматических протонов (6,0–9,9 м. д. δ), метальных и метиленовых групп N,N -диметилфенил- и N,N -диэтилфенильных фрагментов – при 3,01–4,5 м. д. δ . В спектрах ЯМР ^{13}C сигналы атомов углерода пиримидинового и фенильных циклов расположены в области 110,9–190,3, метиленовых фрагментов АПЭ в области 47 м. д. и дифференцируются дерт-спектром. В области 41,0 м. д. находятся сигналы атомов C метильных C метиленовых заместителей.

Расчет спектров поглощения позволил ожидать наличие одного из максимумов вблизи 350 нм (область, важная при использовании ртутной лампы в качестве источника света) и его сдвиг в коротковолновую область при протонировании молекулы. Спектры возбуждения полученных красителей в области 250–400 нм приблизительно соответствовали ожидаемым (рис. 2).

Микросферы: полученные ММС имели средний размер 3–5 мкм, коэффициент полидисперсности $\approx 0,1$ (рис. 2, a). Количество флуорохрома, включенного в микросферы, оцениваемое по относительной яркости флуоресценции, в случае применения насыщенной флуорохромом масляной фазы эмульсии было в 4,6–5,3 раза больше, чем в случае введения в водную фазу (таблица). Это свидетельствует о перераспределении красителей между фазами в ходе синтеза.

Соотношение яркостей микросфер и фона на микрофотографиях

Microspheres/background brightness ratios on microimages

Способ включения красителя в ММС Way of incorporation of a dye into the magnetic microspheres	Краситель Dye	
	АПМ APM	АПЭ APE
Через масляную фазу Via oil phase	10,5	8,37
Через водную фазу Via water phase	2,26	1,57

Спектры флуоресценции микросфер зависят от pH среды (рис. 3, b, c). Изменение цвета происходит равномерно по всему объему микросферы (рис. 3, a), что свидетельствует о проницаемости ММС для протонов. В то же время ММС практически не теряют флуорохромы в процессе

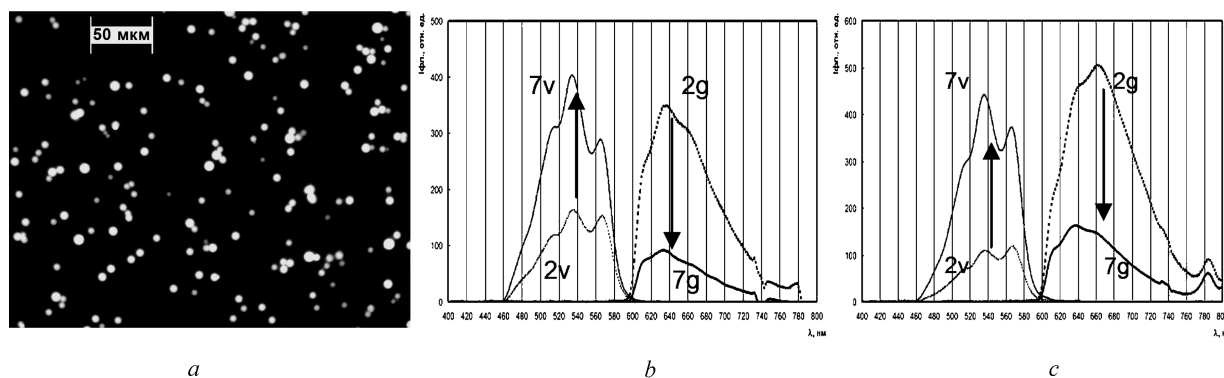


Рис. 3. Изображение (a) и спектры флуоресценции микросфер (b, c – содержащих АПМ и АПЭ соответственно): 2, 7 – значения pH; v, g – возбуждение фиолетовым и зеленым светом соответственно

Fig. 3. Image (a) and fluorescence spectra of microspheres (b, c – APM and APE-containing, respectively): 2, 7 – pH values; v, g – excitation by violet and green light, respectively

хранения (180 суток), что свидетельствует в пользу того, что флуорохромы связаны с материалом микросфер ковалентно: вероятно, через аминогруппу остатка 2-аминопиримидина.

Была разработана методика для оценки локального pH в интервале 4–9 по калибровочным кривым соотношений яркостей зеленого и красного каналов (I_G / I_R) цифровых изображений микросфер, полученных цветной камерой микроскопа. Кривые для АПМ и АПЭ практически совпадают (рис. 4).

В значимом для исследований физиологии клетки интервале pH 4–7 соотношение G/R изменяется в 1,4 раза. Для коммерческого зонда LysoSensor™ Yellow/Blue dextran (LysoSensor YBD) известно, что в том же интервале pH соотношение яркостей флуоресценции в синей и зеленой областях изменяется в 1,9 раз [8]. Таким образом, методика определения локального pH с помощью ММС, содержащих АПМ и АПЭ, сопоставима по чувствительности с методикой, в которой используется LysoSensor YBD. При этом в интервале pH 6–7 методика с применением АПМ или АПЭ чувствительнее, чем методика с применением LysoSensor YBD: изменение соотношений соответственно на 5 и 0,01 % [8].

Заключение. Микросферы, модифицированные АПМ или АПЭ, могут применяться как индикаторы локального pH среды, в частности, при исследованиях методом оптической микроскопии. Представляет интерес создание наборов для оценки фагоцитарной активности лейкоцитов на основе данных микросфер путем иммобилизации на их поверхности соответствующих антигенов-мишеней.

Список использованных источников

1. pH sensing in living cells using fluorescent microspheres / M. Bradley [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2008. – Vol. 18, N 1. – P. 313–317. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.10.075>
2. Vergne, I. Phagosomal pH determination by dual fluorescence flow cytometry / I. Vergne, P. Constant, G. Lanéelle // Anal. Biochem. – 1998. – Vol. 255, N 1. – P. 127–132.
3. Лазнев, К. В. Связывание гелевых магнитных микросфер с мононуклеарными клетками крови / К. В. Лазнев, В. Е. Агабеков // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 2. – С. 67–72.
4. Гидрогелевые магнитные микросферы: применение для иммуномагнитной сепарации клеток / Е. М. Ермоленко [и др.] // БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики. – Минск, 2012. – Вып. 2. – С. 89–93.

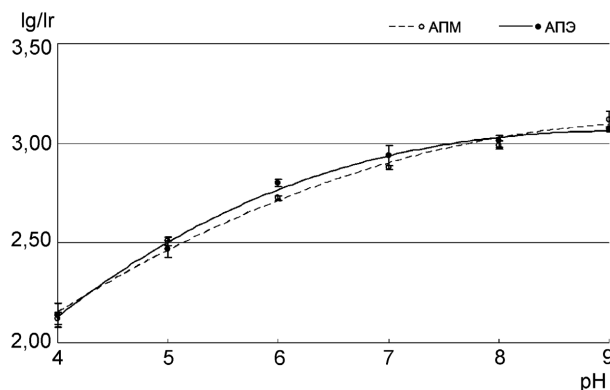


Рис. 4. Калибровочные кривые для оценки pH среды в интервале 4–9 по соотношению G- и R-составляющих изображений АПМ- и АПЭ-содержащих микросфер
Fig. 4. Calibration curves for measurement of pH (4–9) by G/R ratio of the microimages of APM- and APE-containing microspheres

5. Synthesis and photophysical properties of novel pyrimidine-based two-photon absorption chromophores / Bo Liu [et al.] // *Tetrahedron Letters*. – 2007. – Vol. 48, N 34. – P. 5958–5962. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.06.122>
6. Gaussian 03, Revision D 01 / ed. M. J. Frisch. – Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
7. ImageJ: Image processing and analysis in Java [Electronic resource]. – 2018. – Mode of access: <https://imagej.nih.gov/ij>. – Date of access: 10.05.2018.
8. Development of dextran nanoparticles for stabilizing delicate proteins / Fei Wu [et al.] // *Nanoscale Res. Lett.* – 2013. – Vol. 8, N 1. – P. 197–204. <https://doi.org/10.1186/1556-276x-8-197>

References

1. Bradley M., Alexander L., Duncan K., Chennaoui M., Jones A.C., Sánchez-Martín R. M. pH sensing in living cells using fluorescent microspheres. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008, vol. 18, no. 1, pp. 313–317. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.10.075>
2. Vergne I., Constant P., Lanéelle G. Phagosomal pH determination by dual fluorescence flow cytometry. *Analytical Biochemistry*, 1998, vol. 255, no. 1, pp. 127–132. <https://doi.org/10.1006/abio.1997.2466>
3. Laznev K. V., Agabekov V. E. Binding of magnetic gel microspheres to blood mononuclear cells. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 2, pp. 67–72 (in Russian).
4. Yermolenko E. M., Ibragimova Z. A., Khodosovskaya E. V., Semerikhina S. E., Kolesnikova T. S., Laznev K. V., Zhavnerko G. K., Kashevskiy B. E., Agabekov V. E. Hydrogel magnetic microspheres: usage for immunomagnetic cell separation. *BGMU: 90 let v avangarde medicinskoj nauki i praktiki [BSMU: 90 years in the forefront of medical science and practice]*. Minsk, 2012, iss. 2, pp. 89–93 (in Russian).
5. Bo Liu, Xue-Lei Hu, Jun Liu, Yuan-Di Zhao, Zhen-Li Huang. Synthesis and photophysical properties of novel pyrimidine-based two-photon absorption chromophores. *Tetrahedron Letters*, 2007, vol. 48, no. 34, pp. 5958–5962. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.06.122>
6. Frisch M. J., ed. *Gaussian 03, Revision D 01*. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
7. ImageJ: Image processing and analysis in Java (2018). Available at: <https://imagej.nih.gov/ij> (accessed 10 May 2018).
8. Fei Wu, Zhihua Zhou, Jing Su, Liangming Wei, Weien Yuan, Tuo Jin. Development of dextran nanoparticles for stabilizing delicate proteins. *Nanoscale Research Letters*, 2013, vol. 8, no. 1, pp. 197–204. <https://doi.org/10.1186/1556-276x-8-197>

Информация об авторах

Лазнев Константин Владимирович – науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kvlaznev@mail.ru.

Игнатович Жанна Владимировна – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ignatovichz@inbox.ru.

Кухто Ирина Николаевна – мл. науч. сотрудник. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ichnm@ichnm.basnet.by.

Агабеков Владимир Енокович – академик НАН Беларуси, д-р хим. наук, профессор, директор. Институт химии новых материалов НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ichnm@ichnm.basnet.by.

Information about the authors

Laznev Konstantin Vladimirovich – Researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kvlaznev@mail.ru.

Ignatovich Zhanna Vladimirovna – Ph. D. (Chemistry), Leading researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ignatovichz@inbox.ru.

Kukhta Irina Nikolaevna – Junior researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ichnm@ichnm.basnet.by.

Agabekov Vladimir Yenokovich – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor, Director. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skorina Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ichnm@ichnm.basnet.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 544.164:661.72
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-569-575>

Поступило в редакцию 30.05.2018
Received 30.05.2018

Член-корреспондент А. И. Кулак, Д. А. Кулёмин

*Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

ФОРМИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ ДВОЙНЫХ СВЯЗЕЙ В ПРОЦЕССЕ ТЕРМОКАТАЛИТИЧЕСКОЙ ДЕГИДРАТАЦИИ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА

Аннотация. На основании электронных спектров поглощения изучено формирование системы сопряженных связей при термообработке пленок поливинилового спирта в интервале 80–150 °С с добавкой хлористоводородной кислоты в качестве кислотного катализатора термической дегидратации. Установлено, что тонкая структура в спектрах поглощения в области 282–443 нм связана с электронными переходами в цепях полисопряжения с количеством атомов углерода от 8 до 18, за исключением полос при 310 и 342 нм и трех линий в составе широкой полосы при 352–380 нм, содержащее также пик при 361 нм, обусловленный переходами в цепи полисопряжения из 12 атомов углерода. Показано, что длинноволновая граница спектра обусловлена электронными переходами в цепях полисопряжения наибольших размеров; максимальный размер таких цепей можно определить из сопоставления зависимости ширины запрещенной зоны Тауца и энергии оптических переходов как обратной функции количества атомов углерода в цепи сопряжения. Поскольку типичные размеры таких цепей полисопряжения составляют сотни атомов углерода (около 300 атомов в пленках, прогретых при 100 °С), их можно рассматривать как нанокластеры транс-полиацетилена, инкорпорированные в матрицу поливинилового спирта.

Ключевые слова: поливиниловый спирт, термодеструкция, электронный спектр, ширина запрещенной зоны, полиеновая цепь, транс-полиацетилен

Для цитирования. Кулак, А. И. Формирование системы двойных связей в процессе термокаталитической дегидратации поливинилового спирта / А. И. Кулак, Д. А. Кулёмин // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 569–575. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-569-575>

Corresponding Member Anatoly I. Kulak, Dzianis A. Kuliomin

Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

DOUBLE BOND SYSTEM FORMATION IN THE PROCESS OF THERMOCATALYTIC DEHYDRATION OF POLYVINYL ALCOHOL

Abstract. The formation of a conjugated bond system in the heat treatment of polyvinyl alcohol films with the addition of hydrochloric acid as an acid catalyst for thermal dehydration in the range of 80–150 °С has been studied on the base of electronic spectra. It is established that the fine structure in the absorption spectra in the 282–443 nm region is associated with electronic transitions in polyconjugated chains with the number of carbon atoms from 8 to 18, with the exception of the bands at 310 and 342 nm; only one peak at 361 nm of four lines in the wide band at 352–380 nm is associated with optical transitions in the polyconjugated chain containing 12 carbon atoms. It is shown that the long-wave boundary of the spectrum is due to electronic transitions in polyconjugated chains of the largest sizes; the maximum size of such chains can be determined by comparing the dependence of the Tauc band gap and the energy of the optical transitions as an inverse function of the number of carbon atoms in the conjugate chain. Since the typical sizes of such poly-conjugation chains are hundreds of carbon atoms (about 300 atoms in films heated at 100 °С), these chains can be considered as trans-polyacetylene nanoclusters incorporated into a polyvinyl alcohol matrix.

Keywords: polyvinyl alcohol, thermal destruction, electronic spectra, band gap energy, polyene chains, organic semiconductors, trans-polyacetylene

For citation: Kulak A. I., Kuliomin D. A. Double bond system formation in the process of thermocatalytic dehydration of polyvinyl alcohol. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 569–575 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-569-575>

Введение. Изучение начальных стадий термической деструкции полимеров представляет значительный интерес для прогнозирования факторов их долговременной устойчивости и дегградации в процессах переработки, хранения и эксплуатации полимерных изделий. Процесс

термодеструкции карбоцепных полимеров, таких как поливинилхлорид [1–3], поливинилацетат [2–4], поливиниловый спирт (ПВС) [5–9], как правило, начинается с образования двойных углерод-углеродных связей при относительно невысоких температурах (100–270 °С). В частности, в макромолекулах ПВС в результате термической дегидратации формируются участки полисопряжения в виде олигоеновых и полиеновых фрагментов [7], распространяющиеся по объему полимера вплоть до практически полной его трансформации в структуру транс-полиацетилена [4; 8; 9].

Ранее нами была показана возможность количественной параметризации запрещенной зоны в системе полисопряжения на ранних стадиях термодеструкции ПВС по длинноволновому краю оптического поглощения и по положению спектральных линий, связанных с оптическими переходами во фрагментах полисопряжения [5; 7]. В развитие данного подхода целью настоящей работы явилась разработка метода отнесения полос тонкой структуры электронного спектра к гомологическому ряду фрагментов полисопряжения, формирующих энергетическую зонную структуру ансамбля этих фрагментов в матрице поливинилового спирта. Кроме того, с использованием данной методологии, путем сопоставления энергии запрещенной зоны ансамбля фрагментов полисопряжения с энергией возбуждения каждого из фрагментов полисопряжения показана возможность оценки максимально достигаемых размеров этих фрагментов в процессе частичной термической деструкции поливинилового спирта. Для снижения температуры и активизации процесса дегидратации ПВС этот процесс проводили в термокаталитическом режиме путем введения в пленку ПВС добавок хлористоводородной кислоты.

Материалы и методы исследования. Пленки ПВС толщиной 20 ± 3 мкм получали поливом из 2 %-ного водного раствора ПВС с содержанием ацетатных групп 5–6 % с последующим отделением пленки от стеклянной подложки. Хлористоводородную кислоту вводили в раствор ПВС при мольном соотношении $\text{HCl} : [-\text{CH}(\text{OH})-]$, равном 1 : 1, 1 : 2 и 1 : 5. Термообработку пленок проводили на воздухе при 80, 100, 120 и 150 °С в воздушном термостате в течение 2 ч. Оптические спектры пропускания пленок получали на спектрофотометре Agilent 8453 (Agilent Technologies, USA); значения толщины пленок, необходимые для расчета коэффициентов оптического поглощения, определяли с помощью микрометра и по положению интерференционных полос в области 750–850 нм.

Результаты и их обсуждение. Электронные спектры поглощения пленок ПВС, обработанных HCl , затем прогретых при 80–120 °С (рис. 1), можно представить в виде двух составляющих – широкой огибающей, которую можно аппроксимировать функцией Гаусса в области 200–750 нм, правая ветвь которой характеризует длинноволновый край поглощения, и набора узких полос поглощения в области 200–440 нм, связанных с электронными $\pi \rightarrow \pi^*$ переходами в цепях полисопряжения [5; 6]. Сложная структура этих полос обусловлена рядом факторов, в том числе образованием карбонильных, карбоксильных и сложноэфирных групп в полиеновых фрагментах [10]. Оптическое поглощение возрастает как при повышении температуры прогрева (рис. 1), так и при увеличении количества вводимой HCl . Однако в отличие от температурных зависимостей коэффициента поглощения концентрационные зависимости являются плохо воспроизводимыми ввиду трудно контролируемой потери HCl в процессе термообработки. В связи с этим имеет смысл принимать во внимание лишь общую тенденцию усиления поглощения с повышением содержания кислоты.

На рис. 2 приведена тонкая структура спектров поглощения, полученная предложенным ранее способом [5], состоящим в вычитании из спектра поглощения его гауссового профиля с последующим разложением полос поглощения на лоренцевы составляющие. Важно, что спектральное положение полос поглощения остается весьма близким – различается не более чем на 2–4 нм, для образцов как с варьируемым содержанием HCl , так и прогретых при различной температуре, при том, что имеет место существенное изменение абсолютных значений коэффициента поглощения. На основании этого факта можно заключить, что в процессе термокаталитической дегидратации химический состав и структура образующихся полиеновых фрагментов остается практически неизменной при существенном изменении их объемной концентрации.

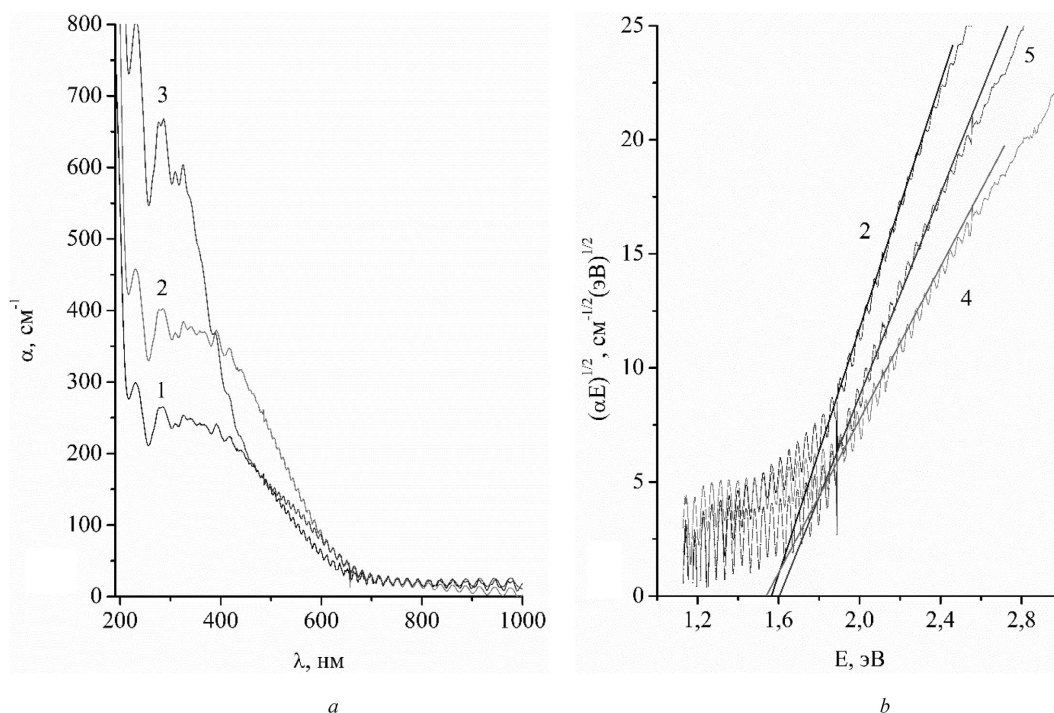


Рис. 1. Типичные электронные спектры поглощения пленок ПВС (а) и зависимости Тауца (б) для пленок ПВС, содержащих HCl в соотношении 1 : 1 (1–3), 1 : 2 (4), 1 : 5 (5) и прогретых при 80° (1), 100° (2, 4), 120° (3), 150° (5)

Fig. 1. Typical electron absorption spectra of PVA films (a) and Tauc plots (b) of PVA films containing HCl in the ratio of 1 : 1 (1–3), 1 : 2 (4), 1 : 5 (5) and heated at 80° (1), 100° (2, 4), 120° (3), 150° (5)

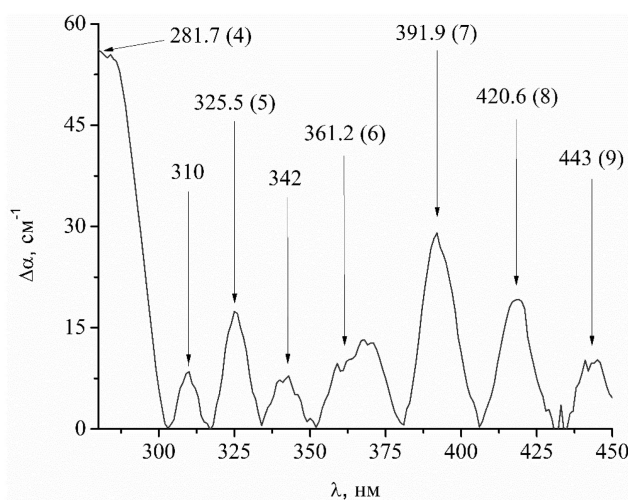


Рис. 2. Полосы поглощения, полученные вычитанием гауссового профиля из спектров поглощения пленок ПВС, содержащих HCl в соотношении 1 : 1, прогретых при температуре 100 °С. Вертикальные линии – рассчитанные по уравнению (1) полосы поглощения цепей полисопряжения: цифры в скобках означают количество двойных связей m в каждой из цепей полисопряжения

Fig. 2. Absorption bands obtained by subtracting a Gaussian profile from the absorption spectra of PVA films containing HCl in the ratio of 1 : 1, heated at 100 °C. Vertical lines are the absorption bands of poly conjugated chains calculated from equation (1): numbers in brackets indicate the number of double bonds m in each polyconjugated chains

Наличие характерных полос поглощения фотонами фрагментами полисопряжения с определенным количеством двойных связей m позволяет определить асимптотическое значение энергии запрещенной зоны E_{gm} «бесконечной» области полисопряжения – в приближении полного заполнения объема полимера системой поликонъюгированных связей. Для этого можно использовать известную зависимость [7–9] энергии запрещенной зоны от числа узлов полисопряжения m :

$$E(m) = \frac{a}{2m} + E_{gm}, \quad (1)$$

где $E(m)$ – энергия $\pi \rightarrow \pi^*$ переходов в цепях полисопряжения; a – параметр, характеризующий дисперсию энергетических зон, участвующих в оптическом НОМО-LUMO переходе.

Как видно из рис. 3, $E(m)$, $1/m$ -зависимости, построенные на основании экспериментально определенных значений максимумов в электронных спектрах (рис. 2), для пленок ПВС, прогретых при температуре 100 °С и при варьируемом содержании HCl, являются линейными в диапазоне значений m от 4 до 9 (от 8 до 18 атомов углерода в цепи полисопряжения). Аналогичные линейные зависимости (коэффициент детерминации R^2 0,988–0,997) получены для пленок, прогретых при 80 и 120 °С; для пленок с высоким содержанием HCl (1 : 1), прогретых при 150 °С, такие зависимости построить не удалось ввиду чрезмерно высоких коэффициентов поглощения в области поглощения цепями полисопряжения. Характерно, что при столь существенных различиях в режимах формирования цепей полисопряжения, экспериментальные точки, соответствующие энергиям $\pi \rightarrow \pi^*$ переходов, практически совпадают для каждой из цепей с заданным числом двойных связей. Соответственно линии экстраполяции в координатах $E(m)$, $1/m$ на бесконечно большое количество двойных связей в цепи полисопряжения ($1/m \rightarrow 0$) практически полностью накладываются друг на друга и дают значение $E_{gm} = 1,51$ – $1,67$ эВ. Полученная таким способом величина E_{gm} оказывается промежуточной между значением 1,45 эВ, соответствующим энергии НОМО-LUMO перехода в «бесконечной» полиеновой цепи, определенной методом эффективного Гамильтониана валентных электронов [8] и величиной $E_g = 1,70$ эВ, рассчитанной с использованием ВЗЛР/РМЗ метода [7]. Следует отметить, что нижняя граница полученного нами значения близка к энергии запрещенной зоны 1,50 эВ в транс-полиацетиле $\text{trans}-(\text{CH})_x$ с хаотически расположенными не взаимодействующими между собой цепями полисопряжения [11; 12].

Высокий уровень воспроизводимости $E(m)$, $1/m$ -зависимостей при варьировании концентрации HCl и температуры прогрева позволяет решить обратную задачу – уточнить положение спектральных максимумов, связанных с поглощением цепями полисопряжения. Эта процедура, в первую очередь, представляет интерес в случае широких пиков поглощения, расщепляющихся на несколько более острых линий, что имеет место, в частности, для цепей полисопряжения с 12 и 18 атомами углерода ($m = 6$ и 9 на рис. 2).

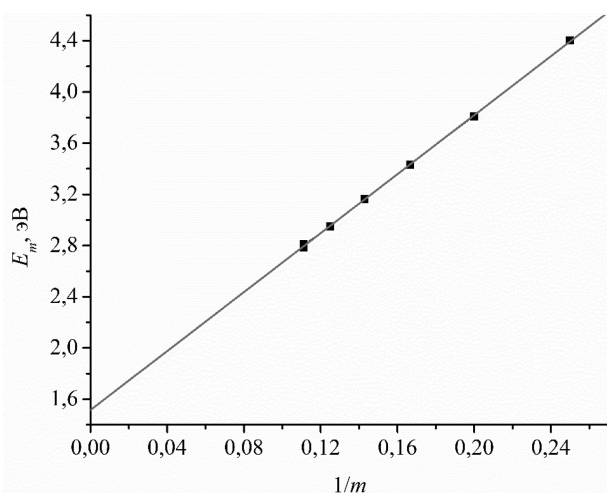


Рис. 3. Определение энергии запрещенной зоны E_{gm} системы полисопряжения экстраполяцией зависимости энергии от количества двойных связей в цепи полисопряжения для пленок ПВС : HCl, прогретых при 100 °С

Fig. 3. Determination of the band gap energy E_{gm} of the polyconjugated system by extrapolating the energy dependence on the number of double bonds in the polyconjugated chain of PVA : HCl films heated at 100 °С

С использованием данного подхода можно заключить, что из набора широкой полосы поглощения в области 352–380 нм, распадающейся на четыре лоренцевые линии, лишь линия при 361 нм обусловлена оптическими переходами в цепи полисопряжения с $m = 6$. Кроме того, оказалось, что выраженная полоса при 310 нм вообще не попадает на линию экстраполяции $E(m)$, $1/m$ -зависимости и поэтому не может быть идентифицирована как поглощение цепью полисопряжения, аналогичной ответственным за поглощение при других значениях m . Установление природы поглощения в этой полосе и в лоренцевых линиях, входящих в состав широких полос, не является предметом нашего исследования. Предположительно можно приписать их либо изомерным, например, разветвленным фрагментам цепей полисопряжения, либо фрагментам, функционализированным карбоксильными, карбонильными, сложноэфирными группами.

Принимая во внимание наличие выраженной разупорядоченности в ансамбле фрагментов полисопряжения, в приближении гауссового распределения этих фрагментов по размерам, для определения наиболее вероятной энергии $\pi \rightarrow \pi^*$ переходов ($E_{\pi\pi^*}$) можно использовать аппроксимацию энергетических зон гауссовыми функциями. В этом случае спектральная зависимость коэффициента оптического поглощения $\alpha(\hbar\omega)$ для $\pi \rightarrow \pi^*$ переходов имеет вид [12]

$$\alpha(\hbar\omega) = K \sqrt{\pi} \sigma_{\pi} N_{0\pi}^2 \exp \left[- \left(\frac{2E_{\pi\pi^*} - \hbar\omega}{2\sigma_{\pi}} \right)^2 \right] \frac{\text{erf} [\hbar\omega / (2\sigma_{\pi})]}{\hbar\omega}, \quad (2)$$

где $K = \frac{(2\pi)^3 e^2 \hbar^3}{m_e^2 c n} Q^2 \frac{4}{v \rho_{\alpha}}$; Q – матричный элемент оптического перехода; $N_{0\pi}$ – максимальная плотность занятых состояний; σ_{π} – дисперсия функции Гаусса; $E_{\pi\pi^*}$ – энергия перехода на уровень Ферми (F); предполагается симметричное положение гауссиан относительно уровня Ферми, так что $E_{\pi\pi^*} = -E_{\pi\pi^*}$, а энергия соответствующего НОМО-LUMO перехода равна $2E_{\pi\pi^*}$; e и m_e – заряд и масса электрона; v – число валентных электронов, приходящихся на один атом углерода; и ρ_{α} – атомная плотность; c – скорость света; n – коэффициент преломления.

В пренебрежении слабо зависящим от $\hbar\omega$ вторым членом соотношения (2), аппроксимируя спектры поглощения гауссианом

$$\alpha(\hbar\omega) = K \sqrt{\pi} \sigma_{\pi} N_{0\pi}^2 \exp \left[- \left(\frac{2E_{\pi\pi^*} - \hbar\omega}{2\sigma_{\pi}} \right)^2 \right] \quad (3)$$

можно определить значения $E_{\pi\pi^*}$ и σ_{π} фрагментов полисопряжения в ПВС матрице. Такая аппроксимация используется для низкоэнергетической ветви (длинноволнового края электронного спектра) с достраиванием высокоэнергетической ветви исходя из симметрии гауссовой кривой относительно максимума поглощения. Такая процедура, в частности, для пленок ПВС, допированных HCl в соотношении 1 : 1 и прогретых при 100 °С, дает величину $2E_{\pi\pi^*} = 3,6 \pm 0,3$ эВ при дисперсии σ_{π} 0,5–0,8 эВ. При повышении температуры нагрева до 120 и 150 °С значения $2E_{\pi\pi^*}$ несколько возрастают (до 3,7–4,0 эВ), однако эти изменения вряд ли следует принимать во внимание вследствие высоких погрешностей (на уровне 0,2–0,4 эВ) в области 3–5 эВ при аппроксимации спектральной кривой гауссианом.

Для более полной параметризации запрещенной зоны фрагментов полисопряжения определена минимальная энергия $\pi \rightarrow \pi^*$ переходов как ширина запрещенной зоны E_{gT} , получаемая в соответствии с уравнением Тауца [13]

$$\alpha(\hbar\omega)\hbar\omega = B_T (\hbar\omega - E_{gT})^2 \quad (4)$$

экстраполяцией линейного участка $[\alpha(\hbar\omega)\hbar\omega]^{1/2} - \hbar\omega$ кривой (рис. 1, b) на ось энергий. В этом уравнении параметр B_T пропорционален плотности состояний вблизи края поглощения. Полученные значения энергии Тауца E_{gT} находятся в пределах 1,56–1,61 эВ для пленок, прогретых при 100–150 °С, причем точность такого определения представляется достаточно высокой ввиду значительного интервала энергий, в котором имеет место линейаризация кривых Тауца – от 1,77 до 2,50 эВ для пленок, прогретых при 150 °С, и от 2,54 до 1,86 эВ для пленок, прогретых при 100 и 120 °С (рис. 1, b).

Принимая во внимание, что энергия Тауца характеризует наименьшее значение ширины запрещенной зоны областей полисопряжения, и используя значения E_{gm} , полученные экстраполяцией E_{gm} , m -зависимостей, можно оценить максимальный эффективный размер областей полисопряжения. Из зависимости, представленной на рис. 3, можно заключить, что, в частности, значению $E_{gT} = 1,60$ эВ соответствует область полисопряжения, включающая 145 двойных связей, и соответственно, состоящая из 290 атомов углерода в цепи полисопряжения. Столь протяженные фрагменты полисопряжения можно рассматривать как нанокластеры транс-полиаце-

тилена $\text{trans}-(\text{CH})_m$, инкорпорированные в матрицу ПВХ. Размер этих нанокластеров можно считать максимально достижимым в использовавшихся температурно-временных условиях термодинамической дегидратации. Однако данная граница не является резкой, поскольку кластерные ансамбли относятся к неупорядоченным системам с флуктуациями пространственного распределения количества звеньев в цепях полисопряжения, отсутствием дальнего порядка и другими факторами, ответственными за наличие края Урбаха [7] при энергиях, ниже энергии запрещенной зоны Тауца. Кроме того, следует подчеркнуть, что такие нанокластеры с размерами, близкими к максимальным, находятся в ансамбле с кластерами меньших размеров, вплоть до молекул с 8–18 атомами углерода в цепи полисопряжения, ответственных за линии поглощения, представленные на рис. 2.

Заключение. Формирование системы сопряженных связей в пленках ПВХ в присутствии HCl в качестве кислотного катализатора термической дегидратации можно рассматривать как модельный процесс, характеризующий начальные стадии терморазложения карбоцепных полимеров с функциональными группами. Выраженная тонкая структура в спектрах поглощения в области 282–443 нм связана, в основном, с электронными переходами в цепях полисопряжения с количеством атомов углерода от 8 до 18, за исключением полосы при 310 нм. Кроме того, в составе широкой полосы при 352–378 нм, распадающейся на четыре выраженные линии, лишь пик при 360 нм обусловлен оптическими переходами в цепи полисопряжения, содержащей 12 атомов углерода. Длинноволновая граница спектра обусловлена электронными переходами в цепях полисопряжения существенно больших размеров; максимально достижимый размер таких цепей можно определить из сопоставления зависимости ширины запрещенной зоны Тауца с энергией оптических переходов как обратной функции количества атомов углерода в цепи сопряжения. Принимая во внимание, что типичные размеры таких цепей полисопряжения составляют сотни атомов углерода (в частности, около 300 атомов в пленках ПВХ, прогретых при 100 °С), их можно рассматривать как нанокластеры транс-полиацетилена.

Список использованных источников

1. Braun, D. Assignment of UV-absorption maxima of degraded PVC / D. Braun, D. Sonderhof // *Polymer Bulletin*. – 1985. – Vol. 14, N 1. – P. 39–43. <https://doi.org/10.1007/bf00254913>
2. Correlation of thermal degradation mechanisms: polyacetylene and vinyl and vinylidene polymers / G. Montaudo [et al.] // *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. – 1986. – Vol. 24, N 2. – P. 301–316. <https://doi.org/10.1002/pola.1986.080240209>
3. Conversions of structural groups during the degradation of vinylchloride and vinylacetate polymers / K. S. Minsker [et al.] // *Polymer Science USSR*. – 1980. – Vol. 22, N 5. – P. 1228–1233. [https://doi.org/10.1016/0032-3950\(80\)90223-3](https://doi.org/10.1016/0032-3950(80)90223-3)
4. Polymer precursors of polyacetylene. Thermal degradation of poly (vinyl esters). Part 1 – Molecular weight dependence of the autocatalytic thermal degradation of poly (vinyl acetate) (PVAc) / J. M. Barrales-Rienda [et al.] // *Polymer Degradation and Stability*. – 1988. – Vol. 21, N 1. – P. 55–72. [https://doi.org/10.1016/0141-3910\(88\)90065-1](https://doi.org/10.1016/0141-3910(88)90065-1)
5. Kulak, A. I. Effect of aluminum chloride on formation of a polyconjugated bond system in the initial stage of polyvinyl alcohol thermal decomposition / A. I. Kulak, G. V. Bondareva, O. A. Shchurevich // *Journal of Applied Spectroscopy*. – 2013. – Vol. 80, N 1. – P. 30–35. <https://doi.org/10.1007/s10812-013-9716-5>
6. Tretinnikov, O. N. Formation of linear polyenes in poly (vinyl alcohol) films catalyzed by phosphotungstic acid, aluminum chloride, and hydrochloric acid / O. N. Tretinnikov, N. I. Sushko, A. B. Malyi // *Optics and Spectroscopy*. – 2016. – Vol. 121, N 1. – P. 56–61. <https://doi.org/10.1134/s0030400x16070225>
7. Kulak, A. I. Band gap energy and optical transitions in polyenes formed by thermal decomposition of polyvinyl alcohol / A. I. Kulak, G. V. Bondareva, O. A. Shchurevich // *Journal of Applied Spectroscopy*. – 2013. – Vol. 80, N 3. – P. 384–388. <https://doi.org/10.1007/s10812-013-9778-4>
8. Prosanov, I. Y. Raman Spectroscopy of PVA with metal compounds thermal decomposition / I. Y. Prosanov // *Physics of the Solid State*. – 2011. – Vol. 53, N 4. – P. 883–886. <https://doi.org/10.1134/s1063783411040299>
9. Prosanov, I. Y. Electrical properties of dehydrated polyvinyl alcohol / I. Y. Prosanov, N. F. Uvarov // *Physics of the Solid State*. – 2012. – Vol. 54, N 2. – P. 421–424. <https://doi.org/10.1134/s1063783412020278>
10. Smirnov, L. V. Electronic absorption spectra of polyvinyl alcohol / L. V. Smirnov, N. V. Platonova, N. P. Kulikova // *Journal of Applied Spectroscopy*. – 1968. – Vol. 8, N 2. – P. 197–202. <https://doi.org/10.1007/bf00604683>
11. Yang, S. Bandgap calculations for conjugated polymers / S. Yang, P. Olishevski, M. Kertesz // *Synthetic Metals*. – 2004. – Vol. 141, N 1–2. – P. 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2003.08.019>
12. π bands and gap states from optical absorption and electron-spin-resonance studies on amorphous carbon and amorphous hydrogenated carbon films / D. Dasgupta [et al.] // *Physical Review B*. – 1991. – Vol. 43, N 3. – P. 2131–2135. <https://doi.org/10.1103/physrevb.43.2131>

13. Tauc, J. Optical properties and electronic structure of amorphous germanium / J. Tauc, R. Grigorovici, A. Vancu // *Physica Status Solidi (B)*. – 1966. – Vol. 15, N 2. – P. 627–637. <https://doi.org/10.1002/pssb.19660150224>

References

1. Braun D., Sonderhof D. Assignment of UV-absorption maxima of degraded PVC. *Polymer Bulletin*, 1985, vol. 14, no. 1, pp. 39–43. <https://doi.org/10.1007/bf00254913>
2. Montaudo G., Puglisi C., Scamporrino E., Vitalini D. Correlation of thermal degradation mechanisms: polyacetylene and vinyl and vinylidene polymers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 1986, vol. 24, no. 2, pp. 301–316. <https://doi.org/10.1002/pola.1986.080240209>
3. Minsker K. S., Lisitskii V. V., Kronman A. G., Gataullin R. F., Chekushina M. A. Conversions of structural groups during the degradation of vinylchloride and vinylacetate polymers. *Polymer Science USSR*, 1980, vol. 22, no. 5, pp. 1228–1233. [https://doi.org/10.1016/0032-3950\(80\)90223-3](https://doi.org/10.1016/0032-3950(80)90223-3)
4. Barrales-Rienda J. M., Sánchez Chaves M., Mazón Arechederra J. M., Fernández Martín F. Polymer precursors of polyacetylene. Thermal degradation of poly (vinyl esters). Part 1 – Molecular weight dependence of the autocatalytic thermal degradation of poly (vinyl acetate) (PVAc). *Polymer Degradation and Stability*, 1988, vol. 21, no. 1, pp. 55–72. [https://doi.org/10.1016/0141-3910\(88\)90065-1](https://doi.org/10.1016/0141-3910(88)90065-1)
5. Kulak A. I., Bondareva G. V., Shchurevich O. A. Effect of aluminum chloride on formation of a polyconjugated bond system in the initial stage of polyvinyl alcohol thermal decomposition. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2013, vol. 80, no. 1, pp. 30–35. <https://doi.org/10.1007/s10812-013-9716-5>
6. Tretinnikov O. N., Sushko N. I., Malyi A. B. Formation of linear polyenes in poly (vinyl alcohol) films catalyzed by phosphotungstic acid, aluminum chloride, and hydrochloric acid. *Optics and Spectroscopy*, 2016, vol. 121, no. 1, pp. 56–61. <https://doi.org/10.1134/s0030400x16070225>
7. Kulak A. I., Bondarava G. V., Shchurevich O. A. Band gap energy and optical transitions in polyenes formed by thermal decomposition of polyvinyl alcohol. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2013, vol. 80, no. 3, pp. 384–388. <https://doi.org/10.1007/s10812-013-9778-4>
8. Prosanov I. Y. Raman Spectroscopy of PVA with metal compounds thermal decomposition. *Physics of the Solid State*, 2011, vol. 53, no. 4, pp. 883–886. <https://doi.org/10.1134/s1063783411040299>
9. Prosanov I. Y., Uvarov N. F. Electrical properties of dehydrated polyvinyl alcohol. *Physics of the Solid State*, 2012, vol. 54, no. 2, pp. 421–424. <https://doi.org/10.1134/s1063783412020278>
10. Smirnov L. V., Platonova N. V., Kulikova N. P. Electronic absorption spectra of polyvinyl alcohol. *Journal of Applied Spectroscopy*, 1968, vol. 8, no. 2, pp. 197–202. <https://doi.org/10.1007/bf00604683>
11. Yang S., Olishevski P., Kertesz M. Bandgap calculations for conjugated polymers. *Synthetic Metals*, 2004, vol. 141, no. 1–2, pp. 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2003.08.019>
12. Dasgupta D., Demichelis F., Pirri C. F., Tagliaferro A. π bands and gap states from optical absorption and electron-spin-resonance studies on amorphous carbon and amorphous hydrogenated carbon films. *Physical Review B*, 1991, vol. 43, no. 3, pp. 2131–2135. <https://doi.org/10.1103/physrevb.43.2131>
13. Tauc J., Grigorovici R., Vancu A. Optical properties and electronic structure of amorphous germanium. *Physica Status Solidi (B)*, 1966, vol. 15, no. 2, pp. 627–637. <https://doi.org/10.1002/pssb.19660150224>

Информация об авторах

Кулак Анатолий Иванович – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор, директор. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kulak@igic.bas-net.by.

Кулёмин Денис Александрович – мл. науч. сотрудник. Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kuliomin.d.a@gmail.com.

Information about the authors

Kulak Anatoly Ivanovich – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Professor, Director. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kulak@igic.bas-net.by.

Kuliomin Dzianis Aleksandrovich – Junior researcher. Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kuliomin.d.a@gmail.com.

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 51-76:577.322:539.19

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-576-584>

Поступило в редакцию 12.06.2018

Received 12.06.2018

И. А. Кашин¹, Г. И. Николаев¹, член-корреспондент А. В. Тузиков¹, А. М. Андрианов²¹*Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*²*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь***МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА СТРУКТУРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ВИЧ-1 С БЕЛКОМ GP120 ОБОЛОЧКИ ВИРУСА**

Аннотация. Проведены молекулярно-динамические расчеты структурных комплексов потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 с белком gp120 оболочки вируса. Рассчитаны свободные энергии образования этих надмолекулярных структур и вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 ВИЧ-1 в энтальпию связывания. Идентифицированы остатки gp120, критические для взаимодействия с лигандами. На основе полученных данных отобраны пять соединений, перспективных для синтеза и тестирования на противовирусную активность. Предсказано, что эти соединения могут быть использованы для разработки новых эффективных анти-ВИЧ препаратов с широким спектром действия.

Ключевые слова: ВИЧ-1, белок gp120, ингибиторы проникновения ВИЧ-1, молекулярная динамика, лекарственные препараты против ВИЧ

Для цитирования. Молекулярная динамика структурных комплексов потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 с белком gp120 оболочки вируса / И. А. Кашин [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 576–584. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-576-584>

**Ivan A. Kashyn¹, Grigory I. Nikolaev¹, Corresponding Member Alexander V. Tuzikov¹,
Alexander M. Andrianov²**¹*United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*²*Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***MOLECULAR DYNAMICS FOR STRUCTURAL COMPLEXES
OF POTENTIAL HIV-1 INHIBITORS WITH THE VIRAL ENVELOPE GP120 PROTEIN**

Abstract. Molecular dynamics simulations for the structural complexes of potential HIV-1 inhibitors with the viral envelope gp120 protein were carried out. Free energies of the formation of these supramolecular structures and contributions of individual amino-acid residues of gp120 to the enthalpy binding were calculated. The residues of gp120 critical for interactions with the ligands were identified. Based on the data obtained, five compounds promising for synthesis and testing for antiviral activity were selected. It is suggested that these compounds may be successfully used in the design of novel, potent and broad anti-HIV drugs.

Keywords: HIV-1, gp120 protein, HIV-1 entry inhibitors, molecular dynamics, anti-HIV drugs

For citation: Kashyn I. A., Nikolaev G. I., Tuzikov A. V., Andrianov A. M. Molecular dynamics for structural complexes of potential HIV-1 inhibitors with the viral envelope gp120 protein. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 576–584 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-576-584>

Введение. С начала эпидемии СПИДа более 70 миллионов человек заразились ВИЧ-1, и около половины из них уже нет в живых [1]. В последние годы темпы роста глобальной эпидемии СПИДа стабилизировались: с 1997 года, на протяжении которого было зафиксировано наибольшее количество заразившихся людей, ежегодное число новых случаев инфицирования ВИЧ постоянно уменьшалось [1]. Однако ситуация в ряде регионов не согласуется с общей тенденцией уменьшения числа ВИЧ-позитивных пациентов. Так, в странах Восточной Европы и Центральной Азии наблюдается рост показателей заражения ВИЧ [1]. По состоянию на 1 марта 2018 г. в Республике Беларусь зарегистрированы 25074 случая ВИЧ-инфекции, а количество людей, живущих с ВИЧ, составило 19519 при показателе распространенности, равном 205,6 на 100 тысяч населения.

На сегодняшний день стандартным методом лечения является высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРТ), которая предполагает совместное использование нескольких препара-

тов, блокирующих разные стадии жизненного цикла вируса [2]. Применение методов ВААРТ привело к существенному снижению уровня заболеваемости и смертности от ВИЧ-инфекции, и в настоящее время они являются главным средством борьбы против вируса [2]. Тем не менее, методы ВААРТ по-прежнему остаются паллиативным средством и неспособны остановить пандемию ВИЧ-1. Кроме того, токсичность и высокая стоимость используемых в ВААРТ препаратов являются существенными факторами, ограничивающими их повсеместное использование [2].

Обнаружение моноклональных антител широкого спектра действия создало предпосылки для разработки универсальной вакцины против ВИЧ-1 [3], но, несмотря на интенсивные исследования, многочисленные попытки разработать иммуноген, индуцирующий антитела к ВИЧ-1 с широкой вирусной нейтрализацией, к настоящему времени не увенчались успехом [4]. К сожалению, разработанные вакцины-кандидаты не могут стимулировать индукцию нейтрализующих антител против большинства циркулирующих в мире вирусных штаммов. Поэтому задача создания вакцин, способных индуцировать их выработку, является главным приоритетом в развитии стратегий по разработке эффективных препаратов для профилактики и лечения ВИЧ-инфекции [4].

Наряду с работами по созданию эффективной и безопасной вакцины против ВИЧ-1 большое внимание уделяется разработке новых лекарственных препаратов, терапевтическое действие которых основано на ингибировании ранних стадий развития ВИЧ-инфекции, ответственных за проникновение вируса в клетку-мишень [5]. ВИЧ-1 адсорбируется на поверхности мембраны клетки-мишени в результате связывания белка gp120 оболочки вируса с первичным рецептором CD4 [6]. Связывание с молекулой CD4 приводит к структурным изменениям белка gp120, что облегчает его взаимодействие с корецепторами CXCR4 (X вирусы) или CCR5 (R вирусы) [6]. Взаимодействие с корецептором инициирует конформационные перестройки трансмембранного белка gp41, сопровождающиеся внедрением его концевой домена в клеточную мембрану [6]. При этом в белке gp41 формируется похожая на шпильку вытянутая спиральная структура из шести звеньев, обеспечивающая слияние внешней оболочки вируса с клеточной мембраной и последующее высвобождение вирусного капсида в цитоплазму [6].

В последние годы разработано большое число низкомолекулярных соединений, ингибирующих взаимодействие ВИЧ-1 с первичным рецептором CD4, корецепторами CCR5 и CXCR4 и участком белка gp41, критическим для слияния мембран вируса и клетки-хозяина [5], но, в силу разных причин, большинство из них не прошло клинические испытания. В настоящее время в ВААРТ применяются только два ингибитора проникновения – энфувертид, блокирующий слияние мембран вируса и клетки-мишени, и маравирок, конкурирующий с ВИЧ-1 за связывание с корецептором CCR5 [5]. Однако эти препараты имеют ряд недостатков, ограничивающих их использование в антиретровирусной терапии [5]. В связи с этим представляется актуальным поиск новых, более эффективных, менее токсичных и дешевых анти-ВИЧ агентов, блокирующих первый этап репликационного цикла вируса.

В последнее десятилетие важную роль в процессе создания новых лекарственных препаратов играют методы компьютерного молекулярного моделирования, которые позволяют значительно сократить сроки разработки лекарств и существенно уменьшить финансовые расходы [7]. Значительные успехи достигнуты с помощью этих методов при разработке новых ингибиторов обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ-1, белка M2 и нейраминидазы вируса гриппа, протеиназы коронавируса SARS-CoV, тимидинкиназы вируса герпеса, вируса гепатита С и протеиназы риновируса человека [7].

В [8] на основе методологии клик-химии нами был осуществлен компьютерный дизайн потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1, способных, согласно расчетным данным, блокировать CD4-связывающий участок белка gp120. В результате проведенных исследований методами молекулярного докинга были идентифицированы шесть соединений, перспективных для дальнейших исследований. Настоящая работа продолжает исследования, начатые ранее [8], и посвящена изучению методами молекулярной динамики (МД) энергетических характеристик и конформационной устойчивости структурных комплексов этих соединений с молекулярной мишенью – белком gp120 оболочки вируса.

Для решения этой задачи проведены следующие исследования:

1. Построены молекулярно-динамические траектории комплексов шести сконструированных в [8] соединений с белком gp120 ВИЧ-1;
2. Рассчитаны свободные энергии образования этих надмолекулярных структур;
3. Определены вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 в энтальпию связывания;
4. Выполнен анализ межмолекулярных водородных связей, реализующихся в динамических структурах комплексов, и рассчитаны частоты их появления на МД траекториях комплексов.

На основе полученных данных отобраны пять соединений-лидеров, характеризующихся низкими значениями свободной энергии связывания и большим числом энергетически благоприятных межатомных контактов с участком белка gp120, критическим для взаимодействия ВИЧ-1 с клеточным рецептором CD4.

Материалы и методы исследования. МД расчеты проводили с помощью программного пакета Amber 11 (<http://ambermd.org/>) в силовом поле Amber (набор параметров ff10) с явным заданием растворителя (трехточечная модель воды TIP3P) [9]. Для параметризации лигандов использовали обобщенное силовое поле AMBER (<http://ambermd.org/>). Начальные координаты атомов водорода белка gp120 определяли с привлечением модуля xleap пакета AMBERTools 1.5 (<http://ambermd.org/>) [9]. Структурные комплексы потенциальных ингибиторов ВИЧ с белком gp120, построенные в [8], помещали в ячейку в форме усеченного октаэдра таким образом, чтобы наименьшее расстояние между ее гранями и атомами исследуемой системы превосходило 10 Å, после чего свободное пространство заполняли молекулами воды. Перед проведением МД расчетов энергию структурного комплекса минимизировали методами наискорейшего спуска (500 шагов) и сопряженных градиентов (1000 шагов). Затем осуществляли нагрев системы от 0 до 310 К в течение 1 нс при постоянном объеме ячейки. На следующем шаге в течение 1 нс уравнивали давление в системе, установленное на значении 1 атм., посредством динамического изменения размеров ячейки (<http://ambermd.org/>) [9] с характерной частотой 2,0 пс⁻¹. На этапах нагрева и уравнивания давления накладывали дополнительные ограничения на положения атомов системы с помощью потенциала параболической формы с силовыми постоянными, равными соответственно 1,0 и 0,5 ккал/моль. Далее эти ограничения снимали и вновь подвергали систему релаксации в течение 2 нс в изобарно-изотермических условиях. На заключительном шаге моделирования проводили расчет МД траектории длительностью 30 нс при температуре $T = 310$ К и давлении $P = 1,0$ атм. Для контроля температуры использовали термостат Ланжевена (<http://ambermd.org/doc10/>) [9] с частотой столкновений 2,0 пс⁻¹. Контроль давления в ячейке осуществляли с помощью баростата Берендсена [9] с характерным временем 2,0 пс. Интегрирование уравнений движения Ньютона осуществляли с помощью алгоритма “leap-frog” (<http://ambermd.org/doc10/>) [9] с шагом интегрирования 2,0 фс. Для фиксации длин всех связей, в образовании которых участвуют атомы водорода, применяли алгоритм SHAKE (<http://ambermd.org/>) [9]. Максимальное расстояние, на котором учитывали невалентные взаимодействия, задавали равным 8,0 Å. Для расчета энергии электростатических взаимодействий использовали метод Эвальда [9].

Средние значения свободной энергии образования комплексов и вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 в энтальпию связывания вычисляли с помощью метода MM-PB/SA [10], реализованного в программном пакете AMBER 11 [9]. При оценке свободной энергии первые 5 нс МД моделирования отводили на релаксацию системы и не учитывали в расчетах. Энтальпийную составляющую свободной энергии связывания вычисляли для 500 комплексов МД траектории, разделенных 50 пс. Энтропийную компоненту рассчитывали для 50 комплексов с шагом 5 пс. Для расчета полярной составляющей энергии сольватации использовали континуальную модель растворителя Пуассона–Больцмана с ионной силой 0,1. Неполярные компоненты свободной энергии гидратации вычисляли на основе расчетов площади поверхности, доступной растворителю [10]. Энтропийный член свободной энергии связывания определяли с помощью модуля Nmode в программном пакете Amber 11 [9]. Из шести потенциальных лигандов ВИЧ-1, идентифицированных методами молекулярного докинга в [8], для заключительного анализа были отобраны пять химических соединений с отрицательными значениями свободной энергии образования структурных комплексов с белком gp120 ВИЧ-1.

Для идентификации межмолекулярных водородных связей в динамических структурах комплексов использовали программный модуль ptray пакета AMBERTools (<http://ambermd.org/>) [9]. Анализ МД траекторий комплексов выполняли с помощью модуля AmberTools 1.5 программного пакета AMBER 11 [9].

В качестве контрольного соединения в расчетах использовали ингибитор проникновения ВИЧ-1 NBD-11021, представляющий новый класс полных функциональных антагонистов клеточного рецептора CD4 [11].

Расчеты проводили на компьютерном кластере «СКИФ-ОИПИ» Объединенного института проблем информатики НАН Беларуси.

Результаты и их обсуждение. На рис. 1 показаны химические структуры отобранных для анализа лигандов ВИЧ-1, а в табл. 1 приведены средние значения свободной энергии $\langle \Delta G \rangle$ об-

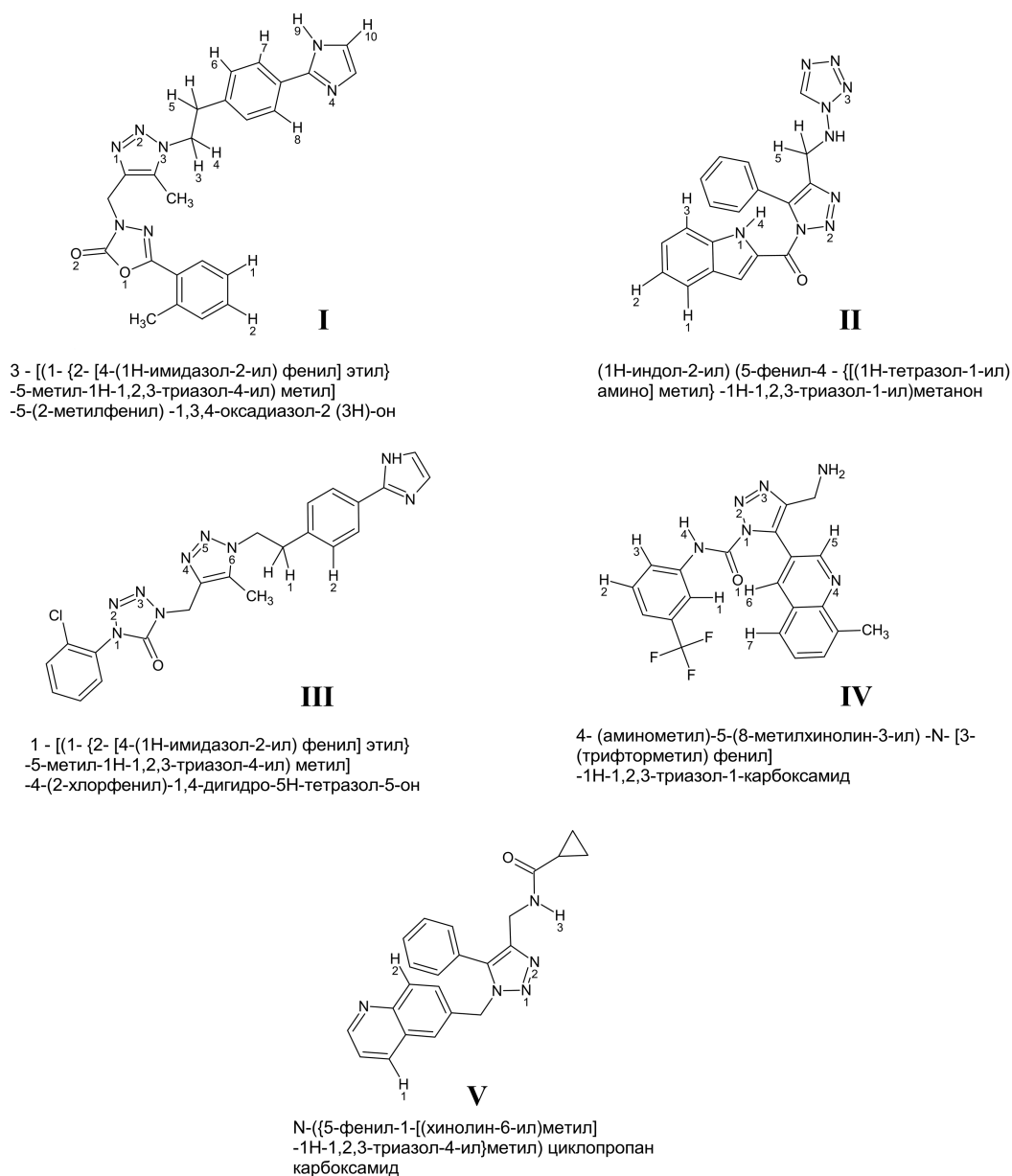


Рис. 1. Химические структуры потенциальных ингибиторов проникновения ВИЧ-1. Приведены систематические названия соединений. Пронумерованы атомы водорода, азота и кислорода, образующие водородные связи в динамических структурах комплексов лигандов с белком gp120 ВИЧ-1 (см. текст)

Fig. 1. Chemical structures of the potential HIV-1 entry inhibitors. Systematic names of these compounds are given. The atoms of hydrogen, oxygen and nitrogen forming hydrogen bonds in the dynamic structures of the complexes between the ligands and HIV-1 gp120 protein are numbered (see the text)

Т а б л и ц а 1. Средние значения свободной энергии $\langle \Delta G \rangle$ образования комплексов потенциальных ингибиторов ВИЧ-1 и ингибитора NBD-11021 с белком gp120 оболочки вируса и соответствующие им стандартные отклонения ΔG_{STD}

Table 1. Mean values of binding free energy $\langle \Delta G \rangle$ for the complexes of the potential HIV-1 inhibitors with the HIV-1 gp120 protein and their standard deviations ΔG_{STD}

Лиганд Ligand	$\langle \Delta H \rangle$, ккал/моль	$(\Delta H)_{\text{STD}}$, ккал/моль	$\langle T\Delta S \rangle$, ккал/моль	$(T\Delta S)_{\text{STD}}$, ккал/моль	$\langle \Delta G \rangle$, ккал/моль	ΔG_{STD} , ккал/моль
I	-49,40	5,06	-20,89	7,01	-28,51	8,65
II	-32,64	3,95	-18,61	6,28	-14,03	7,42
III	-34,30	3,03	-23,69	9,72	-10,61	10,18
IV	-29,00	4,51	-19,50	8,12	-9,50	9,29
V	-27,93	4,02	-20,35	9,06	-7,58	9,91
NBD-11021	-30,41	3,60	-22,42	9,89	-7,99	10,52

П р и м е ч а н и е: $\langle \Delta H \rangle$ и $\langle T\Delta S \rangle$ – соответственно средние значения энтальпийной и энтропийной составляющих свободной энергии; $(\Delta H)_{\text{STD}}$ и $(T\Delta S)_{\text{STD}}$ – соответствующие этим значениям стандартные отклонения.

Note: $\langle \Delta H \rangle$ and $\langle T\Delta S \rangle$ are the mean values of enthalpic and entropic components of free energy, respectively. $(\Delta H)_{\text{STD}}$ and $(T\Delta S)_{\text{STD}}$ are their standard deviations.

разования комплексов этих соединений и ингибитора NBD-11021 с белком gp120 оболочки вируса, рассчитанные на основе их молекулярно-динамических траекторий. Из данных табл. 1 видно, что соединения I–IV характеризуются более низкими значениями свободной энергии связывания с белком gp120 по сравнению с ингибитором ВИЧ-1 NBD-11021, а величина $\langle \Delta G \rangle$ для лиганда V близка к соответствующему значению для этого контрольного соединения. При анализе данных табл. 1 необходимо иметь в виду, что все вычислительные подходы к оценке свободной энергии связаны с различными приближениями, которые варьируют от упрощенных форм уравнений до приближений, ограничивающих размер системы и фундаментальных приближений в уравнениях, необходимых для решения задачи. Тем не менее, оценка точности метода ММ-РВ/SA [10] позволяет предположить, что средние значения свободной энергии связывания, предсказанные для соединений I–V в комплексе с белком gp120 (табл. 1), по крайней мере, сопоставимы с величиной $-9,5 \pm 0,1$ ккал/моль, измеренной для комплекса CD4/gp120 методом изотермической титрационной калориметрии [12]. При этом величина свободной энергии для соединения IV совпадает с этим экспериментальным значением (табл. 1).

Разложение энтальпийной компоненты свободной энергии на вклады индивидуальных аминокислотных остатков белка gp120 показывает (табл. 2), что остатки Asn-425_{gp120}, Met-426_{gp120} и Trp-427_{gp120}, критические для взаимодействия с рецептором CD4 [13], играют важную роль в связывании с лигандами. Кроме того, остатки Gly-473 gp120, Asp-474 gp120 и Met-475 gp120 – одни из ключевых для связывания с молекулой CD4 [13] – вносят существенный вклад в энергетическую стабилизацию комплексов лиганд/gp120 (табл. 2). За исключением соединения V, остаток Glu-370 белка gp120, принимающий активное участие в процессе адсорбции ВИЧ-1 на поверхности клетки-мишени [13], также необходим для взаимодействия с лигандами (табл. 2).

Данные молекулярной динамики показывают, что сконструированные методами компьютерного моделирования соединения [8] могут эффективно блокировать функционально консервативный элемент структуры CD4-связывающего участка ВИЧ-1 – Phe⁴³-полость белка gp120, что указывает на высокую вероятность проявления ими ВИЧ-ингибирующих свойств. При этом анализируемые соединения имитируют взаимодействия с белком gp120, критические для связывания вируса с клеточным рецептором CD4 клетки-хозяина, т. е. представляют собой миметики первичного рецептора ВИЧ-1. Этот вывод подтверждает анализ межмолекулярных водородных связей, свидетельствующий о том, что на МД траекториях комплексов этих соединений с белком gp120 реализуются межмолекулярные водородные связи с участием остатков gp120, функционально важных для связывания ВИЧ с молекулой CD4 (табл. 3).

Среди идентифицированных CD4-миметиков следует особо отметить лиганд I (рис. 1), характеризующийся существенно более низким значением свободной энергии образования комплекса

Таблица 2. Средние значения энтальпии связывания для аминокислотных остатков белка gp120 в комплексе с потенциальными миметиками молекулы CD4

Table 2. Averages of the binding enthalpy for the amino-acid residues of gp120 bound to the potential CD4-mimetic candidates

Остаток белка gp120 Residue of the gp120 protein	Лиганд Ligand				
	I	II	III	IV	V
	Вклад остатка в энтальпию связывания (ккал/моль) Residue contribution to the binding enthalpy (kcal/mol)				
Gly 128	-0,99	–	–	–	–
Ala 129	-0,78	–	–	–	–
Gly 194	-0,59	–	–	–	–
Val 255	-1,23	-1,32	-1,35	-1,08	-1,04
Ser 256	-0,68	-1,03	–	–	-0,80
Thr 257	-1,14	-1,65	–	-1,39	-1,29
Asp368	-0,92	-1,10	-0,15	-0,85	-1,42
Glu 370	-2,00	-2,63	-1,70	-3,10	–
Ile-371	–	-0,82	–	–	-0,91
Ser 375	-1,76	-2,36	–	-0,82	-0,98
Phe 376	-0,66	-0,59	–	–	–
Phe 382	-0,78	-0,69	-0,68	-0,65	–
Tyr 384	-0,75	-0,64	–	–	-0,68
Ile 424	-0,76	-0,74	-1,09	-0,88	-0,59
Asn 425	-6,49	-3,48	-2,68	-2,96	-2,76
Met 426	-1,70	-1,63	-2,17	-3,00	-1,57
Trp 427	-3,89	-2,73	-4,49	-5,1	-3,18
Gln 428	-0,68	–	-0,99	-0,88	–
Lys 429	-1,85	–	-1,96	-1,78	–
Val 430	-3,63	–	-1,50	-2,10	-0,72
Gly 431	-1,10	–	–	–	–
Gly-472	–	-1,01	–	–	-0,54
Gly 473	-1,54	-1,54	-1,29	-1,24	-2,83
Asp 474	-3,07	-1,21	-2,14	-1,56	-2,71
Met 475	-3,60	-1,93	-3,39	-1,65	-2,55
Arg 476	–	–	-0,54	–	–

Примечание. Приведены данные для остатков gp120 с энтальпией $\leq -0,5$ ккал/моль. Жирным шрифтом выделены остатки gp120, вносящие значительный вклад в энтальпию связывания.

Note. The data on the gp120 residues with the enthalpy values less than -0.5 kcal/mole are given. The residues of gp120 that greatly contribute to the binding enthalpy are marked in bold.

с белком gp120 по сравнению с контрольным соединением – ингибитором проникновения ВИЧ-1 NBD-11021 (табл. 1). Предсказанное значение свободной энергии связывания для этого соединения составляет $-28,51$ ккал/моль (табл. 1), в то время как соответствующая величина для комплекса NBD-11021/gp120 равна $-7,99$ ккал/моль (табл. 1). Согласно данным молекулярного докинга [8], соединение I образует водородную связь с остатком Asp-368_{gp120} (рис. 2), имитируя его взаимодействие с Arg-59_{CD4}, которое является критическим для связывания белка gp120 ВИЧ-1 клеткой-мишенью [13]. Как и бензольное кольцо боковой цепи остатка Phe-43_{CD4} [13], ароматический фрагмент этого лиганда погружен в Phe⁴³-полость белка gp120 (рис. 2) и образует широкую сеть ван-дер-ваальсовых контактов, суммарное число которых равно 63 (подробности см. в работе [8]). При этом лиганд I участвует в ван-дер-ваальсовых взаимодействиях с консервативными остатками Thr-257, Asp-368, Glu-370, Asn-425, Met-426, Trp-427, Gly-473 и Met-475 белка gp120 (рис. 2), формирующими прямые межмолекулярные контакты с остатком Phe-43_{CD4} [13]. О потенциальной эффективности взаимодействия соединения I с CD4-связывающим сайтом ВИЧ-1 свидетельствует наличие на МД траекториях комплекса этого лиганда с белком gp120 многочисленных водородных связей с участием аминокислотных остатков гликопротеина, доминирующих

Т а б л и ц а 3. Межмолекулярные водородные связи, реализующиеся в динамических структурах комплексов потенциальных CD4-миметиков с белком gp120 ВИЧ-1

T a b l e 3. Intermolecular hydrogen bonds appearing in the dynamic structures of the potential CD4-mimetics bound to the HIV-1 gp120 protein

Лиганд Ligand	Водородная связь Hydrogen bond
I	O1...HG2[Glu370; 71,3 %], O2...HG2[Glu370; 20,9 %], O1...HB3[Asn425; 15,6 %], N4...HD21[Asn425; 99,8 %], O2...HD22[Asn425; 39,7 %], N1...HB2[Trp427; 51,9 %], O1...HB3[Trp427; 36,6 %], N4...HA[Val430; 83,5 %], N4...H[Gly431; 85,0 %], N1...HA[Asp474; 35,0 %], N2...HA[Asp474; 77,3 %], N3...HA[Trp427; 71,1 %], N1...H[Met475; 78,3 %], N2...H[Met475; 94,7 %], N1...HB2[Met475; 52,0 %], N2...HB2[Met475; 16,6 %], N1...HG2[Met475; 32,9 %], H1...O[Val255; 49,4 %], H1...O[Ser375; 37,4 %], H1...O _{D2} [Asp368; 15,3 %], H2...N[Phe376; 19,1 %], H3...OD2[Asp474; 20,0 %], H4...O[Gly473; 26,3 %], H5...O[Trp427; 71,5 %], H6...O[Trp427; 71,3 %], H7...ND2[Asn425; 49,3 %], H7...O[Met426; 71,5 %], H8...O[Gly128; 39,0 %], H9...O[Gly128; 42,4 %], H10...O[Gly194; 22,3 %]
II	N2...HG2[Glu370; 26,0 %], N1...HG2[Glu370; 34,7 %], N3...HA[Asp474; 26,2 %], H1...O[Val255; 27,5 %], H1...O _{D1} [Asp368; 17,1 %], H2...O[Phe376; 42,7 %], H3...OH[Tyr384; 26,3 %], H4...O[Asn425; 47,2 %], H5...OD1[Asp368; 1,3 %]
III	N2...HB3[Asn425; 44,2 %], N3...HB3[Asn425; 25,5 %], N5...HA[Trp427; 42,7 %], N6...HA[Trp427; 50,2 %], N4...HB2[Trp427; 39,5 %], N1...HB3[Trp427; 31,4], N2...HB3[Trp427; 39,4 %], N4...HA[Asp474; 82,8 %], N5...HA[Asp474; 27,2 %], N4...H[Met475; 84,6 %], N5...H[Met475; 32,6 %], N4...HB2[Met475; 30,7 %], H1...O _{D2} [Asp368; 18,7 %], H1...O[Trp427; 68,3 %], H2...O[Trp427; 45,3 %]
IV	N1...HB3[Asn425; 26,8 %], N2...HB3[Asn425; 53,5 %], N3...HA[Val430; 44,2 %], N3...H[Gly431; 40,9 %], O1...HA2[Gly473; 45,4 %], N4...HA3[Gly473; 36,2 %], H4...O[Met426; 95,8 %], H5...O[Gly473; 52,7 %], H1...O[Asn425; 62,4 %], H1...O _{D2} [Asp368; 12,5 %], H2...SD[Met475; 26,1 %], H3...O[Gly473; 50,1 %], H7...OD2[Asp368; 16,3 %], H7...OD1[Asp368; 12,1 %], H6...OD2[Asp368; 7,8 %], H6...OD1[Asp368; 5,4 %]
V	N2...HB2[Trp427; 29,5 %], N1...HB2[Trp427; 27,5 %], N2...HA[Asp474; 47,2 %], N2...H[Met475; 48,8 %], N1...HB2[Met475; 26,9 %], H1...O[Ser256; 30,5 %], H1...O _{D2} [Asp368; 15,3 %], H2...O[Asn425; 73,6 %], H3...O[Gly473; 44,8 %]

П р и м е ч а н и е. Первыми приведены атомы лигандов, обозначенные в соответствии с их нумерацией на рис. 1, а вторыми – атомы аминокислотных остатков белка gp120 в кристаллической структуре этого гликопротеина [13], депонированной в Банке данных белков. В квадратных скобках указаны остатки белка gp120 и процент реализации водородных связей на МД траекториях комплексов лиганд/gp120.

N o t e. The atoms of the ligands indicated in agreement with their numbering in Fig. 1 are shown first followed by the atoms of the amino acid residues of the gp120 protein in the crystal structure of this glycoprotein [13] deposited in the Protein Data Bank. The square brackets indicate the residues of the gp120 protein and the percentage of hydrogen bonding on the MD trajectories of the ligand/gp120 complexes.

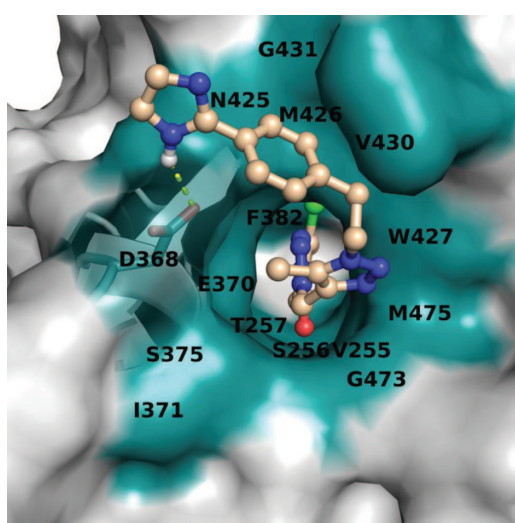


Рис. 2. Структурный комплекс соединения I с белком gp120 ВИЧ-1 [8]. Лиганд изображен с помощью молекулярной модели «шарик–палочка». Отмечены остатки белка gp120, образующие межатомные контакты с лигандами. Водородная связь показана пунктирной линией

Fig. 2. The docked structure of compounds I with the HIV-1 gp120 protein [8]. The ligand is represented by a ball-stick model. The residues of gp120 forming interatomic contacts with the ligands are indicated. Hydrogen bond is shown by dotted line

в связывании с клеточным рецептором CD4 (табл. 3). Близкий с лигандом I механизм взаимодействия с белком gp120 ВИЧ-1, основу которого формируют межмолекулярные ван-дер-ваальсовы контакты и водородные связи, реализуется, согласно данным молекулярного моделирования, и для соединений II–V (см. [8] и табл. 3).

Заключение. Данные молекулярного моделирования показывают, что соединения, сконструированные в рамках концепции клик-химии в [8], могут блокировать функционально важный участок оболочки ВИЧ-1 – Phe⁴³-полость белка gp120, играющую важную роль при взаимодействии вируса с клеточным рецептором CD4 [13]. Как и молекула CD4, эти соединения образуют многочисленные ван-дер-ваальсовы контакты и водородные связи с аминокислотами белка gp120, непосредственно участвующими в ключевом для связывания взаимодействии с остатком Phe-43_{CD4}. Структурные комплексы идентифицированных соединений с белком gp120 не претерпевают значительных структурных перестроек в течение МД расчетов и проявляют высокий процент заселенности межмолекулярных водородных связей (табл. 3), который вносит существенный вклад в энергетическую стабильность комплексов. Это согласуется с низкими величинами свободной энергии их образования, сопоставимыми со значением $-9,5 \pm 0,1$ ккал/моль, измеренным для комплекса CD4/gp120 методом изотермической титрационной калориметрии [12]. При этом среднее значение свободной энергии связывания ингибитора ВИЧ-1 NBD-11021 с белком gp120, полученное с помощью идентичного вычислительного протокола, сопоставимо, с учетом погрешностей метода ММ-РВ/СА, с соответствующими значениями для обнаруженных соединений, что указывает на высокую вероятность проявления ими ингибиторной активности.

Сконструированные CD4-миметики (рис. 1) полностью удовлетворяют «правилу пяти» Липинского [8], которое накладывает на лиганд, взаимодействующий с молекулярной мишенью, условия подобия лекарству [14]. Эти соединения могут быть синтезированы с помощью реакции азид-алкинового циклоприсоединения [8], катализируемой медью – реакции клик-химии, которая протекает с высоким выходом, с широким спектром растворителей, в том числе в воде, является региоселективной и дает 1,4-дизамещенные 1,2,3-триазолы в качестве единственных продуктов [15].

Таким образом, анализ полученных результатов показывает, что сконструированные методами *in silico* соединения (рис. 1) представляют собой перспективные структуры для создания на их основе эффективных анти-ВИЧ препаратов нового поколения.

Благодарности. Работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проекты X17-022, X18КИ-002).

Acknowledgements. This work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (projects no. X17-022, X18КИ-002).

Список использованных источников

1. Wang, H.-B. HIV vaccine research: The challenge and the way forward / H.-B. Wang, Q.-H. Mo, Z. J. Yang // *J. Immunol. Res.* – 2015. – Vol. 2015. – Article 503978. <https://doi.org/10.1155/2015/503978>
2. Kumari, G. Highly active antiretroviral therapy for treatment of HIV/AIDS patients: current status and future prospects and the Indian scenario / G. Kumari, R. K. Singh // *HIV AIDS Rev.* – 2012. – Vol. 11, N 1. – P. 5–14. <https://doi.org/10.1016/j.hivar.2012.02.003>
3. Corti, D. Broadly neutralizing antiviral antibodies / D. Corti, A. Lanzavecchia // *Annu. Rev. Immunol.* – 2013. – Vol. 31, N 1. – P. 705–742. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-095916>
4. Mann, J. K. HIV-1 vaccine immunogen design strategies / J. K. Mann, T. Ndung'u // *Viol. J.* – 2015. – Vol. 12, N 1. – P. 3. <https://doi.org/10.1186/s12985-014-0221-0>
5. Small-molecule HIV-1 entry inhibitors targeting gp120 and gp41: a patent review (2010–2015) / W. Li [et al.] // *Expert Opin. Ther. Pat.* – 2017. – Vol. 27, N 6. – P. 707–719. <https://doi.org/10.1080/13543776.2017.1281249>
6. Wilen, C. B. HIV: Cell binding and entry / C. B. Wilen, J. S. Tilton, R. W. Doms // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* – 2012. – Vol. 2, N 8. – P. a006866. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006866>
7. Computational methods in drug discovery / G. Sliwoski [et al.] // *Pharmacol. Rev.* – 2014. – Vol. 66, N 1. – P. 334–395. <https://doi.org/10.1124/pr.112.007336>
8. *In silico* дизайн и оценка потенциальной активности новых ингибиторов ВИЧ-1 – миметиков первичного рецептора CD4 белка gp120 оболочки вируса / А. М. Андрианов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2017. – Т. 61, № 3. – С. 47–57.
9. AMBER 11 / D. A. Case [et al.]. – San Francisco, Univ. California, 2010. – 296 p.
10. MMPBSA.py: An efficient program for end-state free energy calculations / B. R. Miller [et al.] // *J. Chem. Theory Comput.* – 2012. – Vol. 8, N 9. – P. 3314–3321. <https://doi.org/10.1021/ct300418h>

11. Structure-based design of a small molecule CD4-antagonist with broad spectrum anti-HIV-1 activity / F. Curreli [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 58, N 17. – P. 6909–6927. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00709>
12. Energetics of the HIV gp120-CD4 binding reaction / D. G. Myszka [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – Vol. 97, N 16. – P. 9026–9031. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.16.9026>
13. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody / P. D. Kwong [et al.] // *Nature.* – 1998. – Vol. 393, N 6686. – P. 648–659. <https://doi.org/10.1038/31405>
14. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C. A. Lipinski [et al.] // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2001. – Vol. 46, N 1–3. – P. 3–26. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)
15. Brase S., Banert K. *Organic Azides: Syntheses and applications.* – Wiley, 2009. – 507 p. <https://doi.org/10.1002/9780470682517>

References

1. Wang H.-B., Mo Q.-H., Yang Z. J. HIV vaccine research: The challenge and the way forward. *Journal of Immunology Research*, 2015, vol. 2015, article 503978. <https://doi.org/10.1155/2015/503978>
2. Kumari G., Singh R. K. Highly active antiretroviral therapy for treatment of HIV/AIDS patients: current status and future prospects and the Indian scenario. *HIV & AIDS Review*, 2012, vol. 11, no. 1, pp. 5–14. <https://doi.org/10.1016/j.hivar.2012.02.003>
3. Corti D., Lanzavecchia A. Broadly neutralizing antiviral antibodies. *Annual Review of Immunology*, 2013, vol. 31, no. 1, pp. 705–742. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-095916>
4. Mann J. K., Ndung'u T. HIV-1 vaccine immunogen design strategies. *Virology Journal*, 2015, vol. 12, no. 1, pp. 3. <https://doi.org/10.1186/s12985-014-0221-0>
5. Li W., Lu L., Li W., Jiang S. Small-molecule HIV-1 entry inhibitors targeting gp120 and gp41: a patent review (2010–2015). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2017, vol. 27, no. 6, pp. 707–719. <https://doi.org/10.1080/13543776.2017.1281249>
6. Wilen C. B., Tilton J. S., Doms R. W. HIV: Cell binding and entry. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2012, vol. 2, no. 8, pp. a006866. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006866>
7. Sliwoski G., Kothiwale S., Meiler J., Lowe E.W. Jr. Computational methods in drug discovery. *Pharmacological Reviews*, 2014, vol. 66, no. 1, pp. 334–395. <https://doi.org/10.1124/pr.112.007336>
8. Andrianov A. M., Kashyn I. A., Nikolaev G. I., Tuzikov A. V. *In silico* design and evaluation of the potential activity of novel HIV-1 inhibitors – mimetics of the primary receptor CD4 of the viral envelope gp120 protein. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2017, vol. 61, no. 3, pp. 47–57 (in Russian).
9. Case D. A. AMBER 11. San Francisco, University California, 2010. 296 p.
10. Miller B. R., McGee T. D. Jr., Swails J. M., Homeyer N., Gohlke H., Roitberg A. E. MMPBSA.py: An efficient program for end-state free energy calculations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, vol. 8, no. 9, pp. 3314–3321. <https://doi.org/10.1021/ct300418h>
11. Curreli F., Kwon Y. D., Zhang H., Scacalossi D., Belov D. S., Tikhonov A. A., Andreev I. A., Altieri A., Kurkin A. V., Kwong P. D., Debnath A. K. Structure-based design of a small molecule CD4-antagonist with broad spectrum anti-HIV-1 activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, vol. 58, no. 17, pp. 6909–6927. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00709>
12. Myszka D. G., Sweet R. W., Hensley P., Brigham-Burke M., Kwong P. D., Hendrickson W. A., Wyatt R., Sodroski J., Doyle M. L. Energetics of the HIV gp120-CD4 binding reaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000, vol. 97, no. 16, pp. 9026–9031. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.16.9026>
13. Kwong P. D., Wyatt R., Robinson J., Sweet R. W., Sodroski J., Hendrickson W. A. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature*, 1998, vol. 393, no. 6686, pp. 648–659. <https://doi.org/10.1038/31405>
14. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, vol. 46, no. 1–3, pp. 3–26. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)
15. Brase S., Banert K. *Organic Azides: Syntheses and applications.* Wiley, 2009. 507 p. <https://doi.org/10.1002/9780470682517>

Информация об авторах

Кашин Иван Александрович – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lighkia@gmail.com.

Николаев Григорий Игоревич – аспирант. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Республика Беларусь). E-mail: reshaemvsem@gmail.com.

Тузиков Александр Васильевич – член-корреспондент, д-р физ.-мат. наук, профессор, директор. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tuzikov@newman.bas-net.by.

Андрианов Александр Михайлович – д-р хим. наук, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: andrianov@iboch.bas-net.by.

Information about the authors

Kashyn Ivan Aleksandrovich – Ph. D. (Chemistry), Senior researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lighkia@gmail.com.

Nikolaev Gregory Igorevich – Postgraduate student. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: reshaemvsem@gmail.com.

Tuzikov Alexander Vasilevich – Corresponding Member, D. Sc. (Physics and Mathematics), Professor, Director. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tuzikov@newman.bas-net.by.

Andrianov Alexander Mikhailovich – D. Sc. (Chemistry), Chief researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: andrianov@iboch.bas-net.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

БИОЛОГИЯ
BIOLOGY

УДК 576.8:591.5
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-585-591>

Поступило в редакцию 25.06.2018
Received 25.06.2018

**С. В. Полоз, Е. И. Анисимова, П. Ю. Лобановская, О. Э. Соловей,
В. А. Куделич, Е. Г. Скуратович**

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам,
Минск, Республика Беларусь*

**ХАРАКТЕР АДАПТАЦИОННЫХ МЕХАНИЗМОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ
ПАЗАРИТО-ХОЗЯИНЫХ ОТНОШЕНИЙ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

(Представлено академиком М. Е. Никифоровым)

Аннотация. Экспериментально на лабораторных животных установлено, что адаптационные процессы в организме млекопитающих под воздействием паразитов происходят стадийно: стадия беспокойства, уравнивания и угнетения. Они сопровождаются изменением поведенческих и функциональных реакций, а также гематологических и биохимических показателей крови лабораторных животных. При этом отмечены различные изменения данных показателей при остром и хроническом течении инвазионного процесса. Результаты исследований являются основанием для разработки комплекса мероприятий по оздоровлению животных от инвазий, включающих препараты, позволяющие ускорить восстановительные процессы и адаптацию к изменениям окружающей среды.

Ключевые слова: инвазионный процесс, стадии адаптации, поведение, показатели крови

Для цитирования. Характер адаптационных механизмов при формировании паразито-хозяйных отношений у млекопитающих / С. В. Полоз [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 585–591. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-585-591>

**Sviatlana V. Polaz, Alena I. Anisimava, Palina Y. Labanouskaya, Aksana E. Salavei,
Vasili A. Kudelich, Alena G. Skuratovich**

*Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources,
Minsk, Republic of Belarus*

**CHARACTER OF ADAPTATION MECHANISMS
WHEN FORMING PARASITE-HOST RELATIONS IN MAMMALS**

(Communicated by Academician Mikhail E. Nikiforov)

Abstract. It has been experimentally established that the processes of adaptation of organism under the influence of parasites occur in stages: the stage of anxiety, equilibration and oppression. The are accompanied by a change in behavioral and functional reactions, as well as hematological and biochemical changes in the blood of laboratory animals. At the same time, changes in these parameters were observed in acute and chronic course of the invasive process. The results of the research are the basis for the development and application of drugs-adaptogens, which allow reducing the recovery time of the body against the background of anthelmintic therapy.

Keywords: infection process, the adaptation stage, behavior, blood tests

For citation: Polaz S. V., Anisimava A. I., Labanouskaya P. Y., Salavei A. E., Kudelich V. A., Skuratovich A. G. Character of adaptation mechanisms when forming parasite-host relations in mammals. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 585–591 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-585-591>

Введение. Важным резервом сохранения биологического разнообразия и ресурсов диких копытных является профилактика возникновения и распространения паразитозов [1]. Под влиянием паразитов и их ассоциаций происходит нарушение физиологических процессов в организме животных, которое отражается на выживаемости и темпах роста численности их популяций. В ряде случаев не только снижается продуктивность этих животных, но, при сочетании с другими неблагоприятными условиями, может происходить массовый падеж [2]. Паразиты способны вызывать угнетение иммунной системы, провоцировать развитие внутренних незаразных болезней, повышать восприимчивость к инфекциям. Современное управление популяциями диких копытных предполагает реализацию таких мероприятий, как отлов и перемещение (транспортирование) животных. Результатом таких мероприятий часто является развитие стрессового состояния у животных, негативное влияние которого может усугубляться под воздействием паразитов.

Иммунитет при гельминтозах имеет свои особенности, которые зависят от физиологических и экологических характеристик отдельных видов гельминтов [3]. Происходящие при гельминтозах изменения в органах и тканях служат показателем нарушения обмена веществ, наличия дистрофических процессов, аллергических и иммуноморфологических реакций, т. е. являются ответной реакцией организма на патогенное действие гельминта [4]. Целью наших исследований было изучение адаптационных способностей к стрессам у млекопитающих на фоне формирования паразито-хозяйинных отношений.

Материалы и методы исследования. Определение адаптационных способностей на фоне формирования паразито-хозяйинных отношений у млекопитающих проводили в условиях эксперимента методом «Открытое поле». В основу его положены наблюдения за характерными реакциями экспериментальных животных на изменения окружающих условий [5]. В ходе эксперимента изучалась локомоторная и вегетативная активности, исследовательское и стрессовое поведение, гематологические и биохимические показатели крови лабораторных животных (белые беспородные мыши массой тела 19–23 г). Животные были подразделены на следующие группы: контрольные животные ($n = 30$) и экспериментальные животные ($n = 60$), зараженные инвазионными яйцами *Neoscaris vitulorum* и *Trichuris muris*. Реакции животных определяли на 15-е, 30-е, 60-е сутки от начала инвазии, что связано с особенностями биологии видов паразитов, используемых в эксперименте. Эксперимент проводился при стандартных условиях. Каждое животное тестировалось 2 мин. Для сравнения средних значений двух выборок использовали t -тест (при нормальном распределении) и U -тест Манна–Уитни (для остальных). Коэффициент подвижности демонстрировал выраженность стрессового поведения на фоне общей горизонтальной подвижности особи. Двигательная активность характеризовала общий уровень локомоторной активности, вызванный поисковым поведением.

Исследования крови проводили при помощи компьютеризированного лабораторного комплекса IDEXX (США).

Результаты и их обсуждение. Результаты наших исследований показали, что процессы адаптации организма млекопитающих, формирующиеся на фоне инвазии, происходят по стадиям. Первая стадия беспокойства. Она характеризовалась уменьшением следующих показателей поведения: горизонтальной двигательной активности (ГДА), вертикальной двигательной активности (ВДА), груминга (Г), времени начала движения (ЛВНД), числа посещенных периферических секторов (ЧПС), числа посещенных внутренних секторов (ЧВС), коэффициента подвижности (КП), общей двигательной активности (ДА). Отмечалось значительное увеличение таких показателей, как проявление стресса (СП), количество уринаций (У) и дефекаций (Д) за 1 и 2 мин. В результате статистической обработки данных по двум выборкам было установлено значительное различие средних значений показателей ГДА, ВДА, СП, У, Д, Г (2-я минута), ЛВНД, ЧПС (2-я минута), ЧВС (2-я минута), КП, ДА ($p > 0,05$), что соответствует острому течению инвазионного процесса. У животных контрольной группы отмечались незначительные различия в значениях Г (1-я минута), но при отсутствии дополнительных стрессовых факторов на 2-й минуте наступала фаза привыкания, и животные начинали проявлять поведение, направленное на поддержание чистоты и правильного положения шерсти. У опытных животных такое проявление

комфортного поведения отсутствовало. Животные опытной группы были возбуждены, беспокоились и метались из стороны в сторону, при этом регистрировали посещение большего количества периферических секторов. При этом ГДА опытной группы было в 1,5–2 раза меньше, чем у животных контрольной группы. Показатель ЧВС у животных 1 и 2 группы был менее 1, что связано со стрессовым поведением на 1-й минуте опыта. Однако на 2-й минуте интактные животные начинали посещать внутренние области опытного поля, тем самым проявляя исследовательское поведение, в то время как зараженные гельминтами животные продолжали проявлять стрессовое поведение. У опытных животных наблюдали усиление аппетита, усвоения и выведения корма. Данная стадия соответствует острому течению инвазионного процесса.

На 30-й день исследований нормальное распределение наблюдали в выборке ($p > 0,05$) для таких показателей, как ГДА, ВДА, ЧПС, КП (2-я минута), ДА (1-я минута). В этот период острые поведенческие явления возбудимости и тревоги постепенно стихали, улучшались гематологические и биохимические показатели крови, восстанавливалась функциональная активность пищеварительной системы. В поведении животных наступало относительное равновесие. Данную стадию определяли как стадию резистентности.

Третья стадия угнетения. Она характеризуется нормальным распределением в выборке ($p > 0,05$) для таких показателей поведенческого проявления, как ГДА (2-я минута), ВДА (1-я минута), ЧПС (1-я минута). У животных опытной группы отмечали резкое уменьшение показателей ГДА, ВДА, Г (2-я минута), ЧПС, ЧВС (2-я минута), КП, ДА, У и Д. При этом количество посещенных периферических секторов было меньше, так как животные были угнетены и малоактивны. В то же время наблюдали значительное увеличение показателей СП и ЛВНД, а также снижение аппетита или отказ от корма. Эта стадия соответствовала хроническому течению инвазионного процесса.

На 15-й день опыта у животных опытной группы изменяется ряд поведенческих реакций, характеризующихся возбуждением, беспокойством. На 30-й день острые поведенческие явления постепенно стихают. В поведении животных наступает относительное равновесие, нормализуется функциональное состояние пищеварительной системы. На 60-й день опыта у животных опытной группы также отмечают изменения ряда показателей поведенческого проявления, однако они характеризуются сильной степенью угнетения и более значительной выраженностью стрессового воздействия.

Поскольку все системы и органы организма находятся в тесной функциональной взаимосвязи, нарушение функциональной активности какого-либо органа может привести к нарушению функций других органов и систем организма. Для определения влияния инвазии на организм животных нами были изучены гематологические и биохимические исследования крови. Ряд ферментов позволяет оценить работоспособность и основные детоксикационные функции печени и состояние некоторых других органов. Известно, что в мембране эпителия желчевыводящих протоков различные ферменты расположены близко друг к другу, поэтому при деструкции мембран их активность в кровотоке повышается одновременно и в равной степени. Нарушение их функции также может быть связано с изменением состояния мембран клеток, о чем и свидетельствует повышение активности таких индикаторных ферментов, как аланинаминотрансфераза (АлАТ) и аспартатаминотрансфераза (АсАТ) при биохимическом исследовании сыворотки крови животных, зараженных гельминтами. Это происходит к 15-м и 60-м суткам эксперимента. Вышеупомянутый комплекс структурно-метаболических изменений мог привести к снижению обезвреживающей функции печени. Показатели крови животных контрольной группы оставались в пределах физиологической нормы, у инвазированных животных имели достоверно высокие значения активности по сравнению с контрольными животными. Биохимическое исследование крови показало статистически значимое снижение показателей общего белка, а также повышение уровней АлАТ и АсАТ в крови инвазированных животных. Реактивные изменения в эпителии желчевыводящих путей и плазматических мембранах гепатоцитов мы оценивали на основании активности экскреторного фермента эндотелия желчных протоков – щелочной фосфатазы (ЩФ) [6]. У инвазированных животных выявили увеличение щелочной фосфатазы, что может свидетельствовать о внутрипеченочной обтурации. Также существует мнение, что повы-

шение активности ЩФ при некоторых поражениях печени (механические гепатиты, токсикозы) объясняется задержкой выделения фосфатазы желчью из-за поражения паренхимы печени и увеличением синтеза фермента купферовскими клетками в результате активации регенераторных процессов в печеночной ткани [7] (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Биохимические показатели крови в различные сроки инвазии

T a b l e 1. Biochemical parameters of blood at various times of infection process

Группа животных Group of animals	Срок развития инвазии The timing of the development of infestation		
	15-е сутки 15th day	30-е сутки 30th day	60-е сутки 60th day
АлАТ, Ед/л (M ± m)			
Контрольная группа	49,5 ± 0,37	50,1 ± 0,26	50,58 ± 0,21
Опытная группа	102,64 ± 0,14*	74,07 ± 0,68*	92,37 ± 0,8*
АсАТ, Ед/л (M ± m)			
Контрольная группа	115,45 ± 0,38	115,6 ± 0,25	115,7 ± 0,36
Опытная группа	239,41 ± 1,5*	143,59 ± 0,72*	232,72 ± 1,3*
ЩФ, Ед/л (M ± m)			
Контрольная группа	118,18 ± 0,46	119,73 ± 0,42	120,27 ± 0,28
Опытная группа	243,43 ± 1,6*	153,8 ± 0,76*	236,5 ± 1,6*
Общий белок, г/л (M ± m)			
Контрольная группа	56,84 ± 0,21	56,31 ± 0,27	56,83 ± 0,21
Опытная группа	48,6 ± 0,17*	53,9 ± 0,5	51,8 ± 0,23

П р и м е ч а н и е. * – $p \leq 0,05$.

N o t e. * – $p \leq 0.05$.

Заражение мышей гельминтами вызывает заметное повышение активности ферментов сыворотки крови – АлАТ и АсАТ и уровня ЩФ по сравнению с контрольными животными. Проведенные исследования свидетельствуют о нарушении метаболизма гепатоцитов, что приводит к снижению обезвреживающей функции печени. Это можно объяснить, вероятно, токсическим действием продуктов жизнедеятельности гельминтов.

При исследовании клеток крови в контрольной группе у животных отмеченные гематологические показатели соответствовали физиологическим нормам. У мышей опытной группы содержание гемоглобина на 15-й день составляло $33,5 \pm 0,55$ г/л, что на 34,4 % ниже, чем у мышей контрольной группы. В последующие дни исследований содержание гемоглобина увеличилось, однако по-прежнему оставалось на низком уровне в сравнении со здоровыми мышами. Происходит снижение уровня эритроцитов. Минимальное содержание эритроцитов в крови у опытных животных было на 15-й день исследований и составило $(2,53 \pm 0,1)10^{12}$ /л, что на 48,2 % ниже физиологической нормы.

Содержание лейкоцитов в крови зараженных гельминтами мышей увеличивалось в сравнении с контрольной группой, максимальное значение было на 15-й день исследований и составило $5,23 \pm 0,19$, что связано с развитием токсических явлений при остром течении инвазионного процесса (табл. 2).

Количество эозинофилов в крови мышей в контрольной группе в период проведения всего эксперимента колебалось в пределах $6,8 \pm 0,17$ %, что соответствует физиологической норме. Уровень эозинофилов у зараженных животных был выше, чем у здоровых животных. Наибольшее увеличение показателей было зафиксировано на 15-е и 60-е сутки от начала эксперимента и составило $14,0 \pm 0,24$ и $14,6 \pm 0,25$ % соответственно.

В результате проведенных исследований крови было установлено, что гельминты влияют на физиологическое состояние животных, которое проявляется изменением биохимических и гематологических показателей. Заражение лабораторных животных *Neoscaris vitulorum* и *Trichuris muris* сопровождается снижением эритроцитов на 46,3 % и уровня гемоглобина на 41,3 %, что приводит к развитию анемии. Степень анемии зависит от длительности заболевания. Острое

Т а б л и ц а 2. Гематологические показатели в различные сроки инвазии
 T a b l e 2. Hematologic parameters of blood at various times of infection process

Группа животных Group of animals	Срок развития инвазии The timing of the development of infestation		
	15-е сутки 15th day	30-е сутки 30th day	60-е сутки 60th day
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ ($M \pm m$)			
Контрольная группа	2,02 \pm 0,07	2,5 \pm 0,09	2,36 \pm 0,08
Опытная группа	5,23 \pm 0,19*	3,28 \pm 0,11	4,13 \pm 0,11
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$ ($M \pm m$)			
Контрольная группа	5,25 \pm 0,12	5,42 \pm 0,07	5,87 \pm 0,04
Опытная группа	2,53 \pm 0,1*	4,43 \pm 0,06	2,72 \pm 0,07*
Гемоглобин, г/л ($M \pm m$)			
Контрольная группа	97,4 \pm 0,23	109,6 \pm 0,26	107,2 \pm 0,34
Опытная группа	33,5 \pm 0,55*	70,9 \pm 0,45*	65,9 \pm 0,47*
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$ ($M \pm m$)			
Контрольная группа	408,8 \pm 0,4	410,8 \pm 0,49	415,7 \pm 0,41
Опытная группа	301,2 \pm 0,4	380,7 \pm 0,87	303,2 \pm 0,32
Лимфоциты, % ($M \pm m$)			
Контрольная группа	65,9 \pm 0,2	67,4 \pm 0,3	65,2 \pm 0,8
Опытная группа	51,5 \pm 0,35	54,3 \pm 0,5	49,6 \pm 0,3*
Моноциты, % ($M \pm m$)			
Контрольная группа	34,6 \pm 0,32	35,3 \pm 0,27	36,2 \pm 0,25
Опытная группа	21,7 \pm 0,3*	26,4 \pm 0,4	24,7 \pm 0,54
Эозинофилы, % ($M \pm m$)			
Контрольная группа	7,1 \pm 0,12	6,6 \pm 0,14	6,7 \pm 0,12
Опытная группа	14,0 \pm 0,24*	8,1 \pm 0,24	14,6 \pm 0,25*

Примечание. * – $p \leq 0,05$.

Note. * – $p \leq 0.05$.

течение инвазионного процесса сопровождается резким снижением показателей эритроцитов и гемоглобина вследствие специфического воздействия гельминтов на организм хозяина. Также происходит увеличение количества лейкоцитов на 17,5 % в сравнении с контрольными животными и уменьшение содержания лимфоцитов на 7,6 % (табл. 2).

Таким образом, формирование адаптации к стрессовым воздействиям на фоне инвазии характеризуется тремя стадиями. При этом стадии беспокойства и угнетения соответствуют острому и хроническому течению инвазионного процесса. Первая стадия связана с мобилизацией ресурсов организма млекопитающих в процессе перестроений определенной направленности с целью стимуляции механизмов адаптации к внешним изменениям. Вторую стадию отличает устойчивая долговременная адаптация, выражающаяся в наличии необходимого резерва для обеспечения нового уровня функционирования организма млекопитающих, стабильности функциональных структур, тесной взаимосвязи регуляторных и исполнительных органов. Третья стадия связана с нарушением процессов функционального и структурного равновесия и усугублена развитием токсических процессов на фоне инвазии. Она характеризуется сильной степенью угнетения и значительной выраженностью стрессового воздействия. Применение антигельминтных препаратов, побочным действием которых является иммунодепрессивный эффект [8] может снижать резистентность к изменяющимся факторам окружающей среды. В связи с этим объяснимо развитие осложнений у млекопитающих после транспортировки на фоне проведения дегельминтизации.

Заключение. Возникновение и течение инвазионных процессов приводит к снижению адаптационных способностей организма млекопитающих. С развитием токсических явлений происходит усугубление патологического воздействия гельминтов, что требует от организма млекопитающих усиленной мобилизации структурных и функциональных ресурсов. Именно в этот

период в результате исчерпания генетически детерминированных способностей к приспособительным изменениям происходит истощение организма млекопитающих. Чрезмерное или часто повторяющееся воздействие гельминтов, либо появление других стресс-факторов (например, отлов, транспортировка, передержка животных) может вызвать быстрое истощение и критическое угнетение функциональных систем организма. Потому важно иметь возможность адекватной оценки физиологического состояния животных, эффективного применения в случае необходимости комплекса профилактических или поддерживающих препаратов (противопаразитарных, детоксикационных, адаптогенных), а также мер для предупреждения развития отрицательных явлений, сохранения состояния устойчивой адаптации без перехода к третьей стадии стрессовой реакции – угнетению.

Благодарности. Авторы выражают признательность сотрудникам Института экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелеского за оказанную помощь в проведении экспериментальных исследований.

Acknowledgements. The authors are grateful to the staff of the Institute of Experimental Veterinary Medicine named after S. N. Vyshlesky for their assistance in conducting experimental studies.

Список использованных источников

1. Анисимова, Е. И. Гельминтофауна диких копытных животных Беларуси / Е. И. Анисимова, В. А. Пенькевич. – Минск: Беларуская навука, 2016. – 241 с.
2. Полоз, С. В. Способ коррекции патогенного влияния ассоциаций паразитов на организм млекопитающих / С. В. Полоз, Е. И. Анисимова, Д. Г. Юрченко // Теория и практика паразитарных болезней животных. – 2016. – № 17. – С. 352–354.
3. Полоз, С. В. Иммунологическая реактивность организма млекопитающих под влиянием эконопаразитозов / С. В. Полоз, Е. И. Анисимова // Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики паразитарных заболеваний: труды IX Республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 80-летию кафедры медицинской биологии и общей генетики и УО «Витебский государственный медицинский университет». – Витебск: ВГМУ, 2014. – С. 15–22.
4. Баркалова, Н. В. Биохимическое обоснование комплексной терапии при гельминтозах у жвачных животных / Н. В. Баркалова // Весн. Віцебскага дзяржаўнага ўн-та. – 2011. – Т. 3, № 63. – С. 32–38.
5. Хвир, В. И. Эксперимент «Открытое поле»: Методические указания к лабораторным занятиям по специальному курсу «Основы этологии» / В. И. Хвир. – Минск: БГУ, 2010. – 26 с.
6. Титов, В. Н. Патологические основы лабораторной диагностики заболеваний печени / В. Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 1996. – № 1. – С. 3–9.
7. Медицинские лабораторные технологии и диагностики: справочник / под ред. А. И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 1999. – Т. 2. – 656 с.
8. Протозойные инвазии и гельминтозы человека [Электронный ресурс] / В. М. Борзунов [и др.]. – Екатеринбург, 2004. – Режим доступа: https://xn--80ahc0abogjs.com/59_patologicheskaya-anatomiya_805/razdel-antigelmintnyie-sredstva-antigelmintiki-68481.html. – Дата доступа: 03.10.2018.

References

1. Anisimova A. I., Penkevich V. A. *Helminth fauna of wild hoofed animals in Belarus*. Minsk, Belaruskaya Navuka Publ., 2016. 241 p. (in Russian).
2. Poloz S. V., Anisimova A. I., Yurchenko D. G. A method for correcting the pathogenic effect of parasite associations on the mammalian organism. *Teoriya i praktika parazitarnykh bolezney zhyvotnykh = Theory and practice of parasitic animal diseases*, 2016, no. 17, pp. 352–354 (in Russian).
3. Poloz S. V., Anisimova A. I. Immunological reactivity of the mammalian organism under the influence of eco-parasitoses. *Sovremennyye aspekty patogeneza, kliniki, diagnostiki, lecheniya i profilaktiki parazitarnykh zbolevaniy: trudy IX Respublikanskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoi 80-letiyu kafedry meditsinskoi biologii i obshchei genetiki i UO "Vitebskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet"* [Modern aspects of pathogenesis, clinics, diagnosis, treatment and prevention of parasite diseases: Proceedings of IX Republican Scientific-Practical Conference with the Participation of Foreign Specialists devoted to the 80th Anniversary of the Chair of Medical Biology and General Genetics and EE "Vitebsk State Medical University"]. Vitebsk, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, 2014, pp. 15–22 (in Russian).
4. Barkalova N. V. Biochemical substantiation of complex therapy for helminthiasis in ruminant animals. *Viesnik Viciebskaha dzjarzhaunaha universiteta = Proceedings of the Vitebsk State University*, 2011, vol. 3, no. 63, pp. 32–38 (in Russian).
5. Hvir V. I. *The Open Field Experiment: Methodical instructions to laboratory classes on a special course "Fundamentals ethology"*. Minsk, Belarussian State University, 2010. 26 p. (in Russian).
6. Titov V. N. Pathophysiological basis of laboratory diagnostics of liver diseases. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical laboratory diagnostics*, 1996, no. 1, pp. 3–9 (in Russian).

7. Karpischenko A. I., ed. *Medical laboratory technologies and diagnostics: a directory*. Vol. 2. Saint Petersburg, Intermedika Publ., 1999. 656 p. (in Russian).

8. Borzunov V. M., Verevshchikov V. K., Dontsov G. I., Zvereva L. I., Kuznetsov P. L. *Protozoan invasions and human helminths*. Ekaterinburg, 2004. Available at: https://xn--80ahc0abogjs.com/59_patologicheskaya-anatomiya_805/razdel-antigelmintnyie-sredstva-antigelmintiki-68481.html (accessed 3 October 2018) (in Russian).

Информация об авторах

Полоз Светлана Васильевна – канд. вет. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ana.poloz@gmail.com.

Анисимова Елена Ивановна – д-р биол. наук, доцент. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: anis-zoo@yandex.ru.

Лобановская Полина Юрьевна – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lobanovskaya_polina@inbox.ru.

Соловей Оксана Эдуардовна – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: oksanka-verbitskaya@mail.ru.

Куделич Василий Алексеевич – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vasfur@gmail.com.

Скуратович Елена Григорьевна – мл. науч. сотрудник. Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: baka_L@mail.ru.

Information about the authors

Polaz Sviatlana Vasilievna – Ph. D. (Veterinary), Leading researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ana.poloz@gmail.com.

Anisimova Alena Ivanovna – D. Sc. (Biology), Assistant Professor. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anis-zoo@yandex.ru.

Labanouskaya Palina Yurjevna – Junior researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lobanovskaya_polina@inbox.ru.

Salavei Aksana Eduardovna – Junior researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: oksanka-verbitskaya@mail.ru.

Kudzelich Vasili Alekseevich – Junior researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vasfur@gmail.com.

Skuratovich Alena Grigorievna – Junior researcher. Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: baka_L@mail.ru.

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 579.832/833:577.212.3

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-592-600>

Поступило в редакцию 12.07.2018

Received 12.07.2018

**М. А. Титок, Л. Н. Валентович, А. В. Бережная,
член-корреспондент Э. И. Коломиец**

Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

АНАЛИЗ ГЕНОМА БАКТЕРИЙ *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* БИМ В-439Д

Аннотация. Согласно результатам анализа полной нуклеотидной последовательности бактерий *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д, установлено, что геном штамма является уникальным и представлен одной кольцевой хромосомой размером 3978134 пар нуклеотидов, содержащей 46,50 % Г/Ц-пар. Определены ключевые генетические локусы, детерминирующие синтез антимикробных метаболитов: липопептидов (сурфактин, фенгизин, бацилломицин D), дипептида (бацилизин), сидерофора (бациллибактин), поликетидных антибиотиков (диффицидин/оксидиффицидин, бациллин и макролактин), циклического бактериоцина (амилоциклин), а также пептида/поликетид (предположительно – тироцидин), охарактеризованы системы рестрикции-модификации и мобильные генетические элементы (IS-элементы и профаги). Выявленные особенности в организации и локализации отдельных генетических детерминант (например, интактный профаг размером 37558 п. н.) могут использоваться в качестве надежных молекулярно-генетических маркеров для быстрой идентификации штамма при его коммерческом использовании. Полная нуклеотидная последовательность генома может служить основой для детального функционального анализа практически значимых свойств микроорганизмов группы *Bacillus*.

Ключевые слова: *Bacillus*, геном, профаг, метаболиты, антимикробная активность

Для цитирования. Анализ генома бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-439Д / М. А. Титок [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 592–600. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-592-600>

**Marina A. Titok, Leonid N. Valentovich, Anastasiya V. Berezhnaya,
Corresponding Member Emiliya I. Kolomiets**

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

ANALYSIS OF THE GENOME OF THE BACTERIA *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* BIM B-439D

Abstract. According to the results of the analysis of the complete nucleotide sequence of *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* BIM B-439D, it is established that the genome of the strain is unique and is represented by a single ring chromosome with a size of 3978134 base pair containing 46.5 % G/C-pairs. The key genetic loci determining synthesis of antimicrobial metabolites are defined: lipopeptides (surfactin, fengycin, bacillomycin D), dipeptide (bacilysin), siderophore (bacillibactin), polyketide antibiotics (difficidin and oxydifficidin, bacillaene and macrolactin), bacteriocin (amylocyclicin) and peptide/polyketide (putative – tyrocidin), restriction-modification systems and mobile genetic elements (IS-elements and prophages) are characterized. The identified features in the organization and localization of individual genetic determinants (for example, intact prophage of 37558 bp) can be used as reliable molecular genetic markers for fast identification of the strain when it is used commercially. The complete nucleotide sequence of the genome can serve as the basis for a detailed functional analysis of the practically significant properties of the microorganisms of the *Bacillus* group.

Keywords: *Bacillus*, genome, prophage, metabolites, antimicrobial activity

For citation: Titok M. A., Valentovich L. N., Berezhnaya A. V., Kolomiets E. I. Analysis of the genome of the bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* BIM B-439D. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 592–600 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-592-600>

Введение. Производители сельскохозяйственной продукции во всем мире проявляют большую заинтересованность в биологических средствах защиты растений, позволяющих сократить использование химических препаратов и получить качественные продукты питания. В качестве

основы биопрепаратов применяются природные микроорганизмы (бактерии, грибы и вирусы), продуцирующие широкий спектр биологически активных соединений, обеспечивающих подавление патогенов и стимулирующих рост и развитие растений. В этом плане особый интерес представляют повсеместно распространенные бактерии *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* и близкородственные *B. velezensis*, характеризующиеся способностью вступать в плотный контакт с растением (в частности, с корневой системой), продуцировать широкий спектр вторичных метаболитов антимикробного действия, активировать системы иммунного ответа растений и синтезировать гормоны, стимулирующие их рост [1]. В последнее время большую популярность приобретают биофунгициды, основу которых составляют бактерии этой систематической группы (например, биопрепараты Serifel, Integral Pro, Velondis Extra используются в Южной и Центральной Америке, Азии, Франции и Германии). В тепличных хозяйствах Республики Беларусь для защиты огурцов и томатов от болезней разной этиологии применяется зарегистрированный биопестицид Бетапротектин, в состав которого входят бактерии *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д. Данные микроорганизмы, выделенные из образца дерново-подзолистой почвы на территории Минской области, проявляют выраженную антимикробную активность по отношению к фитопатогенным грибам *Fusarium oxysporum*, *Botrytis scinerea*, *Penicillium expansion*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria tenuis*, *Phoma betae* и бактериям *Xantomonas campestris* pv. *campestris*, *Pectobacterium carotovorum*, *Pseudomonas syringae*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* и *Agrobacterium tumefaciens*, вызывающим различного рода заболевания сельскохозяйственных и декоративных растений (в частности, рак, гнили, пятнистости и др.).

В настоящее время для детального изучения важных практически микроорганизмов широко используется полногеномное секвенирование. Данная технология позволяет оценить генетический потенциал организма, научно обосновать его биологическую безопасность и создать исчерпывающий генетический паспорт для коммерческого использования, а также заложить основу для изучения тонких молекулярно-генетических механизмов, определяющих функциональную активность.

Цель работы – первичный анализ полной нуклеотидной последовательности генома *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д.

Материалы и методы исследования. Бактерии *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д выращивали в полноценной жидкой среде ГВ [2]. Тотальную ДНК выделяли с помощью набора реагентов «Bacteria DNA Preparation Kit» (Jena Bioscience GmbH). Для подготовки библиотек ДНК для секвенирования применяли набор Nextera XT (Illumina). Высокопроизводительное определение нуклеотидных последовательностей проводили на приборе MiSeq (Illumina), используя комплект реактивов MiSeq Reagent Kit v3 2 × 300 циклов (Illumina). Для оценки качества полученных данных применяли программу FastQC [3]. Прочтения с низким качеством отфильтровывали с помощью программы Trimmomatic-0.36 [4]. Сборку прочтений осуществляли с помощью программы SPAdes-3.11.1 [5]. Картирование прочтений на собранные последовательности ДНК производили с помощью программы Bowtie 2.2.7 [6], что позволило оценить правильность работы программы ассемблера. Объединение контигов в кольцевую хромосому осуществляли, используя опубликованные данные о геномах близкородственных бацилл из базы данных ГенБанк. Предварительную аннотацию генома проводили с помощью системы RAST 2.0 [7] и PROKKA 1.12 [8]. Сравнение полученных нуклеотидных последовательностей с доступными последовательностями из базы данных ГенБанк проводили с помощью программ BLASTN 2.3.1 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) и Mauve 2.4.0 [9]. Поиск профаговых последовательностей осуществлялся с помощью веб-сервиса PHASTER [10]. Рисунки генетических локусов составляли с помощью веб-сервиса Gene Graphics [11].

Результаты и их обсуждение. Анализ общей структуры генома бактерий *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д в сравнении с изученными в этом отношении микроорганизмами позволил установить характерные особенности, свойственные микроорганизмам данной

систематической группы, а также выявить уникальные свойства исследуемого штамма. На настоящий момент в ГенБанк депонированы полные нуклеотидные последовательности 56 геномов *B. velezensis*, 22 генома *B. amyloliquefaciens* и значительное число близких к ним представителей рода *Bacillus*. Такой объем доступной научной информации позволяет детально проанализировать полученные в результате секвенирования данные, а также свидетельствует о большом научном интересе, проявляемом в мире к бактериям данной систематической группы. Следует отметить, что ряд типичных представителей вида *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* в разных литературных источниках фигурирует как *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* или *B. velezensis* (например, в ГенБанке наиболее изученный штамм FZB42 обозначен как *B. velezensis*, в то же время в научных публикациях он фигурирует как *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*). Такая неоднозначность в классификации в целом характерна для микроорганизмов в силу их внутривидового разнообразия. В связи с вышесказанным, для лучшего восприятия приведенных ниже результатов необходимо учитывать, что эти два вида являются практически идентичными и только дело времени, чтобы они получили одно унифицированное название.

Геном исследованных бактерий представлен одной кольцевой хромосомой размером 3978134 п. н., содержащей 46,50 % Г/Ц-пар. В состав хромосомы входит 3912 открытых рамок считывания, способных определять синтез 3798 полипептидов, а также молекул рРНК и тРНК. При этом гены, кодирующие субъединицы рибосом, как правило, расположены несколькими кластерами (5S, 16S, 23S). В хромосоме бактерий *B. velezensis* (например, штамм G341, CP011686) и *B. amyloliquefaciens* (например, штамм UCMB5033, HG328253) встречается до 10 кластеров генов, кодирующих рРНК. В хромосоме исследуемых бактерий присутствует 9 генетических локусов, определяющих синтез 27 молекул рРНК. Практически для всех бактерий этой таксономической группы характерно большое число генов, кодирующих синтез тРНК. Их количество варьирует от 51 у штамма *B. velezensis* SB 1216 (CP015417) до 95 у штамма *B. velezensis* G341 (CP011686). Анализируемый штамм содержит 86 генов, детерминирующих синтез тРНК. Следует отметить, что такое большое содержание в клетке компонентов аппарата трансляции свидетельствует о высокой эффективности синтеза белка, и следовательно, активных процессах метаболизма. В подтверждение можно привести данные RAST-анализа генома *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д в сравнении с известными представителями этой группы бактерий. Как видно из данных, приведенных в табл. 1, наибольшее число генетических детерминант в клетке определяет метаболизм углеводов (от 413 до 423 генов), аминокислот (от 437 до 438 генов), белков (от 166 до 196 генов), жирных кислот, липидов, изопреноидов (от 138 до 141 гена), а также синтез кофакторов, витаминов, простетических групп и пигментов (от 230 до 241 гена). Это вполне закономерно, поскольку данные микроорганизмы продуцируют широкий спектр антибиотикоподобных соединений нерибосомной природы, для синтеза которых требуется активный углеводный обмен, в ходе которого образуются ключевые субстраты. Среди множества синтезируемых белков важную роль играют ферменты, определяющие поступление в клетку сахаров и этапы их окисления (пермеазы, гидролазы). В результате этих процессов образуются, в частности, пируват, 2-оксо-глутарат, оксалоацетат и ацетил-КоА, которые являются предшественниками синтеза аминокислот, жирных кислот, поликетидов и целого ряда других жизненно важных метаболитов. Следует отметить, что присутствующий в геноме исследуемых бактерий ген *sacA*, кодирующий фермент сахарозо-6-фосфатгидролазу, участвующий в первичном расщеплении сахаров, полностью идентичен таковым многих представителей *B. amyloliquefaciens* и *B. velezensis*.

Анализ хромосомной ДНК бактерий *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д позволил выявить два варианта инсерционных элементов семейства IS3 (6 копий варианта IS150A и 6 копий IS150B размером 1285 и 1284 п. н. соответственно), отличающихся между собой заменами, вставками и делениями отдельных нуклеотидов, затрагивающими порядка 130 позиций. При этом все обнаруженные IS-последовательности локализируются между генами, не нарушая

Т а б л и ц а 1. Вклад отдельных генетических детерминант в общий метаболизм клетки бактерий, обладающих антимикробной активностью и стимулирующих рост растений

Table 1. Contribution of individual genetic determinants to the general metabolism of bacteria cells with antimicrobial activity and stimulating plant growth

Генетические детерминанты, определяющие в клетке Genetic determinants that determine in the cell	Штамм Strain					
	БИМ В-439Д		FZB42*		GH1-13*	
	всего	%	всего	%	всего	%
Метаболизм белка	182	6,79	166	6,07	196	7,18
Метаболизм углеводов	414	15,45	423	15,46	413	15,13
Метаболизм аминокислот и их производных	438	16,34	437	15,97	439	16,10
Метаболизм нуклеозидов и нуклеотидов	117	4,37	122	4,46	121	4,43
Метаболизм жирных кислот, липидов, изопrenoидов	138	5,15	141	5,15	141	5,16
Метаболизм ароматических соединений	12	0,45	13	0,48	12	0,44
Метаболизм РНК	158	5,90	159	5,81	155	5,68
Метаболизм ДНК	79	2,95	112	4,09	98	3,59
Метаболизм серы	39	1,45	39	1,42	43	1,57
Метаболизм фосфора	29	1,08	31	1,13	31	1,13
Метаболизм азота	31	1,16	31	1,13	29	1,06
Системы, определяющие баланс калия	10	0,38	10	0,37	9	0,33
Поступление железа в клетку	29	1,08	31	1,13	29	1,06
Синтез кофакторов, витаминов, простетических групп, пигментов	233	8,69	241	8,81	230	8,42
Клеточное деление и клеточный цикл	53	1,98	52	1,90	54	1,98
Подвижность и хемотаксис	88	3,28	87	3,18	87	3,19
Регуляция и сигнальные системы	61	2,28	58	1,12	63	2,31
Вторичный метаболизм	5	0,19	12	0,44	5	0,18
Состояние покоя и споруляции	116	4,33	126	4,61	119	4,36
Процессы дыхания	75	2,80	73	2,67	74	2,71
Ответ на стрессовые факторы	107	3,99	106	3,87	112	4,10
Системы транспорта через клеточную мембрану	72	2,69	70	2,56	69	2,53
Клеточная стенка, синтез капсулы	133	4,96	131	4,81	136	4,98
Клеточная защита	61	2,28	65	2,38	65	2,38
Всего	2680	100	2736	100	2730	100

Примечание. Для штамма *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д приведены данные RAST-анализа. Для штаммов *B. amyloliquefaciens* FZB42 и *B. velezensis* GH1-13 аналогичные данные заимствованы из литературных источников [12].

Note. The data of the RAST-analysis are given for the strain *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* BIM В-439D. For strains *B. amyloliquefaciens* FZB42 and *B. velezensis* GH1-13, similar data are taken from literature data [12].

Т а б л и ц а 2. Характеристика профагов бактерий *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д

Table 2. Characteristic of prophages bacteria *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* BIM В-439D

Координаты профага (размер, п. н.) Prophage coordinates (size, b. p.)	Наиболее схожий фаг Most similar phage			В хромосоме исследуемых бактерий In the chromosome of the studied bacteria	
	Название Phage name	Бактерия-хозяин Host bacterium	№ в ГенБанке NCBI No. in GenBank NCBI	Геном фага Phage genome	Количество фаговых генов, кодирующих белки Number of phage genes encoding proteins
1183850–1215481 (31631 п. н.)	phiCT453A	<i>Clostridium tetani</i> ATCC 453	NC_028991	неполный	45
1995258–2032815 (37558 п. н.)	SANTOR1	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	NC_031051	полный*	27
2647315–2684906 (37 592 п.н.)	phi105	<i>Bacillus subtilis</i>	NC_004167	полный	41

Примечание. Данные получены с использованием программы PHASTER; * – в геноме фага присутствуют типичные att-сайты (attL и attR).

Note. Data obtained using PHASTER; * – in the genome of the phage are present a typical att-sites (attL and attR).

открытых рамок считывания. Следует отметить, что подобного типа мобильные элементы встречаются в геномах бактерий *B. amyloliquefaciens* и *B. velezensis* [13]. В частности, в хромосоме штамма *B. velezensis* G341 (выделен из 4-летних корней женьшеня в Корее) присутствует 10 копий IS150A и 4 копии IS150B, а в хромосоме *B. amyloliquefaciens* FZB42 (выделен из зараженной патогенами почвы в Германии) обнаруживается 3 копии только IS150A. В то же время штамм *B. amyloliquefaciens* Y2, изолированный из ризосферы пшеницы в Китае, вообще их не содержит (результаты BLASTN-анализа). Помимо IS-элементов в геноме бактерий *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д обнаружено два полноразмерных и один дефектный профаг (табл. 2). Один из полноразмерных вирусов (37558 п. н.), предположительно относящийся к группе *Caudovirus*, имеет уникальную локализацию (координаты 1995258–2032815), не сходную с ортологичными последовательностями, обнаруживаемыми в хромосомах некоторых других представителей подвида *B. amyloliquefaciens* subsp. *amyloliquefaciens* (например, штамм DSM7). Последовательность встроенного фага содержит 37 % Г/Ц-пар, что практически на 10 % меньше, чем в хромосоме клетки хозяина. Другой нуклеотидный состав встроенного профага свидетельствует в пользу того, что общий предок данных бактерий не содержал этого вируса и его интеграция в хромосому произошла относительно недавно. Второй интактный вирус размером 37592 п. н. (координаты 2647315–2684906) по Г/Ц-составу практически не отличается от такового клетки хозяина и отдельные участки его генома встречаются в хромосомах бактерий рода *Bacillus*. Нуклеотидная последовательность еще одного – дефектного – профага размером 31632 п. н. (координаты 1183850–1215481) обнаруживается также в хромосомах бактерий *B. amyloliquefaciens* (штамм КНГ19), *B. velezensis* (штаммы СМТ-6 и NJN-6) и *B. subtilis* В-1 (по нуклеотидной последовательности идентичны на 99 %). Следует отметить, что в хромосомах практически всех бактерий содержатся интактные или дефектные вирусные геномы, присутствие которых может защищать клетку от проникновения других подобных вирусов, свободно циркулирующих во внешней среде.

Отсутствие в геноме исследуемого штамма большого числа мобильных элементов свидетельствует о наличии эффективных систем защиты, препятствующих проникновению чужеродных нуклеиновых кислот. Следует отметить, что для бактерий характерно, по крайней мере, четыре системы такой защиты. Это системы токсин–антитоксин, abortивной инфекции, CRISPR/Cas9 и рестрикции–модификации. Благодаря системе токсин–антитоксин, бактериальная клетка может беспрепятственно синтезировать соединения, направленные как против других бактерий, так и чужеродных молекул нуклеиновых кислот. При этом присутствие антитоксина защищает ее от гибели. Abortивная инфекция и CRISPR/Cas9 препятствуют размножению вирусов, попавших в бактериальную клетку. Белки рестрикции–модификации призваны защищать бактерию от чужеродных молекул ДНК [14].

В геноме бактерий *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 439Д локализовано, по крайней мере, четыре гена, кодирующих консервативные белки антитоксины, защищающие клетку от продуцируемых ею токсинов, направленных против бактерий и молекул нуклеиновых кислот чужеродного происхождения. Система рестрикции–модификации у данных бактерий представлена четырьмя генами, кодирующими белки, обеспечивающие метилирование собственной хромосомной ДНК и рестрикцию чужеродной ДНК. При этом один из генов (*orf626*) детерминирует синтез рестриктазы II типа *Bg/III*. Сходная по нуклеотидному составу детерминанта присутствует в геноме только у двух бактерий *B. velezensis* СМТ-6 (CP025341) и *B. subtilis* CW14 (CP016767), тогда как гомологичный белок синтезируется в клетках большого числа бактерий *B. amyloliquefaciens* (WP_032867626.1). Данный факт может свидетельствовать об определенной стратегии, выработанной микроорганизмами данной систематической группы, суть которой заключается в определенной комбинации генов, детерминирующих белки рестрикции и модификации, позволяющие им защищать клетки не только от вирусной ДНК, но и от проникновения ДНК близкородственных бактерий. Такая стратегия весьма оправдана, поскольку бактерии рода *Bacillus* обладают системой естественной компетентности, определяющей способность поглощать ДНК из

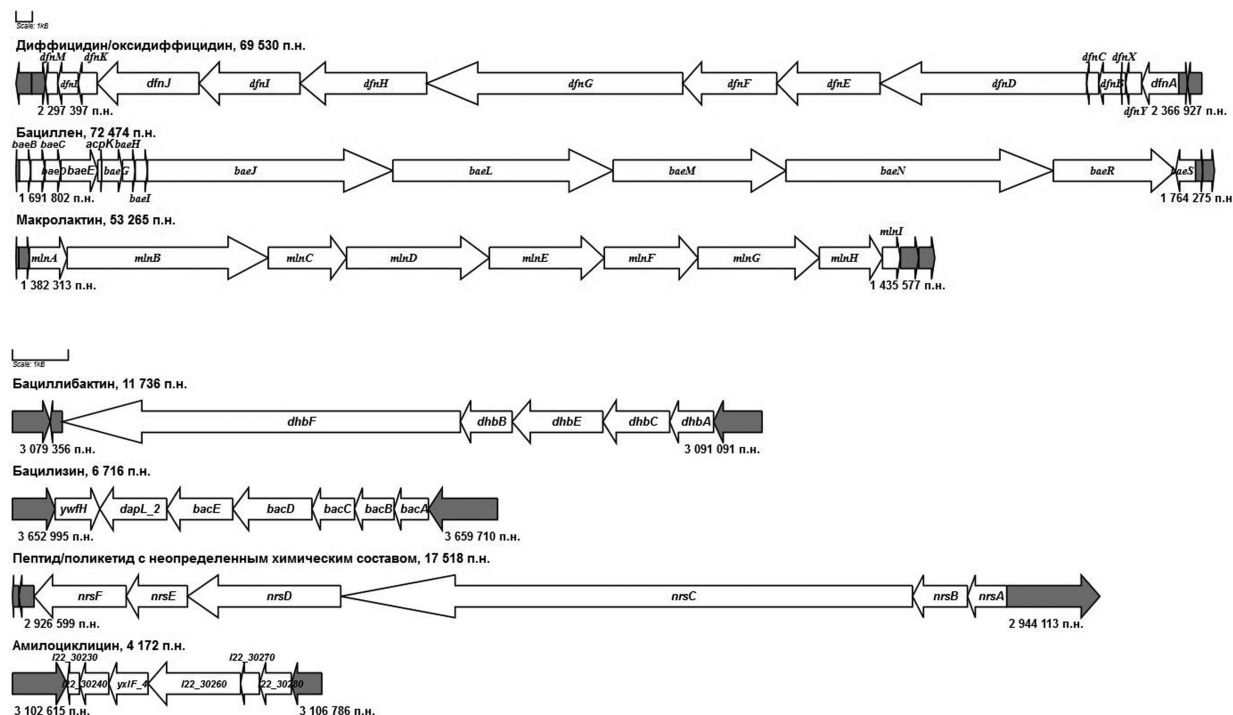


Рис. 1. Генетическая карта локусов, определяющих синтез поликетидных соединений (диффицидина, бациллена, макролактин), сидерофора бациллибактина, дипептида бацилизина, пептида/поликетид с неопределенным химическим составом и бактериоцина (амилоциклин) у бактерий *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д. Неокрашенными стрелками указаны функциональные гены, входящие в состав локусов и детерминирующие синтез метаболитов и направления их транскрипции, серыми – гены, окаймляющие локусы. Цифры рядом с названием вторичного метаболита обозначают размер локуса, определяющего его синтез. Цифры под крайними генами обозначают координаты локусов в геноме

Fig. 1. Genetic map of the loci that determine synthesis of polyketide compounds (difficidin, bacillaene and macrolactin), siderophor bacillibactin, dipeptide bacilysin, peptide/polyketide with uncertain chemical composition and bacteriocin (amylocyclin) of bacteria *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* BIM B-439D. Non-colored arrows indicate functional genes that are part of the loci and determine the synthesis of metabolites and the direction of their transcription, gray – genes that border the loci. The numbers next to the name of the secondary metabolite indicate the size of the locus that determines its synthesis. The numbers under the extreme genes indicate the coordinates of the loci in the genome.

внешней среды. В хромосоме бактерий не выявлено системы CRISPR/Cas, однако присутствует локус (координаты 3875249–3881618), содержащий три гена, кодирующих синтез фаговой РНК хеликазы (*orf3804*), протеазы (*orf3805*) и обратной транскриптазы (*orf3806*), которые могут являться частью системы abortивной инфекции [15].

Однако ключевой системой бактерий рода *Bacillus*, защищающих их от чужеродной микрофлоры (грибов, вирусов и других бактерий), является присутствие в геноме целого набора локусов общей протяженностью 308849 п. н. (занимают около 8 % генома), определяющих продукцию широкого спектра антимикробных соединений. Именно эти генетические детерминанты представляют основной научный интерес и благодаря им данные микроорганизмы нашли широкое применение в качестве средств защиты растений от патогенов.

Штамм *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д не является исключением, поскольку характеризуется широким спектром антимикробной активности и является основой биопрепарата Бетапротектин для защиты овощных культур и декоративных растений от болезней разной этиологии. Детальный анализ отдельных генетических детерминант позволяет с высокой достоверностью утверждать, что аналогично другим представителям *B. amyloliquefaciens* и *B. velezensis*, данный штамм обладает способностью продуцировать антимикробные метаболиты разного химического состава, синтез которых осуществляется без участия рибосом. В геноме

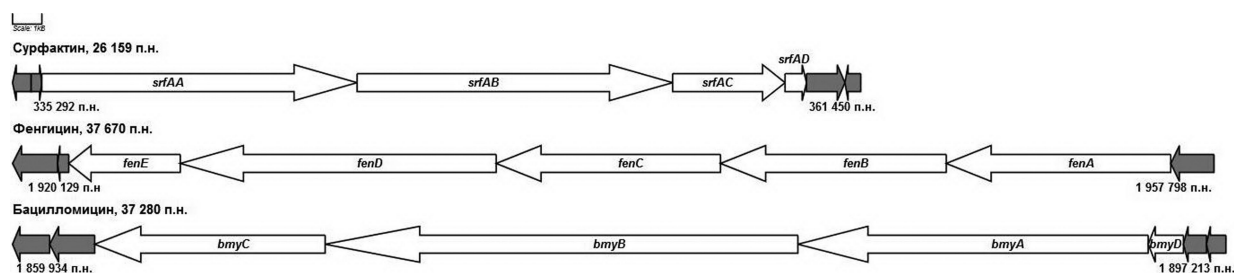


Рис. 2. Генетическая карта локусов, определяющих синтез липопептидных соединений у бактерий *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д. Обозначения см. на рис. 1

Fig. 2. Genetic map of the loci that determine synthesis of lipopeptides of bacteria *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* BIM B-439D. See fig. 1 for description

данных бактерий обнаружены генетические локусы, определяющие синтез активных липопептидов (сурфактин, фенгицин, бацилломицин D), дипептида (бацилизин), сидерофора (бациллибактин), бактериоцина рибосомного синтеза (амилоциклин), поликетидных антибиотиков (диффицидин/оксидиффицидин, бациллен и макролактин), а также неопределенного пептида/поликетид с неизвестной химической структурой и функцией (предположительно – тироцидина) (рис. 1, 2). Сравнительный сиквенс-анализ промоторов, регуляторных и структурных генов, а также кодируемых ими полипептидов, определяющих синтез вышеуказанных соединений, выявил их идентичность на 99–100 % гомологичным последовательностям других представителей *B. amyloliquefaciens* и *B. velezensis*. Кроме того, синтез сурфактина и фенгицина данными микроорганизмами установлен экспериментально методом масс-спектрометрии (данные не приводятся).

Таким образом, в результате проведенного исследования установлена общая организация генома бактерий *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* БИМ В-439Д, определены ключевые генетические локусы, детерминирующие синтез антимикробных метаболитов, охарактеризованы системы рестрикции-модификации и мобильные генетические элементы (IS-элементы и профаги). Выявленные особенности организации и локализации отдельных генетических детерминант (например, ген, кодирующий рестриктазу II типа *BglII*, профаг размером 37558 п. н.) могут использоваться в качестве надежных молекулярно-генетических маркеров для быстрой идентификации штамма при его коммерческом использовании. Наличие полной нуклеотидной последовательности генома может служить основой для детального функционального анализа практически значимых свойств данных микроорганизмов.

Список использованных источников

1. Borriss, R. Use of plant-associated *Bacillus* strains as biofertilizers and biocontrol agents in Agriculture / R. Borriss // *Bacteria in Agrobiolology: Plant Growth Responses* / ed. D. K. Maheshwari. – Heidelberg, German: Springer Heidelberg, 2011. – P. 41–76. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20332-9_3
2. Миллер, Дж. Эксперименты в молекулярной генетике / Дж. Миллер; пер. с англ. Ю. Н. Зографа, Т. С. Ильиной, В. Г. Никифорова; под ред. С. И. Алиханяна. – М.: Мир, 1976. – 436 с.
3. Vabraham Bioinformatics – FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>. – Дата доступа: 02.05.2018.
4. Bolger, A. M. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data / A. M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // *Bioinformatics*. – 2014. – Т. 30, N 15 – P. 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
5. Геномный ассемблер SPAdes: Лаборатория алгоритмической биологии [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://cab.spbu.ru/software/spades/>. – Дата доступа: 02.05.2018.
6. Langmead, B. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 / B. Langmead, S. L. Salzberg // *Nat. Methods*. – 2012. – Vol. 9, N 4 – P. 357–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
7. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology / R. K. Aziz [et al.] // *BMC Genomics*. – 2008. – Vol. 9, N 1. – P. 75. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>

8. Seemann, T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation / T. Seemann // *Bioinformatics*. – 2014. – Vol. 30, Iss. 14. – P. 2068–2069 [Electronic resource]. – Mode of access: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>. – Date of access: 02.05.2018.
9. Mauve: Multiple Alignment of Conserved Genomic Sequence With Rearrangements / A. C. Darling [et al.] // *Genome Res.* – 2004. – Vol. 14, N 7 – P. 1394–1403. <https://doi.org/10.1101/gr.2289704>
10. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool / D. Arndt [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2016. – Vol. 44, N W1. – P. W16–W21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw387>
11. Harrison, K. J. Gene Graphics: a genomic neighborhood data visualization web application / K. J. Harrison, V. de Crécy-Lagard, R. Zallot // *Bioinformatics*. – 2018. – Vol. 34, N 8. – P. 1406–1408. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx793>
12. The complete genome sequence of *Bacillus velezensis* strain GH1-13 reveals agriculturally beneficial properties and a unique plasmid / Sang Yoon Kim [et al.] // *Journal of Biotechnology*. – 2017. – Vol. 259. – P. 221–227. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.06.1206>
13. Factors determining the frequency of plasmid cointegrate formation mediated by insertion sequence IS3 from *Escherichia coli* / J. Spielmann-Ryser [et al.] // *Mol. Gen. Genet.* – 1991. – Vol. 226, N 3. – P. 441–448. <https://doi.org/10.1007/bf00260657>
14. Koonin, E. V. Evolutionary Genomics of Defense Systems in Archaea and Bacteria / E. V. Koonin, K. S. Makarova, Y. I. Wolf // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2017. – Vol. 71, N 1. – P. 233–261. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090816-093830>
15. A reverse transcriptase-related protein mediates phage resistance and polymerizes untemplated DNA *in vitro* / C. Wang [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2011. – Vol. 39, N 17. – P. 7620–7629. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr397>

References

1. Borriss R. Use of plant-associated *Bacillus* strains as biofertilizers and biocontrol agents in Agriculture. Maheshwari D. K. (ed.). *Bacteria in Agrobiology: Plant Growth Responses*. Heidelberg, German, Springer Heidelberg, 2011, pp. 41–76. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20332-9_3
2. Miller J. H. *Experiments in Molecular Genetics*. Cold Spring Harbor Laboratory, 1972. 466 p.
3. *Babraham Bioinformatics – FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data*. Available at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> (accessed 2 May 2018).
4. Bolger A. M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, no. 15, pp. 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
5. *Genome assembly SPAdes: Center for Algorithmic Biotechnology Web Server*. Available at: <http://cab.spbu.ru/software/spades/> (accessed 2 May 2018).
6. Langmead B., Salzberg S. L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 2012, vol. 9, no. 4, pp. 357–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
7. Aziz R. K., Bartels D., Best A. A., DeJongh M., Disz T., Edwards R. A., Formsma K., Gerdes S., Glass E. M., Kubal M., Meyer F., Olsen G. J., Olson R., Osterman A. L., Overbeek R. A., McNeil L. K., Paarmann D., Paczian T., Parrello B., Pusch G. D., Reich C., Stevens R., Vassieva O., Vonstein V., Wilke A., Zagnitko O. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics*, 2008, vol. 9, no. 1, pp. 75. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>
8. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, is. 14, pp. 2068–2069. Available at: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153> (accessed 2 May 2018).
9. Darling A. C., Mau B., Blattner F. R., Perna N. T. Mauve: Multiple Alignment of Conserved Genomic Sequence With Rearrangements. *Genome Research*, 2004, vol. 14, no. 7, pp. 1394–1403. <https://doi.org/10.1101/gr.2289704>
10. Arndt D., Grant J., Marcu A., Sajed T., Pon A., Liang Y., Wishart D. S. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Research*, 2016, vol. 44, no. W1, pp. W16–W21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw387>
11. Harrison K. J., de Crécy-Lagard V., Zallot R. Gene Graphics: a genomic neighborhood data visualization web application. *Bioinformatics*, 2018, vol. 34, no. 8, pp. 1406–1408. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx793>
12. Sang Yoon Kim, Hajin Song, Mee Kyung Sang, Hang-Yeon Weon, Jaekyeong Song. The complete genome sequence of *Bacillus velezensis* strain GH1-13 reveals agriculturally beneficial properties and a unique plasmid. *Journal of Biotechnology*, 2017, vol. 259, pp. 221–227. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.06.1206>
13. Spielmann-Ryser J., Moser M., Kast P., Weber H. Factors determining the frequency of plasmid cointegrate formation mediated by insertion sequence IS3 from *Escherichia coli*. *MGG Molecular & General Genetics*, 1991, vol. 226, no. 3, pp. 441–448. <https://doi.org/10.1007/bf00260657>
14. Koonin E. V., Makarova K. S., Wolf Y. I. Evolutionary Genomics of Defense Systems in Archaea and Bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 2017, vol. 71, no. 1, pp. 233–261. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090816-093830>
15. Wang C., Villion M., Semper C., Coros C., Moineau S., Zimmerly S. A reverse transcriptase-related protein mediates phage resistance and polymerizes untemplated DNA *in vitro*. *Nucleic Acids Research*, 2011, vol. 39, no. 17, pp. 7620–7629. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr397>

Информация об авторах

Титок Марина Алексеевна – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: m_titok@yahoo.com.

Валентович Леонид Николаевич – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: valentovich@mbio.bas-net.by.

Бережная Анастасия Валерьевна – науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: anastasiya1981@bk.ru.

Коломиец Эмилия Ивановна – член-корреспондент, д-р биол. наук, директор. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kolomiets@mbio.bas-net.by.

Information about the authors

Titok Marina Alekseevna – D. Sc. (Biology), Professor, Chief researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m_titok@yahoo.com.

Valentovich Leonid Nikolaevich – Ph. D. (Biology). Associate professor, Head of the Laboratory. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: valentovich@mbio.bas-net.by.

Berezhnaya Anastasiya Valer'evna – Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anastasiya1981@bk.ru.

Kolomiets Emiliya Ivanovna – Corresponding Member, D. Sc. (Biology), Director. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kolomiets@mbio.bas-net.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 579.66:577.15+579.842.11
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-601-607>

Поступило в редакцию 18.08.2018
Received 18.08.2018

И. С. Казловский, член-корреспондент А. И. Зинченко

Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

СОЗДАНИЕ ШТАММА-ПРОДУЦЕНТА ХИМЕРНОГО БЕЛКА, СОСТОЯЩЕГО ИЗ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ И ДНК-АФФИННОГО ДОМЕНА

Аннотация. Одним из новых перспективных направлений молекулярной биотехнологии является бесклеточный синтез белка. Процедура бесклеточного синтеза белка основана на реконструкции *in vitro* всех этапов биосинтеза белка в клетке, включая транскрипцию, аминоацилирование тРНК и трансляцию мРНК рибосомами. Для воспроизведения этапа транскрипции требуется участие специфических РНК-полимераз, которые иницируют процесс синтеза мРНК с определенных сайтов узнавания. Часто для этого применяется ДНК-зависимая РНК-полимераза бактериофага Т7 (Т7-РНК-полимераза). Для улучшения качественных характеристик Т7-РНК-полимеразы в настоящей работе создан новый штамм *Escherichia coli*, продуцирующий этот фермент, слитый с ДНК-аффинным доменом Sso7d термофильной бактерии *Sulfolobus solfataricus*. Продуцирующая способность полученного рекомбинантного штамма в отношении синтезируемого химерного белка достигает 625 ед/л культуральной жидкости, а удельная активность препарата очищенного фермента составила 80 ед/мкг белка. Полученный фермент предназначен для использования в качестве инструментария при синтезе белков в бесклеточной системе.

Ключевые слова: химерный белок, РНК-полимераза бактериофага Т7, ДНК-аффинный домен *Sulfolobus solfataricus*, *Escherichia coli*

Для цитирования: Казловский, И. С. Создание штамма-продуцента химерного белка, состоящего из РНК-полимеразы и ДНК-аффинного домена / И. С. Казловский, А. И. Зинченко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 601–607. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-601-607>

Ilya S. Kazlovskiy, Corresponding Member Anatoliy I. Zinchenko

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

CONSTRUCTION OF A STRAIN-PRODUCER OF THE CHIMERIC PROTEIN CONSISTING OF RNA POLYMERASE AND A DNA-AFFINITY DOMAIN

Abstract. One of the recent perspective trends of molecular biotechnology is cell-free synthesis of protein. The procedure of cell-free synthesis of protein is based on *in vitro* reconstruction of all stages of a biosynthesis of protein in a whole cell, including a transcription, an aminoacylation of tRNA and translation of mRNA by ribosomes. Procreation of the transcription stage requires participation of specific RNA polymerase which initiates process of mRNA synthesis from the particular sites of recognition. Often the DNA-dependent RNA polymerase of a bacteriophage of T7 (T7 RNA polymerase) is for this purpose applied. For improvement of qualitative characteristics of the T7 RNA polymerase in the real work the new strain of *Escherichia coli* producing this enzyme fused with the DNA-affine Sso7d domain of a thermophilic bacterium *Sulfolobus solfataricus* is created. The producing ability of the received recombinant strain concerning synthesized chimera protein reaches 625 un/l of cultural liquid, and the specific activity of the purified enzyme preparation was 80 un/μg of protein. The received enzyme is intended for use as tools at synthesis of proteins in cell-free system.

Keywords: fusion protein, T7 bacteriophage RNA polymerase, DNA-affinity domain of *Sulfolobus solfataricus*, *Escherichia coli*

For citation: Kazlovskiy I. S., Zinchenko A. I. Construction of a strain-producer of the chimeric protein consisting of RNA polymerase and a DNA-affinity domain. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 601–607 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-601-607>

Введение. В настоящее время для получения лекарственных препаратов пептидной или белковой природы (интерферонов, антигенов, антител, гормонов) широко применяется биотехнология на основе генетической инженерии (выделение и клонирование генов, получение кДНК, введение генов в чужеродные про- или эукариотические клетки, экспрессия гетерологичных белков). Несмотря на значительные достижения, этот подход имеет существенные ограничения: не все гены экспрессируются в «чужом окружении» из-за несоответствия элементов регуляции

реципиентных клеток и донорских генов; пока не удалось достичь экспрессии полицистронных мРНК; не происходит посттрансляционная модификация и формирование нативной структуры протеинов высших эукариот в бактериальных клетках.

В качестве альтернативы канонической генно-инженерной технологии получения хозяйственно важных белков ряд исследовательских групп начали использовать для протеинового синтеза бесклеточные системы [1; 2]. Реакционная смесь для бесклеточного синтеза белка – открытая система без физических барьеров, таких как клеточная мембрана. Выход конечного продукта зависит от концентрации каждого компонента, которую можно варьировать в широких пределах, в отличие от ситуации *in vivo*, т. е. варианта с использованием целых клеток. При этом конечная концентрация белка достигает более 2 мг/мл [3].

Система бесклеточного синтеза белка предусматривает транскрипцию гена и трансляцию мРНК *in vitro* в лизате клеток, в который вносят рекомбинантную ДНК, аминокислоты, нуклеотиды, кофакторы, функционально важные белки и АТФ-регенерирующую систему. Эндогенная генетическая информация (ДНК и мРНК) при этом удаляется. По сравнению с системами, основанными на целых клетках, бесклеточные системы обладают рядом преимуществ. Среди них можно выделить:

продукцию исключительно целевого белка, что кардинально облегчает процедуру его выделения и очистки;

возможность синтеза токсичных для клеток белков;

возможность решать проблему агрегации целевого белка путем ввода в реакционную смесь агентов, позволяющих удерживать синтезирующийся полипептид в растворе.

Процедура бесклеточного синтеза белка включает в себя все основные стадии, типичные для синтеза белка в целых клетках, такие как транскрипция и трансляция. Для осуществления транскрипции *in vitro* чаще применяется метод с использованием РНК-полимераз *Escherichia coli*. Данные РНК-полимеразы являются сайт-неспецифическими и начинают синтез РНК на ДНК с общих прокариотических промоторов [4].

Транскрипция эукариотических генов происходит только при участии эукариотических РНК-полимераз, которые начинают транскрипцию с эукариотических промоторов. Однако указанные РНК-полимеразы не подходят для использования в бесклеточных системах из-за неспецифического синтеза РНК [5]. При необходимости получения значительного количества специфической мРНК, желательно использовать транскрипционную систему, способную инициировать процесс транскрипции и прекращать его в определенных сайтах на матричной ДНК.

Ряд исследователей используют в таких случаях специфические РНК-полимеразы бактериофагов, например, РНК-полимеразу бактериофага Т7 (далее Т7-РНК-полимераза). Она эффективно начинает транскрипцию ДНК с Т7-промотора и заканчивает ее на Т7-терминаторе [6].

Т7-РНК-полимераза относится к односубъединичным ДНК-зависимым РНК-полимеразам. Она характеризуется более высокой скоростью синтеза мРНК и более низкой частотой ошибок, по сравнению с мультиферментными комплексами прокариотических и эукариотических РНК-полимераз. Несмотря на относительно маленький размер (около 99 кДа), этот фермент способен транскрибировать полный геном без каких-либо дополнительных белковых факторов [7; 8]. Относительная простота, общедоступность и высокая специфичность сделали Т7-РНК-полимеразу подходящей моделью для изучения молекулярных механизмов транскрипции и применение ее в постановке реакций бесклеточного синтеза белка.

Ранее в лаборатории молекулярной биотехнологии Института микробиологии НАН Беларуси был получен рекомбинантный штамм *E. coli*, продуцирующий Т7-РНК-полимеразу [9]. Однако данный фермент, как и многие полимеразы, может вносить мутации в продукт своего синтеза, и для оптимальной работы системы бесклеточного синтеза требуется внесение большого количества фермента. В связи с этим для уменьшения частоты ошибок при транскрипции и количества добавляемого фермента, нами было решено пришить к Т7-РНК-полимеразе ДНК-аффинный домен Sso7d термофильной бактерии *Sulfolobus solfataricus*, который повышает специфичность присоединения РНК-полимераз к ДНК и, тем самым, способствует снижению частоты вводимых ошибок при синтезе мРНК [10].

Домен Sso7d представляет собой небольшой белок (7 кД), способный прочно связываться с двухцепочечной ДНК без каких-либо предпочтений в отношении ее первичной структуры. Создание химерного белка, включающего аффинный домен Sso7d и ДНК-полимеразу *Thermus aquaticus*, показало, что ДНК-полимераза приобрела свойство плавного скольжения по матрице. Связывание аффинного домена с этой ДНК-полимеразой не изменило ее структуру и каталитические свойства фермента [10].

Нам представляется, что вышеуказанные полезные свойства ДНК-аффинного домена Sso7d можно использовать и для улучшения качественных характеристик не изученной ранее в этом отношении Т7-РНК-полимеразы. В частности, можно предполагать, что модифицированная аналогичным образом Т7-РНК-полимераза будет характеризоваться более высокой производительностью, что, в свою очередь, может привести к сокращению времени синтеза соответствующих продуктов и затрат фермента.

Настоящая работа посвящена созданию штамма *E. coli*, продуцирующего новый химерный белок, представляющий собой Т7-РНК-полимеразу, дополненную ДНК-аффинным доменом Sso7d *S. solfataricus*, а также получение высокоочищенного препарата фермента с использованием металло-аффинной хроматографии.

Материалы и методы исследования. Источником гена Т7-РНК-полимеразы (*t7p07*; GenBank ID: M38308.1) служила ДНК бактериофага Т7, выделенная из вирусной биомассы с помощью коммерческого набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, США). Целевой фрагмент ДНК амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием в качестве матрицы геномной ДНК и синтетических праймеров. Подбор олигонуклеотидов проводили с использованием программного обеспечения UGENE 1.22 (UniPro, Россия) на основе последовательностей гена Т7-РНК-полимеразы: прямой *t7p07-F* (5'-gtggtggtccacaacatgaacacgattaacatcg-3') и обратный – *t7p07-R* (5'-ggtgatggtgatgctccgcgaacgcaag-3'). На 5'-окончания праймеров были добавлены последовательности, комплементарные плазмиде рЕТ42а+ (Novagen, США). Амплификацию осуществляли по следующей программе: этап предденатурации (30 с при 98 °С) – 30 циклов амплификации (10 с при 98 °С; 15 с при 55 °С; 30 с при 72 °С) – финальная элонгация 75 с при 72 °С. На втором этапе линейаризовали плазмиду рЕТ42а+ методом ПЦР с использованием Diamant-ДНК-полимеразы (Институт микробиологии НАН Беларуси) и двух праймеров: прямой рЕТ42а-F (5'-catatg-tatatctccttcttaaagtaaacaaaattattctagag-3') и обратный рЕТ42а-R (5'-gagcatcaccatcaccaccaccacta-attg-3'). Амплификацию вектора осуществляли по программе: этап предденатурации (30 с при 98 °С) – 30 циклов амплификации (10 с при 98 °С, 15 с при 55 °С, 3 мин при 72 °С) – финальная элонгация 3 мин и 25 с при 72 °С. На третьем этапе проводили клонирование нуклеотидной последовательности, кодирующей ДНК-аффинный домен *SSO_RS12375* (Gene ID: 1454006) из плазмиды, полученной ранее в лаборатории молекулярной биотехнологии [11]. На четвертом этапе собирали линейаризованный вектор и целевые гены методом продолжительной перекрывающейся ПЦР (ПП-ПЦР) [12; 13] по следующей программе: этап предденатурации (30 с при 98 °С) – 16 циклов амплификации (10 с при 98 °С; 15 с при 50 °С; 4 мин при 72 °С) – финальная элонгация 5 мин при 72 °С. На этом этапе в качестве матрицы и затравки были использованы фрагменты, полученные на первых трех этапах, в эквимольных количествах.

Синтезированным в ходе ПП-ПЦР продуктом трансформировали компетентные клетки *E. coli* BL(DE3) (Novagen, США) с последующим высевом на плотную селективную питательную среду LB с добавлением канамицина (100 мкг/мл).

Для определения наличия плазмид, содержащих целевые «вставки ДНК», часть одиночной колонии отбирали при помощи стерильного наконечника и вносили в 50 мкл реакционной смеси, содержащей 67 мМ Трис-НСl (рН 8,3), 17 мМ (NH₄)₂SO₄, 2 мМ MgCb, 0,02 % Твин-20, смесь четырех канонических дНТФ (каждого в концентрации 0,2 мМ) и 1 ед Diamant-ДНК-полимеразы [11]. В качестве ДНК-затравки использовали праймеры (по 10 пмоль) к последовательности Т7-промотора (прямой Т7р-F 5'-taatacgaactcactataggg-3') и к последовательности, кодирующей Т7-РНК-полимеразу (обратный *t7p07-R*). ПЦР проводили по следующей программе: этап начальной денатурации 2 мин при 94 °С – 25 циклов амплификации (30 с при 94 °С; 15 с при 55 °С; 1 мин при 72 °С) – финальная элонгация 2 мин при 72 °С.

Клетки-трансформанты выращивали в LB-среде с добавлением канамицина с конечной концентрацией 80 мкг/мл до оптической плотности 0,6 ($\lambda = 600$ нм), затем проводили индукцию синтеза белка 0,5 мМ изопропил- β -тиогаляктопиранозидом и продолжали культивирование в течение 3 ч. Анализ процентного содержания целевого белка проводили в программе ImageLab (BioRad, США). По окончании культивирования клетки осаждали центрифугированием, ресуспендировали в 50 мМ Na-фосфатном буфере (pH 8,0), содержащем 300 мМ NaCl и 20 мМ имидазол. Ультразвуковую дезинтеграцию клеток проводили в приборе Sonifier-450 (Branson, США) при следующих режимах: мощность – 0,05 кВт; температура – 4 °С; продолжительность – 600 импульсов по 0,5 с. Клеточный лизат осветляли центрифугированием при 60 000 g в течение 30 мин. Супернатант клеточного лизата наносили на хроматографическую колонку со смолой Ni-NTA (Qiagen, США). Белок элюировали 50 мМ фосфатным буфером (pH 8,0), содержащим 300 мМ NaCl и 500 мМ имидазол. Полученные в результате аффинной хроматографии образцы анализировали с помощью ДСН-полиакриламидного гель-электрофореза. Фракции, содержащие целевой белок (названный нами «Sso7d-T7-РНК-полимераза»), объединяли и диализовали против 100-кратного объема 50 мМ Трис-НСl-буфера (pH 8,0), содержащего 100 мМ NaCl, 20 мМ β -меркаптоэтанол, 0,1 % Тритон X-100 и 50 % глицерин.

РНК-полимеразную активность химерного белка определяли в реакционной смеси, содержащей 20 мМ Трис-НСl-буфер (pH 8,0), 6 мМ $MgCl_2$, 10 мМ дитиотреитол, каждый из четырех природных нуклеозидтрифосфатов в концентрации 0,5 мМ. Ход реакции контролировали с помощью агарозного гель-электрофореза. За единицу активности фермента принимали такое количество, которое обеспечивало образование 1 нмоль продукта за 1 мин в соответствующих условиях реакции.

Результаты и их обсуждение. Основным компонентом реакционной смеси для осуществления бесклеточного синтеза белка является ДНК-зависимая РНК-полимераза. Ранее нами была получена рекомбинантная Т7-РНК-полимераза, слитая с октагистидиновым олигопептидом, позволяющим упростить процедуру выделения фермента из клеточного лизата [9]. Для повышения специфичности связывания с ДНК, а тем самым и повышения активности Т7-РНК-полимеразы,

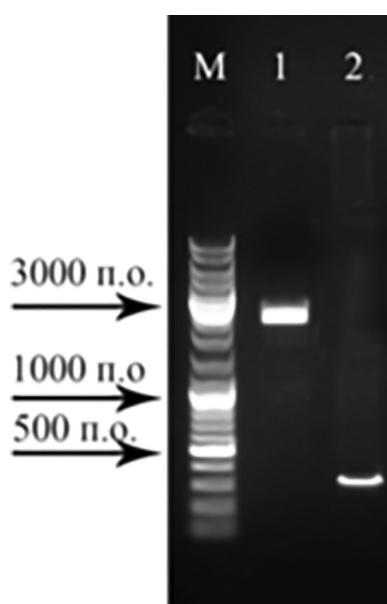


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации генов *t7p07* (1) и *SSO_RS12375* (2). М – маркер молекулярных масс фрагментов ДНК

Fig. 1. Electrophoregram of amplified fragments of genes *t7p07* (1) and *SSO_RS12375* (2). М – DNA molecular size markers

было решено удлинить молекулу этого фермента на ДНК-аффинный Sso7d-домен *S. solfataricus*. Клонирование генов проводили с помощью ПЦР. Продукты амплификации генов анализировали при помощи электрофоретического разделения в 1 %-ном агарозном геле. Как следует из рис. 1, размеры полученных фрагментов соответствовали теоретически рассчитанным.

Затем проводили постановку ПП-ПЦР, которая, в отличие от стандартной ПЦР, требует наличия в векторе и вставке перекрывающихся комплементарных участков, добавляемых на стадии клонирования целевых генов.

Как известно, при проведении ПП-ПЦР [12; 13] вставка с вектором образуют смесь линейных конкатемеров, содержащих различное количество повторов «вставка-вектор». Данной смесью высокомолекулярных линейных молекул трансформируются клетки-реципиенты, в которых происходит формирование нескольких кольцевых молекул – плазмид, несущих в себе целевой ген.

Таким образом, ген *SSO_RS12375*, кодирующий Sso7d-домен, и ген *t7p07*, кодирующий Т7-РНК-полимеразу, были встроены в плазмиду pET42a+ под контролем сильного Т7-промотора. К гену *t7p07* с 3'-конца кодирующей цепи была добавлена дополнительная нуклеотидная последовательность, кодирующая октагистидиновый олигопептид, выполняющий роль домена, аффинного к Ni-NTA-смоле. Полученной конструкцией транс-

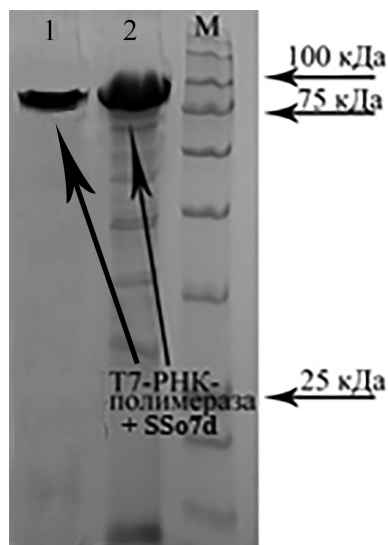


Рис. 2. Электрофореграмма в ДСН-полиакриламидном геле химерного белка после (1) и до (2) выделения из клеток *E. coli* pet42-T7S. М – маркерные белки с известной молекулярной массой

Fig. 2. SDS-PAGE image of chimera protein after (1) and before (2) isolation from *E. coli* pet42-T7S cell lysate. M – protein molecular weight markers

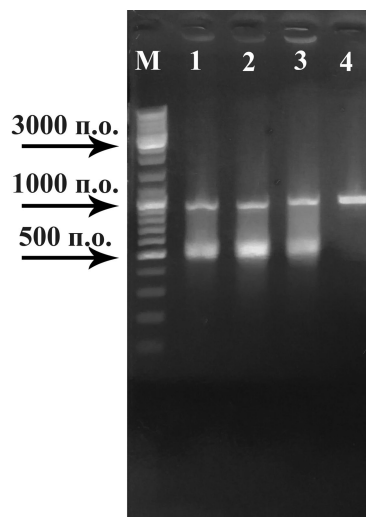


Рис. 3. Электрофореграмма транскриптов, полученных под действием: 1 – коммерческой Т7-РНК-полимеразы; 2 – Т7-РНК-полимеразы, полученной ранее авторами; 3 – Sso7d-Т7-РНК-полимеразы; 4 – реакционная смесь без внесения фермента. М – маркер молекулярных масс фрагментов ДНК

Fig. 3. Electropherogram of transcripts received under the influence of enzymes: 1 – commercial T7 RNA polymerase; 2 – T7 RNA polymerase, received earlier by authors; 3 – Sso7d T7 RNA polymerase; 4 – negative control; M – DNA molecular size markers

формировали компетентные клетки *E. coli* BL21(DE3), в результате чего был создан новый штамм, названный *E. coli* pet42-T7S. Клетки этого штамма продуцируют химерный белок, состоящий из ДНК-аффинного домена Sso7d *S. solfataricus* и Т7-РНК-полимеразы, и содержащий при этом на С-конце дополнительный октагистидиновый олигопептид.

На рис. 2 представлены результаты ДСН-полиакриламидного геле-электрофореза белков в лизате клеток *E. coli* pet42-T7S. Видно, что клетки анализируемого штамма способны после соответствующей индукции нарабатывать белок с молекулярной массой около 99 кДа, что соответствует теоретически рассчитанной величине.

На следующем этапе работы проводили очистку химерного белка методом аффинной хроматографии на смоле Ni-NTA. При этом следует подчеркнуть, что добавление к рамке считывания гена *t7p07* дополнительной нуклеотидной последовательности, кодирующей октагистидиновый олигопептид, позволило получить высокоочищенный препарат белка с выходом 60 %. При этом чистота ферментного препарата составила более 95 % (рис. 2). В результате из 1 л культуральной жидкости было получено 50 мг очищенного фермента с активностью 80 ед/мкг белка.

В результате экспериментов было установлено, что белок способен синтезировать матричную РНК *in vitro* (рис. 3).

В плане обсуждения результатов, следует отметить, что полученный в настоящем исследовании штамм-продуцент Т7-РНК-полимеразы превосходит лучший из известных продуцентов этого фермента [14] по продуктивности (625 ед/л против 190 ед/л культуральной жидкости), но не по удельной активности изолированного фермента (80 ед/мкг белка против 210 ед/мг белка).

Заключение. Впервые сконструирована генетическая конструкция, включающая в себя ген бактериофага Т7, ответственный за экспрессию РНК-полимеразы, и нуклеотидную последовательность, кодирующую ДНК-аффинный домен Sso7d термофильной бактерии *S. solfataricus*, выделенные методом ПЦР и встроенные в вектор pET42a(+). Созданной конструкцией были трансформированы клетки *E. coli* BL21 (DE3), что привело к созданию нового рекомбинантного штамма *E. coli* pet42-T7S – продуцента химерной Sso7d-Т7-РНК-полимеразы, содержащей окта-

гистициновый олигопептид на С-конце молекулы. Такая первичная структура фермента позволяет выделять его из клеточного лизата в одну стадию с использованием металло-аффинной хроматографии на смоле Ni-NTA.

Штамм продуцент Sso7d-T7-РНК-полимеразы был охарактеризован по продуцирующей способности в отношении синтезируемого фермента, составляющей 625 ед/л культуральной жидкости, а также рассчитана удельная активность выделенного фермента, которая составила 80 ед/мкг белка. Полученный фермент предназначен для использования в качестве инструментария при синтезе белков в бесклеточной системе.

Список использованных источников

1. Bundy, B. C. *Escherichia coli*-based cell-free synthesis of virus-like particles / B. C. Bundy, M. J. Franciszkowicz, J. R. Swartz // *Biotechnol. Bioeng.* – 2008. – Vol. 100, N 1. – P. 28–37. <https://doi.org/10.1002/bit.21716>
2. Bundy, B. C. Efficient disulfide bond formation in virus-like particles / B. C. Bundy, J. R. Swartz // *J. Biotechnol.* – 2011. – Vol. 154, N 4. – P. 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.04.011>
3. The incorporation of the A2 protein to produce novel Q β virus-like particles using cell-free protein synthesis / M. T. Smith [et al.] // *Biotechnol. Prog.* – 2012. – Vol. 28, N 2. – P. 549–555. <https://doi.org/10.1002/btpr.744>
4. Cell-free synthesis of functional aquaporin Z in synthetic liposomes / N. T. Hovijitra [et al.] // *Biotechnol. Bioeng.* – 2009. – Vol. 104, N 1. – P. 40–49. <https://doi.org/10.1002/bit.22385>
5. On-chip automation of cell-free protein synthesis: new opportunities due to a novel reaction mode / V. Georgi [et al.] // *Lab. Chip.* – 2016. – Vol. 16, N 2. – P. 269–281. <https://doi.org/10.1039/c5lc00700c>
6. Caschera, F. Preparation of amino acid mixtures for cell-free expression systems / F. Caschera, V. Noireaux // *Biotechniq.* – 2015. – Vol. 58. – P. 40–43. <https://doi.org/10.2144/000114249>
7. Roberts, J. W. Termination factor for RNA synthesis / J. W. Roberts // *Nature.* – 1969. – Vol. 224, N 5225. – P. 1168–1174. <https://doi.org/10.1038/2241168a0>
8. Studier, F. W. T7 expression systems for inducible production of proteins from cloned genes in *E. coli* / F. W. Studier // *Curr. Protoc. Mol. Biol.* – 2018. – Vol. 124, N 1. – e63. <https://doi.org/10.1002/cpmb.63>
9. Создание рекомбинантного штамма *Escherichia coli* – продуцента РНК-полимеразы бактериофага Т7 / И. С. Казловский [и др.] // *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты.* – Минск: Беларуская навука, 2016. – Т. 8. – С. 72–81.
10. A novel strategy to engineer DNA polymerases for enhanced processivity and improved performance *in vitro* / Y. Wang [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2004. – Vol. 32, N 3. – P. 1197–1207. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh271>
11. Production of thermostable DNA polymerase suitable for whole-blood polymerase chain reaction / A. S. Korovashkina [et al.] // *Biochemistry and Biotechnology: Research and Development* / eds. S. D. Varfolomeev, G. E. Zaikov, L. P. Krylova. – New York: Nova Science Publishers, Inc., 2012. – P. 1–5.
12. Quan, J. Circular polymerase extension cloning of complex gene libraries and pathways / J. Quan, J. Tian // *PLoS ONE.* – 2009. – Vol. 4, N 7. – e6441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006441>
13. You, C. Simple cloning via direct transformation of PCR product (DNA multimer) to *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* / C. You, X. Z. Zhang, Y. H. P. Zhang // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2012. – Vol. 78, N 5. – P. 1593–1595. <https://doi.org/10.1128/aem.07105-11>
14. Construction and expression of a modular gene encoding bacteriophage T7 RNA polymerase / N. Arnaud [et al.] // *Gene.* – 1997. – Vol. 199, N 1–2. – P. 149–156. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(97\)00362-4](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(97)00362-4)

References

1. Bundy B. C., Franciszkowicz M. J., Swartz J. R. *Escherichia coli*-based cell-free synthesis of virus-like particles. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008, vol. 100, no. 1, pp. 28–37. <https://doi.org/10.1002/bit.21716>
2. Bundy B. C., Swartz J. R. Efficient disulfide bond formation in virus-like particles. *Journal of Biotechnology*, 2011, vol. 154, no. 4, pp. 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.04.011>
3. Smith M. T., Varner C. T., Bush D. B., Bundy B. C. The incorporation of the A2 protein to produce novel Q β virus-like particles using cell-free protein synthesis. *Biotechnology Progress*, 2012. vol. 28, no. 2, pp. 549–555. <https://doi.org/10.1002/btpr.744>
4. Hovijitra N. T., Wu J. J., Peaker B., Swartz J. R. Cell-free synthesis of functional aquaporin Z in synthetic liposomes. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009, vol. 104, no. 1, pp. 40–49. <https://doi.org/10.1002/bit.22385>
5. Georgi V., Georgi L., Blechert M., Bergmeister M., Zwanzig M., Wüstenhagen D. A., Bier F. F., Jung E., Kubick S. On-chip automation of cell-free protein synthesis: new opportunities due to a novel reaction mode. *Lab on a Chip*, 2016, vol. 16, no. 2, pp. 269–281. <https://doi.org/10.1039/c5lc00700c>
6. Caschera F., Noireaux V. Preparation of amino acid mixtures for cell-free expression systems. *Biotechniques*, 2015, vol. 58, no. 1, pp. 40–43. <https://doi.org/10.2144/000114249>
7. Roberts J. W. Termination factor for RNA synthesis. *Nature*, 1969, vol. 224, no. 5225, pp. 1168–1174. <https://doi.org/10.1038/2241168a0>

8. Studier F. W. T7 expression systems for inducible production of proteins from cloned genes in *E. coli*. *Current Protocols in Molecular Biology*, 2018, vol. 124, no. 1, e63. <https://doi.org/10.1002/cpmb.63>
9. Kazlovskii I. S., Pymko A. N., Kvach S. V., Zinchenko A. I. Construction of *Escherichia coli* strain, producing bacteriophage T7 RNA polymerase. *Mikrobynye biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty* [*Microbial biotechnology: fundamental and applied aspects*]. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2016, vol. 8, pp. 72–81 (in Russian).
10. Wang Y., Prosen D. E., Mei L., Sullivan J. C., Finney M., Vander Horn P. B. A novel strategy to engineer DNA polymerases for enhanced processivity and improved performance *in vitro*. *Nucleic Acids Research*, 2004, vol. 32, no. 3, pp. 1197–1207. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh271>
11. Korovashkina A. S., Kvach S. V., Eroshevskaya L. A., Zinchenko A. I. Production of thermostable DNA polymerase suitable for whole-blood polymerase chain reaction. Varfolomeev S. D., Zaikov G. E., Krylova L. P. (eds.). *Biochemistry and Biotechnology: Research and Development*. New York, Nova Science Publishers, Inc., 2012, pp. 1–5.
12. Quan J., Tian J. Circular polymerase extension cloning of complex gene libraries and pathways. *PLoS ONE*, 2009, vol. 4, no. 7, e6441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006441>
13. You C., Zhang X. Z., Zhang Y. H. P. Simple cloning via direct transformation of PCR product (DNA multimer) to *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, vol. 78, no. 5, pp. 1593–1595. <https://doi.org/10.1128/aem.07105-11>
14. Arnaud N., Cheynet V., Oriol G., Mandrand B., Mallet F. Construction and expression of a modular gene encoding bacteriophage T7 RNA polymerase. *Gene*, 1997, vol. 199, no. 1–2, pp. 149–156. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(97\)00362-4](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(97)00362-4)

Информация об авторах

Казловский Илья Сергеевич – магистр биол. наук, мл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonardo_139@mail.ru.

Зинченко Анатолий Иванович – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: zinch@mbio.bas-net.by.

Information about the authors

Kazlovskiy Il'ya Sergeevich – Master of Biology, Junior researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leonardo_139@mail.ru.

Zinchenko Anatoliy Ivanovich – Corresponding Member, D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zinch@mbio.bas-net.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

МЕДИЦИНА
MEDICINE

УДК 575.174.015.3:[616.72-002.053+616.72-002.772]
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-608-614>

Поступило в редакцию 10.09.2018
Received 10.09.2018

**А. А. Яцкив¹, Д. В. Большакова¹, А. М. Чичко², В. Е. Ягур²,
академик А. В. Сукало², Р. И. Гончарова¹**

¹Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

**ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА -174G/C ГЕНА IL-6 НА ВЕРОЯТНОСТЬ РАЗВИТИЯ
РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА У ДЕТСКОГО И ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

Аннотация. Для ранней диагностики аутоиммунных ревматических заболеваний, а также прогнозирования их течения, использование исключительно клинических инструментальных методов может быть недостаточным. Прогресс современной ревматологии во многом обусловлен изучением молекулярно-генетической природы заболеваний и выявлением биомаркеров, позволяющих значительно повысить качество диагностики и облегчающих выбор адекватной терапии. В настоящей работе проведена оценка влияния полиморфизма -174G/C гена *IL-6* на риск развития ревматоидного артрита (РА) у детского и взрослого населения Республики Беларусь. Установлено, что частота встречаемости гомозигот СС ($p = 0,01$; OR = 2,19; 95 % CI [1,31–3,67]) и минорного аллеля С ($p = 0,03$; OR = 1,44; 95 % CI [1,04–2,00]) достоверно выше среди пациентов с ювенильным идиопатическим артритом (ЮИА) в целом и достигает двукратной разницы в группе девочек ($p = 0,04$; OR = 2,55; 95 % CI [1,22–5,36]) по сравнению с группой условно здоровых детей. Кроме того, есть тенденция к повышению частоты встречаемости аллеля С у пациентов с РА ($p = 0,07$), с достижением статистической значимости в случае серонегативного артрита ($p = 0,03$; OR = 3,04; 95 % CI [1,15–8,06]). У детей минорный аллель С ($p = 0,03$; OR = 2,04; 95 % CI [1,09–3,82]) и его гомозиготное состояние ($p = 0,02$; OR = 3,34; 95 % CI [1,38–8,07]) также ассоциированы с серонегативным полиартритом. Таким образом, наличие данного аллеля в исследуемом локусе гена *IL-6* увеличивает вероятность развития определенных подтипов ревматоидного артрита у взрослых и детей и может использоваться при формировании групп риска генетически предрасположенных индивидов.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, ювенильный идиопатический артрит, *IL-6*, генетический полиморфизм

Для цитирования: Влияние полиморфизма -174G/C гена *IL-6* на вероятность развития ревматоидного артрита у детского и взрослого населения Республики Беларусь / А. А. Яцкив [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 608–614. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-608-614>

**Hanna A. Yatskiu¹, Darya V. Balshakova¹, Alexei M. Tchitchko², Victor E. Yagur²,
Academician Alexander V. Sukalo², Roza I. Goncharova¹**

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

**INFLUENCE OF -174G/C IL-6 GENE POLYMORPHISM ON THE SUSCEPTIBILITY TO RHEUMATOID
ARTHRITIS IN CHILDREN AND ADULTS IN THE REPUBLIC OF BELARUS**

Abstract. The usage of clinical and instrumental methods only may be not sufficient for early diagnosis of autoimmune rheumatic diseases, as well as for their course prediction. The progress of modern rheumatology is largely conditioned by the investigation of molecular-genetic nature of diseases and the identification of biomarkers that can significantly improve diag-

nostics and therapeutic approach. The present study aimed to evaluate the effect of -174G/C *IL-6* gene polymorphism on the risk of developing rheumatoid arthritis (RA) in children and adults in Republic of Belarus. It was established that the CC genotype frequency ($p = 0.01$, OR = 2.19; 95 % CI [1.31–3.67]) as well as the C allele frequency ($p = 0.03$; OR = 1.44; 95 % CI [1.04–2.00]) was significantly higher among patients with juvenile idiopathic arthritis (JIA) in the entire group and especially in girls ($p = 0.04$, OR = 2.55; 95 % CI [1.22–5.36]) in comparison with the controls. In addition, there is a tendency to higher frequency of the C allele in adult patients with RA ($p = 0.07$), reaching statistical significance in the case of RF-negative arthritis ($p = 0.03$, OR = 3.04; 95 % CI [1.15–8.06]). The minor C allele ($p = 0.03$, OR = 2.04; 95 % CI [1.09–3.82]) and homozygous CC genotype ($p = 0.02$, OR = 3.34; 95 % CI [1.38–8.07]) are also associated with seronegative polyarthritis in children. Thus, the presence of this allele in the tested locus increases the likelihood of developing certain rheumatoid arthritis subtypes in adults and children and can be used to reveal individuals with genetic predisposition.

Keywords: rheumatoid arthritis, juvenile idiopathic arthritis, *IL-6*, genetic polymorphism

For citation: Yatskiu H. A., Balshakova D. V., Tchitchko A. M., Yagur V. E., Sukalo A. V., Goncharova R. I. Influence of -174G/C *IL-6* gene polymorphism on the susceptibility to rheumatoid arthritis in children and adults in the Republic of Belarus. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 608–614 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-608-614>

Введение. Ревматические заболевания представлены обширной группой иммунозависимых воспалительных болезней, развивающихся из-за неадекватных реакций иммунной системы, спровоцированных сочетанным действием неблагоприятных факторов окружающей среды и генетической предрасположенности. Центральной проблемой современной ревматологии является ревматоидный артрит (РА) – системное заболевание соединительной ткани аутоиммунного характера, затрагивающее различные возрастные группы. РА, развивающийся обычно в среднем и пожилом возрасте, поражает до 1,5 % популяции; ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) проявляется у детей и подростков до 16 лет с частотой распространения до 0,6 % в популяции [1].

Несмотря на существующие различия в клинической картине РА и ЮИА, наследшие свое отражение в классификации заболеваний, считается, что в обоих случаях имеет место сдвиг баланса противовоспалительных и провоспалительных цитокинов в сторону преобладания последних. Одним из таких цитокинов является интерлейкин-6 (ИЛ-6), обладающий широким спектром биологической активности и необходимый, в первую очередь, для дифференциации В-клеток, реализации реакций острой фазы воспаления и иммунного ответа. Нарушение функционирования ИЛ-6 делает его одним из ключевых медиаторов при многих аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваниях. Так, у пациентов с РА и ЮИА уровень ИЛ-6 в синовиальной жидкости пораженных суставов и в плазме крови обычно повышен и коррелирует со степенью активности заболевания [2; 3].

Появление ревматоидного фактора и других аутоантител в результате индукции дифференциации В-клеток, лихорадка и повышение уровня С-реактивного белка (СРБ) как следствие запуска острофазных реакций, деструктивные изменения в суставах из-за активации остеокластов и высвобождения матриксных металлопротеиназ подтверждают вклад ИЛ-6 в развитие системных и локальных симптомов РА как у взрослых, так и у детей [4].

Ген *IL-6*, кодирующий данный гликопротеин, располагается на 7 хромосоме, в локусе 7p15.3. Известно, что на уровень экспрессии ИЛ-6 может влиять наличие в промоторе гена однонуклеотидных полиморфизмов, изменяющих его функциональную активность. Примером может служить трансверсия -174G/C, так как в ряде работ показано, что присутствие G аллеля связано с более высоким уровнем продукции ИЛ-6 [5]. В то же время в некоторых исследованиях обнаружен диаметрально противоположный эффект [6], либо отсутствие такового вообще [7]. Как предполагают А. J. P. Smith и S. E. Humphries [8], эти различия могут объясняться более сложным механизмом регуляции экспрессии гена с участием дистального промотора и потенциальным формированием гаплотипов, изменяющих уровень продукции интерлейкина. Данные о влиянии полиморфизма -174G/C на риск развития ревматических заболеваний детского и взрослого населения также противоречивы, как и информация о модуляции уровня экспрессии. Принимая во внимание тот факт, что частоты аллелей по данному локусу в значительной степени варьируют в разных популяциях [9], целью данной работы стало определение частоты полиморфизма -174G/C гена *IL-6* и его вклада в формирование риска развития РА и ЮИА в белорусской популяции.

Материалы и методы исследования. Общий объем исследуемой выборки составил 584 человека и был разделен на четыре группы: пациенты с клинически верифицированным в соответствии с классификационными диагностическими критериями Американской ревматологической ассоциации, а также новыми критериями ACR/EULAR 2010 г. диагнозом РА – 67 человек в возрасте 28–86 лет и контрольная группа здоровых доноров – 213 человек в возрасте 21–58 лет, сформированные на базе УЗ «9-я городская клиническая больница» г. Минска, а также группа детей с установленным в соответствии с критериями ILAR диагнозом ЮИА – 126 человек в возрасте 1–17 лет и контрольная группа – 178 детей без аутоиммунных и воспалительных заболеваний, проходивших лечение в УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска. Сбор биологического материала (периферической венозной крови) проводился сотрудниками медицинского учреждения после получения письменного информированного согласия. Тотальная геномная ДНК выделялась из образцов крови методом фенол-хлороформной экстракции.

Определение аллельного статуса по полиморфному локусу rs 1800795 (-174G/C) гена *IL-6* осуществляли методом ПЦР в реальном времени с флуоресцентно мечеными TaqMan-зондами [10]. Реакция проводилась в объеме 15 мкл и содержала 15 нг геномной ДНК, 1× смесь для ПЦР с Hot-Start полимеразой (Праймтех), 0,4 мкМ прямого и обратного праймеров (Праймтех) и 0,28 мкМ каждого из специфических зондов (Праймтех). После начальной денатурации в течение 10 мин при 95 °С проводили 41 цикл амплификации со следующим температурно-временным режимом: денатурация при 95 °С – 15 с, отжиг при 60 °С – 30 с и элонгация с детекцией флуоресценции на каждом цикле при 72 °С – 30 с в термоциклере CFX96 (Bio-Rad). Для оценки результатов и присвоения генотипов использовали программное обеспечение Bio-Rad CFX Maestro 1.0.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Statistica 7.0 (StatSoftInc.) и MS Excel (Microsoft Corporation). Статистическую значимость различий в распределении частот аллелей/генотипов в исследуемых выборках оценивали с помощью критерия χ^2 или точного критерия Фишера. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что частота минорного аллеля С полиморфного локуса -174G/C (rs 1800795) гена *IL-6* в контрольной выборке укладывается в диапазон частот, присущих европейским популяциям (25,5–48,5 %), но отличается от таковых для азиатов (4–11 %) [9].

Анализ распределения частот аллелей и генотипов по исследуемому локусу (табл. 1) выявил тенденцию к повышению частоты минорного аллеля С в группе пациентов с РА по сравнению с группой контроля ($p = 0,07$). Для пациентов с ЮИА были обнаружены статистически значимые различия и в распределении генотипов ($p = 0,01$) с увеличением достоверности в случае рецессивной модели наследования ($p = 0,003$), и в распределении аллелей ($p = 0,03$). Гомозиготы СС встречались у детей с ЮИА почти в 2 (OR = 2,19; 95 % CI [1,31–3,67]), а аллель С – в 1,2 раза

Т а б л и ц а 1. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса -174G/C гена *IL-6* в группах пациентов с РА и ЮИА по сравнению с контролем

Table 1. Genotype and allele frequency distribution in the -174G/C polymorphic locus of *IL-6* gene in patients with RA and JIA as compared with controls

Генотипы/Аллели Genotypes/alleles	Частоты, % Frequencies, %		<i>p</i>	Частоты, % Frequencies, %		<i>p</i>	OR	95 % CI
	РА RA <i>n</i> = 67	Контроль (взрослые) Controls (adults) <i>n</i> = 213		ЮИА JIA <i>n</i> = 126	Контроль (дети) Controls (children) <i>n</i> = 178			
GG	23,9	32,9	0,27	23,0	25,8	0,01	0,86	0,50–1,46
GC	47,8	47,4		41,3	53,9		0,6	0,38–0,95
CC	28,3	19,7		35,7	20,3		2,19	1,31–3,67
GG+GC	71,7	80,3	0,14	64,3	79,7	0,003	0,46	0,27–0,76
G	47,8	56,6	0,07	43,7	52,8	0,03	0,69	0,50–0,96
C	52,2	43,4		56,3	47,2		1,44	1,04–2,00

чаще (OR = 1,44; 95 % CI [1,04–2,00]), чем у детей без данной патологии. Полученные данные согласуются с результатами К. Амг и соавт. в пользу повышения риска развития РА у носителей аллеля С ($p < 0,001$) и гомозигот СС ($p = 0,001$) из египетской популяции [11].

Стратификация пациентов по подтипам заболевания (табл. 2) позволила обнаружить следующие закономерности: гомозиготный по полиморфному аллелю вариант генотипа и непосредственно аллель С с высокой частотой представлены в группе пациентов с серонегативным артритом. Причем это справедливо как в отношении детей с полиартикулярным ЮИА ($p = 0,02$; OR = 3,34; 95 % CI [1,38–8,07] для генотипов, $p = 0,03$; OR = 2,04; 95 % CI [1,09–3,82] для аллелей), так и для взрослых с РА ($p = 0,03$; OR = 3,04; 95 % CI [1,15–8,06] для аллелей). Как и в случае общей выборки, лучшие значения статистической значимости были получены с применением рецессивной модели наследования ($p = 0,005$ и $p = 0,03$ для ЮИА и РА соответственно). Примечательно, что, несмотря на неоспоримое сходство иммунно-патогенетических механизмов РА и ЮИА, именно по серологическим характеристикам между ними имеются существенные различия: у детей и подростков в подавляющем большинстве случаев диагностируют серонегативный артрит, тогда как у взрослых в 70–90 % случаев – серопозитивный [1]. В данном исследовании доля пациентов с серопозитивным РА также была высока (84,6 %), а у детей этот подтип заболевания составил всего 1,6 %. Полученные данные свидетельствуют о неодинаковом распределении аллелей локуса -174G/C между подтипами заболевания, различающимися по титру иммунологических маркёров. У детей отмечено двукратное увеличение частоты гомозиготного генотипа СС при системном ЮИА по сравнению с контролем (41,7 против 20,3 %), однако на данной выборке оно не достигло статистической значимости, т. е. пока нам не удалось выявить влияние изучаемого полиморфизма на возникновение системного заболевания, как это было ранее показано D. Fishman и соавт. по отношению к G аллелю [5]. Этот вопрос требует дальнейшего изучения на более обширных выборках пациентов.

Т а б л и ц а 2. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса -174G/C гена *IL-6* у пациентов при различных подтипах РА и ЮИА по сравнению с контролем

Т а б л и ц а 2. Genotype and allele frequency distribution in the -174G/C polymorphic locus of *IL-6* gene in patients with different RA and JIA subtypes as compared with controls

Анализируемая группа Analyzable group	n	Частоты, % Frequencies, %				
		GG	GC	CC	GG+GC	С аллель
Контроль (дети)	178	25,8	53,9	20,3	79,7	47,2
Олигоартрит ЮИА	76	27,6	42,1	30,3	69,7	51,3
Серонегативный полиартрит ЮИА	24	16,7	37,5	45,8	54,2	64,6
Системный ЮИА	12	16,7	41,7	41,7	58,4	62,5
Контроль (взрослые)	213	32,9	47,4	19,7	80,3	43,4
Серопозитивный РА	55	25,5	49,0	25,5	74,5	50,0
Серонегативный РА	10	10,0	40,0	50,0	60,0	70,0

Пр и м е ч а н и е. Жирным шрифтом отмечены статистически значимые различия ($p < 0,05$) с контролем.
N o t e. Statistically significant differences ($p < 0.05$) in comparison with controls are shown in bold.

Поскольку РА и ЮИА преимущественно поражают женщин и девочек, предпринята попытка проанализировать распределение генотипов/аллелей по локусу *IL-6* -174G/C в зависимости от пола (табл. 3).

Статистическая обработка данных показала отсутствие значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов при сравнении взрослых пациентов с РА и контрольной группы вне зависимости от пола, в то время как в группе девочек с ЮИА частота гомозигот СС оказалась

Т а б л и ц а 3. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса -174G/C гена *IL-6* в зависимости от пола пациентов с РА и ЮИА по сравнению с контролем

Table 3. Genotype and allele frequency distribution in the -174G/C polymorphic locus of *IL-6* gene depending on sex of RA and JIA patients as compared with controls

Генотипы/Аллели Genotypes/alleles	Частоты, % Frequencies, %				Частоты, % Frequencies, %			
	Женщины/девочки Females				Мужчины/мальчики Males			
	ЮИА JIA	Контроль (дети) Controls (children)	РА RA	Контроль (взрослые) Controls (adults)	ЮИА JIA	Контроль (дети) Controls (children)	РА RA	Контроль (взрослые) Controls (adults)
GG	18,2	25,7	24,4	33,9	34,2	26,0	22,7	31,6
GC	46,6	56,8	51,2	50,4	28,9	52,0	40,9	43,9
CC	35,2	17,5	24,4	15,7	36,8	22,0	36,4	24,5
GG+GC	64,8	82,5	75,6	84,3	63,1	78,0	63,6	75,5
G	41,5	54,1	50,0	59,1	51,4	51,1	43,2	53,6
C	58,5	45,9	50,0	40,9	45,9	48,1	56,8	46,4

Пр и м е ч а н и е. Жирным шрифтом отмечены статистически значимые различия ($p < 0,05$) с контролем.
N o t e. Statistically significant differences ($p < 0.05$) in comparison with controls are shown in bold.

в 2 раза выше, чем у девочек без данного заболевания ($p = 0,04$; OR = 2,55; 95 % CI [1,22–5,36] с увеличением значимости до $p = 0,01$ при использовании рецессивной модели). Частота аллеля С также была выше у девочек с ЮИА ($p = 0,02$; OR = 1,66; 95 % CI [1,07–2,58]). Кроме того, наблюдалось увеличение частоты встречаемости гомозиготного генотипа СС среди мальчиков с ЮИА по сравнению с мальчиками из контрольной группы ($p = 0,05$).

Хотя результаты большинства отдельных исследований указывают на отсутствие связи полиморфизма -174G/C *IL-6* с риском развития РА, мета-анализ S. A. Dağ и соавт. [9] говорит об обратном. Наши данные также свидетельствуют о вовлеченности локуса -174G/C *IL-6* в формирование предрасположенности к ЮИА и необходимости продолжения работ в данном направлении на увеличенных гомогенных выборках с учетом их этнической принадлежности.

Заключение. Нами показано, что полиморфный локус -174G/C гена *IL-6* оказывает влияние на формирование предрасположенности к ЮИА и РА у детского и взрослого населения белорусской популяции. Носители минорного аллеля С больше подвержены развитию серонегативного РА и полиартикулярного серонегативного ЮИА. Знания о влиянии молекулярных маркеров на риск развития и течение заболевания необходимы для выявления генетически предрасположенных групп и позволят значительно улучшить раннюю диагностику ревматоидного артрита.

Список использованных источников

1. Насонов, Е. Л. Ревматология: национальное руководство / Е. Л. Насонов, В. А. Насонова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 720 с.
2. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis / T. Hirano [et al.] // European Journal of Immunology. – 1988. – Vol. 18, N 11. – P. 1797–1801. <https://doi.org/10.1002/eji.1830181122>
3. Serial estimation of interleukin 6 as a measure of systemic disease in rheumatoid arthritis / B. Dasgupta [et al.] // J. Rheumatol. – 1992. – Vol. 19, N 1. – P. 22–25.
4. Cronstein, B. N. Interleukin-6: A Key Mediator of Systemic and Local Symptoms in Rheumatoid Arthritis / B. N. Cronstein // Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases. – 2007. – Vol. 65, Suppl. 1. – P. S11–15.

5. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis / D. Fishman [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1998. – Vol. 102, N 7. – P. 1369–1376. <https://doi.org/10.1172/jci2629>
6. IL-6 gene polymorphism is associated with protein serum level and disease activity in Polish patients with rheumatoid arthritis / J. Wielioska [et al.] // *HLA.* – 2018. – July. <https://doi.org/10.1111/tan.13355>
7. Interleukin-6-174 promoter polymorphism does not influence IL-6 production after LPS and IL-1 beta stimulation in human umbilical cord vein endothelial cells / P. Kizel [et al.] // *Cytokine.* – 2007. – Vol. 40, N 1. – P. 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2007.08.001>
8. Smith, A. J. P. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality / A. J. P. Smith, S. E. Humphries // *Cytokine & Growth Factor Reviews.* – 2009. – Vol. 20, N 1. – P. 43–59. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2008.11.006>
9. Interleukin-6-174G>C (rs1800795) polymorphism distribution and its association with rheumatoid arthritis: A case-control study and meta-analysis / S. A. Dar [et al.] // *Autoimmunity.* – 2017. – Vol. 50, N 3. – P. 158–169. <https://doi.org/10.1080/08916934.2016.1261833>
10. Association of Tumor Necrosis Factor α , Interleukin 6, and Interleukin 10 promoter polymorphism with proliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetic subjects / S. K. Paine [et al.] // *Retina.* – 2012. – Vol. 32, N 6 – P. 1197–1203. <https://doi.org/10.1097/iae.0b013e31822f55f3>
11. Amr, K. Assessment of the -174G/C (rs1800795) and -572G/C (rs1800796) Interleukin 6 Gene Polymorphisms in Egyptian Patients with Rheumatoid Arthritis / K. Amr, R. El-Awady, H. Raslan // *Macedonian Journal of Medical Sciences.* – 2016. – Vol. 4, N 4. – P. 574–577. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2016.110>

References

1. Nasonov E. L., Nasonova V. A. *Rheumatology: The National Guidelines.* Moscow, GEOTAR-Media, 2008. 720 p. (in Russian).
2. Hirano T., Matsuda T., Turner M., Miyasaka N., Buchan G., Tang B., Sato K., Shimi M., Maid R., Feldmann M., Kishimoto T. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *European Journal of Immunology*, 1988, vol. 18, no. 11, pp. 1797–1801. <https://doi.org/10.1002/eji.1830181122>
3. Dasgupta B., Corkill M., Kirkham B., Gibson T., Panayi G. Serial estimation of interleukin 6 as a measure of systemic disease in rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 1992, vol. 19, no. 1, pp. 22–25.
4. Cronstein B. N. Interleukin-6: A Key Mediator of Systemic and Local Symptoms in Rheumatoid Arthritis. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases*, 2007, vol. 65, suppl. 1, pp. S11–15.
5. Fishman D., Faulds G., Jeffery R., Mohamed-Ali V., Yudkin J. S., Humphries S., Woo P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Journal of Clinical Investigation*, 1998, vol. 102, no. 7, pp. 1369–1376. <https://doi.org/10.1172/jci2629>
6. Wielińska J., Dratwa M., Świerkot J., Korman L., Iwaszko M., Wysoczańska B., Bogunia-Kubik K. IL-6 gene polymorphism is associated with protein serum level and disease activity in Polish patients with rheumatoid arthritis. *HLA*, 2018, July. <https://doi.org/10.1111/tan.13355>
7. Kizel P., Mako V., Prohaszka Z., Cervenak L. Interleukin-6-174 promoter polymorphism does not influence IL-6 production after LPS and IL-1 beta stimulation in human umbilical cord vein endothelial cells. *Cytokine*, 2007, vol. 40, no. 1, pp. 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2007.08.001>
8. Smith A. J. P., Humphries S. E. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2009, vol. 20, no. 1, pp. 43–59. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2008.11.006>
9. Dar S. A., Haque S., Mandal R. K., Sing T., Wahid M., Jawed A., Panda A. K., Akhter N., Lohani M., Areeshi M. Y., Rai G., Datt S., Bhattacharya S. N., Ramachandran V. G., Das S. Interleukin-6-174G > C (rs1800795) polymorphism distribution and its association with rheumatoid arthritis: A case-control study and meta-analysis. *Autoimmunity*, 2017, vol. 50, no. 3, pp. 158–169. <https://doi.org/10.1080/08916934.2016.1261833>
10. Paine S. K., Sen A., Choudhuri S., Mondal L. K., Chowdhury I. H., Basu A., Mukherjee A., Bhattacharya B. Association of Tumor Necrosis Factor α , Interleukin 6, and Interleukin 10 promoter polymorphism with proliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetic subjects. *Retina*, 2012, vol. 32, no. 6, pp. 1197–1203. <https://doi.org/10.1097/iae.0b013e31822f55f3>
11. Amr K., El-Awady R., Raslan H. Assessment of the -174G/C (rs1800795) and -572G/C (rs1800796) Interleukin 6 Gene Polymorphisms in Egyptian Patients with Rheumatoid Arthritis. *Macedonian Journal of Medical Sciences*, 2016, vol. 4, no. 4, pp. 574–577. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2016.110>

Информация об авторах

Яцкив Анна Андреевна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.yatskiv@igc.by.

Большакова Дарья Валерьевна – стажер мл. научного сотрудника. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: bolshakova.d.v@tut.by.

Чичко Алексей Михайлович – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: childill1@bsmu.by.

Ягур Виктор Евгеньевич – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: yagur1@tut.by.

Сукало Александр Васильевич – академик, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: childill1@bsmu.by.

Гончарова Роза Иосифовна – д-р биол. наук, профессор, заведующая лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: R.Goncharova@igc.by.

Information about the authors

Yatskiu Hanna Andreevna – Junior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.yatskiv@igc.by.

Balshakova Darya Valerievna – Trainee. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bolshakova.d.v@tut.by.

Tchitchko Alexei Mihailovich – Ph. D. (Medicine), Assistant professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: childill1@bsmu.by.

Yagur Victor Evgenievich – D. Sc. (Medicine), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yagur1@tut.by.

Sukalo Alexander Vasilievich – Academician, D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: childill1@bsmu.by.

Goncharova Roza Iosifovna – D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: R.Goncharova@igc.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ
TECHNICAL SCIENCES

УДК 538.975; 548.248; 548.232.4
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-615-622>

Поступило в редакцию 08.05.2018
Received 08.05.2018

Д. В. Якимчук, Е. Ю. Каниюков, В. Д. Бундюкова, С. Е. Демьянов

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по материаловедению,
Минск, Республика Беларусь*

**ПЛАЗМОННО-АКТИВНЫЕ СЕРЕБРЯНЫЕ НАНОСТРУКТУРЫ
В ПОРАХ ИОННО-ТРЕКОВОГО ШАБЛОНА SiO₂ НА КРЕМНИИ**

(Представлено членом-корреспондентом В. М. Федосюком)

Аннотация. На сегодняшний день интенсивно исследуется возможность усиления сигнала комбинационного рассеяния света с целью реализации простого и надежного инструмента для контроля сверхмалых концентраций химических и биологических веществ. В качестве основы усиливающих сигнал подложек могут выступать плазмонно-активные наноструктуры, степень усиления которых определяется их размером и формой. Формирование наноструктур с заранее заданной морфологией требует разработки новых методик. В связи с этим в работе рассматривается комплексный подход к получению в порах ионно-трековых шаблонов SiO₂ на кремнии плазмонно-активных серебряных наноструктур, имеющих широкий спектр форм и размеров. Рассмотрены особенности создания SiO₂-шаблонов и установлены скорости травления, однозначно определяющие параметры пор в зависимости от времени процесса. Описаны особенности формирования серебряных наноструктур в порах SiO₂-шаблона при различных размерах пор и режимах синтеза (время и температура раствора). Показана возможность создания наноструктур с различной формой и продемонстрированы закономерности эволюции их морфологии при изменении параметров синтеза. С использованием дендритов, имеющих высокий потенциал для практического применения для усиления сигнала комбинационного рассеяния света, на примере модельного анализатора Nile Blue с концентрацией 10⁻⁶ моль/л продемонстрирована возможность регистрации спектров комбинационного рассеяния света. Полученные результаты свидетельствуют, что плазмонно-активные серебряные наноструктуры в порах ионно-трекового шаблона SiO₂ на кремнии могут найти применение при создании биосенсоров для регистрации сверхнизких доз химических и биологических веществ.

Ключевые слова: серебряные наноструктуры, плазмонные наноструктуры, шаблонный синтез, дендриты, комбинационное рассеяние света

Для цитирования: Плазмонно-активные серебряные наноструктуры в порах ионно-трекового шаблона SiO₂ на кремнии / Д. В. Якимчук [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 615–622. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-615-622>

Dzmitry V. Yakimchuk, Egor Yu. Kaniukov, Victoria D. Bundyukova, Sergey E. Demyanov

*Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus*

**PLASMON-ACTIVE SILVER NANOSTRUCTURES IN THE PORES
OF ION-TRACK TEMPLATE OF SiO₂ ON SILICON**

(Communicated by Corresponding Member Valery M. Fedosyuk)

Abstract. Today, the possibility of amplifying the signal of Raman scattering is intensively studied in order to realize a simple and reliable tool for monitoring of ultra-small concentrations of chemical and biological substances. Plasmon-active nanostructures can serve as the basic element of substrates for signal amplifying, and the degree of amplification is determined by nanostructures size and shape. The formation of nanostructures with a predetermined morphology requires the development of new approaches. In this concern, the paper considers a complex approach of plasmon-active silver nanostructures with

a wide range of shapes and sizes formation in the pores of ion-track SiO_2 templates on silicon. The peculiarities of SiO_2 templates creation are considered and the etching rates, uniquely determining the parameters of the pores as a function of the etching time, are established. The features of the silver nanostructures formation in the pores of the SiO_2 template are described for various pore sizes and synthesis regimes (time and solution temperature). The possibility of formation of nanostructures with different shapes as well as evolution of their morphology with variation of synthesis parameters is shown. On the example of dendrites, having a high potential for practical application for amplification of the Raman scattering signal, the possibility of recording Raman spectra was demonstrated using the model analyzer Nile Blue at the concentration of 10^{-6} M/l. The results indicate that plasmon-active silver nanostructures in the pores of ion-track SiO_2 template on silicon can be used as basic element of biosensors to studying ultra-low doses of chemical and biological substances.

Keywords: silver nanostructures, plasmonic nanostructures, template synthesis, dendrites, Raman scattering

For citation: Yakimchuk D. V., Kaniukov E. Yu., Bundyukova V. D., Demyanov S. E. Plasmon-active silver nanostructures in the pores of ion-track template of SiO_2 on silicon. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 615–622 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-615-622>

Введение. Интенсивное изучение спектроскопии усиленного поверхностью гигантского комбинационного (рамановского) рассеяния света (КРС) связано с возможностью его применения для анализа биологических и химических объектов в сверхмалых количествах [1; 2]. Для усиления сигнала КРС применяются наноструктуры благородных металлов, среди которых отдельно стоит выделить серебряные, обладающие наилучшими усиливающими свойствами. Сегодня принято считать, что усиление сигнала обусловлено двумя механизмами: химическим и электромагнитным [3]. Роль химического механизма заключается в изменении поляризации исследуемой молекулы, а также, в некоторых случаях, образовании комплекса металл–молекула, сопровождаемого перераспределением заряда между исследуемой молекулой и металлической структурой. Химический вклад позволяет увеличить интенсивность КРС в 10^2 – 10^3 [4] и более раз [5]. Электромагнитный механизм, обусловленный появлением на поверхности наноструктур электрических полей с высокой напряженностью («горячих точек»), может вносить гораздо больший вклад в усиление сигнала (теоретически до 10^{11} раз) [6]. «Горячие точки» представляют собой коллективные колебания свободных электронов (плазмонов), возникающих на границе металл–диэлектрик под действием внешней электромагнитной волны (лазера). Молекула исследуемого вещества, попадая в «горячую точку», испытывает КРС с гораздо большей вероятностью. «Горячие точки» возникают при условии плазмонного резонанса: совпадения частоты внешнего электромагнитного поля и частоты плазмонных колебаний. Известно, что положение и интенсивность плазмонного резонанса зависят от размера и формы плазмонной наноструктуры [7]. Управление данными параметрами возможно на этапе синтеза металлических наноструктур. Простым способом задания размера и формы структуре является шаблонный синтез.

Для шаблонного синтеза нанообъектов в основном используются матрицы пористого Al_2O_3 , поликарбонатные и полиимидные мембраны [8; 9]. Однако с точки зрения внедрения наносистем в современные технологические процессы, которые подразумевают использование как основы кремния, более перспективным является использование шаблонов на основе SiO_2 . Поры в таких оксидных слоях могут быть получены с применением ионно-трековой технологии [10; 11]. При этом важным является управление параметрами как отдельных пор (форма, диаметр, аспектное соотношение), так и всей матрицы в целом (толщина SiO_2 , поверхностная плотность пор и степень их перекрытия).

В работе предлагается комплексный подход к получению плазмонно-активных серебряных наноструктур различных размеров и форм, включающий в себя этапы создания пористых шаблонов SiO_2 на кремнии, синтез серебряных структур в различных режимах и тестирование данных структур на предмет усиления сигнала КРС.

Получение пористых матриц SiO_2 на кремнии. При прохождении быстрых тяжелых ионов в твердых телах происходит образование протяженных областей с диаметрами до 50 нм, которые характеризуются измененной плотностью вещества и деформированными химическими связями. С точки зрения скорости травления области радиационных повреждений являются приоритетными по отношению к необлученному материалу, что обуславливает возможность селективного преобразования латентных треков в поры.

В настоящем исследовании в качестве подложек для облучения использовались пластины монокристаллического кремния (p -тип, марка КДБ-12 (100) со слоем аморфного диэлектрика SiO_2 толщиной ~ 600 нм). Облучение проводилось ионами ^{132}Xe , ^{152}Sm , ^{197}Au и ^{238}U с энергией 350 МэВ и флюенсами до $5 \cdot 10^8$ см $^{-2}$ на линейном ускорителе UNILAC (GSI, Дармштадт, Германия). Выбор флюенса обуславливался необходимостью получения впоследствии пространственно-раздельных серебряных наноструктур. Энергия ионов выбиралась близкой к величинам наибольших электронных потерь, для гарантированного получения пор на этапе химического травления. Энергии электронных потерь $(dE/dx)_e$ определялись с использованием программного комплекса SRIM, широко применяемого при определении параметров трекообразования. Величины электронных потерь при выбранных энергиях облучения (350 МэВ) приведены в таблице.

Скорости травления V_T , V_B и половинный угол конуса травления θ

Etching rates V_T , V_B and half angle of the etching cone θ

Ион Ion	$(dE/dx)_e$, кэВ/нм	V_T , нм/мин	V_B , нм/мин	θ , градус
^{132}Xe	16,75	$20,4 \pm 0,5$	$5,8 \pm 0,1$	$16,5 \pm 0,5$
^{152}Sm	16,15	$21,0 \pm 0,5$	$5,8 \pm 0,1$	$16,0 \pm 0,5$
^{197}Au	21,07	$20,0 \pm 1,0$	$5,8 \pm 0,1$	$17,0 \pm 1,0$
^{238}U	23,37	$21,0 \pm 1,0$	$5,8 \pm 0,1$	$16,0 \pm 1,0$

Травление облученного оксида кремния осуществлялось в плавиковой кислоте. Определение характеристических размеров пор проводилось посредством скалывания образцов в поперечном разрезе с последующим их изучением методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе JEOL 7000F. Анализ данных показал, что при выбранных условиях травления на начальных этапах ($t = 9$ мин) на поверхности SiO_2 проявляются небольшие отверстия конической формы, находящиеся на значительном расстоянии друг от друга. С течением времени (18 мин) происходит увеличение внешних диаметров D и высоты l пор. При времени травления ~ 27 мин происходит открытие пор, т. е. толщина слоя оксида кремния L становится равной высоте пор l . В последующем (36 мин) конус становится усеченным, и отдельные поры начинают перекрываться. Продолжение травления приводит к уменьшению толщины оксида с одновременным увеличением диаметров пор и степени их перекрытия (более 45 мин). При времени травления ~ 90 мин происходит перколяция, т. е. в слое SiO_2 появляются непрерывные дорожки соединенных пор через всю поверхность образца. Дальнейшее травление приводит к полному растворению оксида кремния (~ 106 мин).

На основании количественной оценки параметров пор установлено, что все характеристики носят линейный характер. Это позволяет с высокой точностью определить скорости травления вдоль трека V_T , объемного материала V_B и половинный угол конуса травления θ (таблица), которые однозначно определяют параметры получаемых в результате травления пор. Знание скоростей травления дало возможность уточнить времена открытия пор (23 мин) и полного стравливания слоя SiO_2 (106 мин).

На основании анализа скоростей травления V_T , V_B и половинного угла конуса травления θ подложек, облученных ионами ^{132}Xe , ^{152}Sm , ^{197}Au и ^{238}U (таблица) установлено, что все параметры пор в независимости от типа облучающего иона имеют одинаковые параметры в пределах 5-процентной ошибки. Отсутствие зависимости параметров пор от типа облучающего иона (и, соответственно, от энергии электронных потерь) может быть связано с тем, что при столь больших $(dE/dx)_e$ энергия не успевает распространяться на большие расстояния. Другими словами, сначала будет происходить расплавление и испарение материала в центральной области трека и лишь потом увеличение его диаметра.

Обосновать такое положение можно на основании следующих доводов. Передача энергии налетающего иона в облучаемый материал с помощью равновесных термодинамических процессов происходит в наноскопических объемах в течение чрезвычайно короткого периода времени. Поскольку тепловое равновесие достигается через 10 атомных столкновений за время порядка

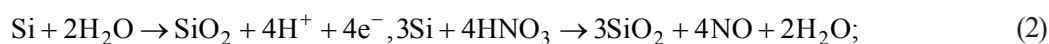
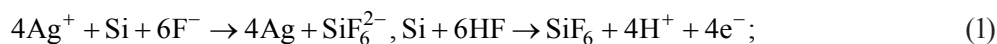
10^{-13} с, то локальное тепловое равновесие может устанавливаться лишь в пределах 0,5 нм. Так как энергия успевает распространиться на небольшие расстояния, то сначала будет происходить расплавление и испарение материала внутри трека и лишь потом увеличение его диаметра. Стоит отметить, что отсутствие зависимости диаметра поры от энергии электронного торможения при $(dE/dx)_e > 15$ КэВ/нм также отмечалось в [12].

Постоянство значений V_T , V_B и θ дает возможность получать исчерпывающую информацию о характеристических размерах пор в любой момент времени. С учетом того, что для большинства быстрых тяжелых ионов половинный угол конуса травления лежит в пределах $(18 \pm 2)^\circ$ [12], знание одной лишь скорости V_B (которую несложно определить на основании измерения толщины SiO_2) позволяет прогнозировать параметры получаемых пор.

При подготовке пористых шаблонов SiO_2 для создания Ag-наноструктур учитывалось, что нуклеация серебра происходит исключительно на кремниевой подложке. Это предопределяло выбор параметров травления, обеспечивающих гарантированное получение открытых пор.

Серебряные наноструктуры в порах SiO_2 на кремнии. Для получения серебряных наноструктур в порах SiO_2 применялось безэлектродное химическое осаждение [13]. В качестве электролита использовался водный раствор нитрата серебра (от 0,01 до 0,1 М с шагом 0,01 М) и плавиковой кислоты (5 М). Температура процесса задавалась в интервале 20–60 °С с шагом 5 °С, для чего электролит выдерживался в течение 40 мин на водяной бане до начала осаждения. Время осаждения не превышало 1 мин.

При растворении в воде AgNO_3 и HF происходит их диссоциация на катионы и анионы Ag^+ , NO_3^- , H^+ , F^- , которые участвуют в последующих химических реакциях, возможные варианты которых приведены ниже:



Из анализа уравнений химических реакций (1)–(3) очевидно, что осаждение серебра в поры происходит при одновременном протекании трех процессов: электрохимического восстановления серебра на кремнии (1) с одновременным протеканием анодного и катодного процессов, окисления кремния (2) и травления SiO_2 в плавиковой кислоте (3).

Изучение поверхности диоксида кремния с серебром, осажденным из раствора, содержащего 0,02 М AgNO_3 при $T = 40$ °С в течение $t = 30$ с в поры различного диаметра, методом СЭМ показало, что при увеличении их диаметра от 200 до 950 нм происходит изменение структуры серебряного осадка в порах от неразветвленных кристаллитов (при малых диаметрах) к «подсолнухоподобным» формам (при больших диаметрах, рис. 1). В интервале диаметров 300–700 нм имеет место образование сильно разветвленных дендритных структур. Для установления закономерностей роста дендритов проводилось изучение временной эволюции морфологии металла при осаждении в матрицу с 500 нм порами при $C_{\text{AgNO}_3} = 0,02$ М и $T = 40$ °С. Характерные СЭМ-изображения полученных наноструктур представлены на рис. 2. Видно, что на начальном этапе осаждения (1–5 с) на открытой поверхности кремния происходит нуклеация зародышей, которые с течением времени увеличивают свои латеральные размеры с выходом над поверхностью SiO_2 (5–15 с), после чего начинается образование дополнительных ответвлений на первичных кристаллах серебра (15–30 с). Продолжение процесса приводит к разрастанию осадка с образованием высокоразвитых дендритных форм. При времени более 60 с развитие структур останавливается из-за закупоривания пор металлом и предотвращения доступа электролита к кремнию.

Определение влияния температуры осаждения на форму серебряного осадка осуществлялось посредством СЭМ-исследования поверхности структур в порах диаметром 500 нм, полученных при осаждении металла в течение 15 с из раствора $C_{\text{AgNO}_3} = 0,02$ М (рис. 3). При температуре 20 °С происходит образование Ag-кристаллитов. При повышении температуры (до 35 °С) проявляется тенденция к разветвлению структуры кристаллитов, однако образования дендри-

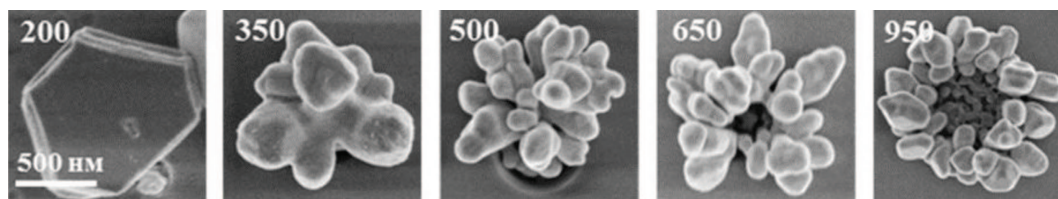


Рис. 1. Эволюция морфологии серебряных наноструктур в зависимости от диаметра пор SiO₂. Диаметры пор в нанометрах указаны в левом верхнем углу рисунков

Fig. 1. Evolution of the morphology of silver nanostructures as a function of SiO₂ pore diameter. The pore diameters in nanometers are indicated in the upper left corner of the figures

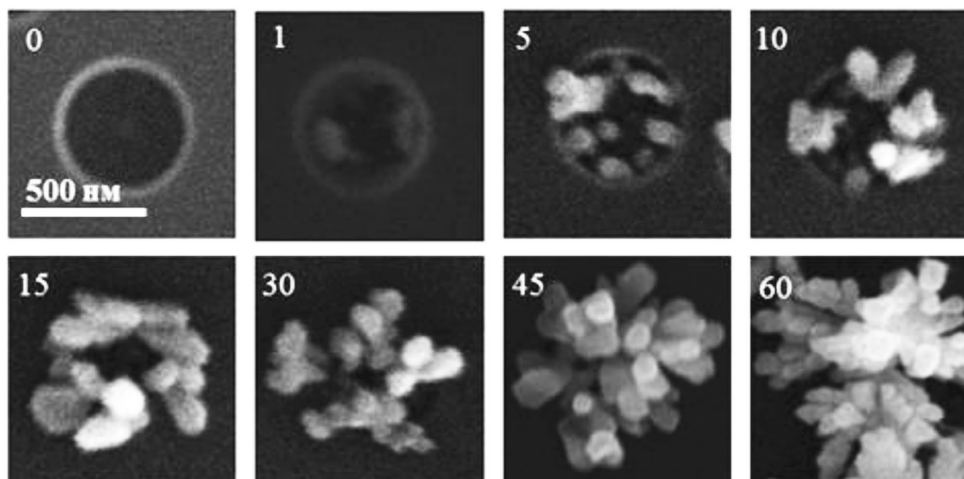


Рис. 2. Эволюция морфологии серебряных наноструктур в зависимости от времени осаждения Ag (время осаждения в секундах указано в левом верхнем углу рисунков)

Fig. 2. Evolution of the morphology of silver nanostructures as a function of the Ag deposition time (the deposition time in seconds is indicated in the upper left corner of the figures)

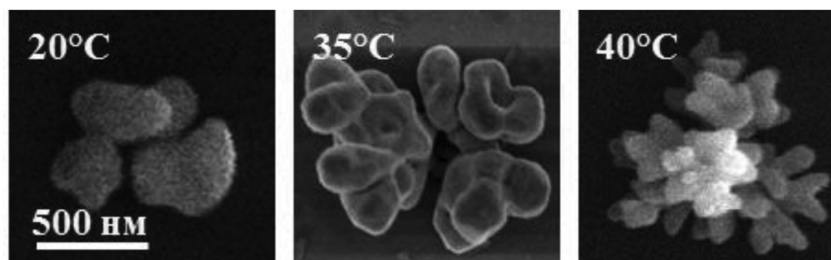


Рис. 3. Эволюция морфологии серебряных наноструктур в зависимости от температуры осаждения Ag (температура осаждения указана в левом верхнем углу рисунков)

Fig. 3. Evolution of the morphology of silver nanostructures as a function of the Ag deposition temperature (deposition temperature are indicated in the upper left corner of the figures)

тов не происходит. При $T = 40\text{--}45\text{ }^\circ\text{C}$ серебряные наноструктуры имеют наиболее развитую морфологию поверхности. Повышение температуры приводит к деградации дендритов с последующим их вырождением в кристаллиты.

Анализ зависимости формы серебряных наноструктур от геометрических параметров пор, времени осаждения и температуры электролита позволяет сделать вывод, что форма серебряных наноструктур зависит от скорости одновременно протекающих процессов, согласно (1)–(3). Знание данных закономерностей предоставляет возможность получения широкой номенклатуры серебряных наноструктур.

Усиление сигнала КРС. Среди многообразия представленных структур для усиления сигнала КРС наиболее перспективными являются дендриты, благодаря их высокоразветвленной

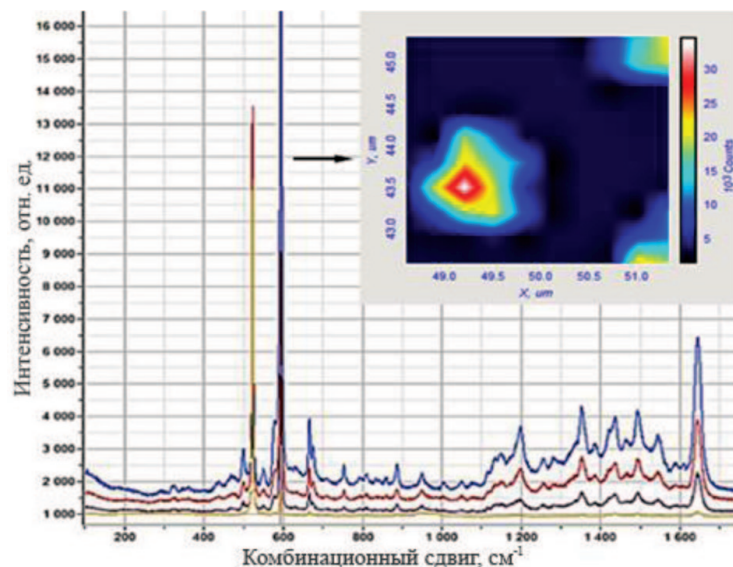


Рис. 4. Картирование спектра комбинационного рассеяния света молекулы Nile Blue с использованием усиливающей поверхности серебряных наноструктур, в порах SiO_2 на подложке кремния

Fig. 4. Mapping of the spectrum of Raman scattering of Nile Blue molecule using an amplifying surface of silver nanostructures, in pores of SiO_2 on a silicon substrate

структуре и наличию большого количества «горячих точек». Отличительной чертой данных дендритов от встречающихся в литературе [14] является то, что они не налагаются друг на друга и пространственно разделены. Таким образом, при нанесении анализата, молекулы не проникнут за другой слой дендритов (в виду его отсутствия) и будут доступны для поля лазера при проведении КРС измерений.

Тестовые эксперименты по изучению усиления сигнала КРС модельного анализата Nile Blue ($\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}$) при картировании поверхности систем, содержащих серебряные дендриты в порах оксида кремния, показали возможность регистрации концентрации NB менее 10^{-6} М (рис. 4). Это указывает на то, что предложенные наноструктуры могут использоваться в качестве элементов для усиления КРС, применительно к биосенсорике.

Заключение. В результате проведенной работы сформированы пористые матрицы аморфного диоксида кремния на кремниевой подложке посредством химического травления высокодефектных областей в слое SiO_2 , образовавшихся в результате облучения быстрыми тяжелыми ионами. Установлены скорости травления, однозначно определяющие параметры пор в зависимости от времени процесса. Параметры пор напрямую зависят от времени травления, что позволяет регулировать диаметры пор, их высоту и степень перекрытия. Выращены серебряные наноструктуры сложной формы в порах диоксида кремния. Показано, что процесс самоорганизации серебряных наноструктур в ограниченном объеме зависит от скорости реакций восстановления серебра, окисления кремния, а также травления диоксида кремния и может управляться как параметрами химического осаждения (температурой и временем осаждения), так и параметрами самой пористой матрицы (геометрические характеристики пор). Это позволяет формировать широкий ряд объектов заданной формы, включая дендриты. Эксперименты по исследованию сигнала КРС на молекулах модельного анализата Nile Blue показали возможность использования данных наноструктур для детектирования низких концентраций 10^{-6} М анализата, что указывает на возможность их применения в качестве плазмонно-активных подложек для спектроскопии гигантского КРС, усиленного поверхностью.

Благодарности. Исследование выполнено в рамках программы «Технология СГ» (задание № 3.1.5.1).

Acknowledgements. Investigation was carried out within the framework of the “Technology SG” program (contract no. 3.1.5.1).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Halvorson, R. A. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) for Environmental Analyses / R. A. Halvorson, P. J. Vikesland // *Environ. Sci. Technol.* – 2010. – Vol. 44, N 20. – P. 7749–7755. <https://doi.org/10.1021/es101228z>
2. Clinical SERS: are we there yet? / K. W. Kho [et al.] // *J. Biophotonics.* – 2011. – Vol. 4, N 10. – P. 667–684. <https://doi.org/10.1002/jbio.201100047>
3. Kneipp, K. Surface-enhanced raman scattering / K. Kneipp // *Phys. Today.* – 2007. – Vol. 60, N 11. – P. 40–46. <https://doi.org/10.1063/1.2812122>
4. On the chemical bonding effects in the Raman response: Benzenethiol adsorbed on silver clusters / S. K. Saikin [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2009. – Vol. 11, N 41. – P. 9401–9411. <https://doi.org/10.1039/b906885f>
5. Exploring the chemical enhancement for surface-enhanced Raman scattering with Au bowtie nanoantennas / D. P. Fromm [et al.] // *J. Chem. Phys.* – 2006. – Vol. 124, N 6. – P. 61101. <https://doi.org/10.1063/1.2167649>
6. Electromagnetic theories of surface-enhanced Raman spectroscopy / S.-Y. Ding [et al.] // *Chem. Soc. Rev.* – 2017. – Vol. 46, N 13. – P. 4042. <https://doi.org/10.1039/c7cs00238f>
7. Noguez, C. Surface Plasmons on Metal Nanoparticles: The Influence of Shape and Physical Environment / C. Noguez // *J. Phys. Chem. C.* – 2007. – Vol. 111, N 10. – P. 3806–3819. <https://doi.org/10.1021/jp066539m>
8. High energy ion beam irradiation of polymers for electronic applications / D. Fink [et al.] // *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms.* – 2005. – Vol. 236, N 1–4. – P. 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2005.03.243>
9. Evolution of the polyethylene terephthalate track membranes parameters at the etching process / E. Y. Kaniukov [et al.] // *J. Contemp. Phys. (Armenian Acad. Sci.).* – 2017. – Vol. 52, N 2. – P. 155–160. <https://doi.org/10.3103/s1068337217020098>
10. Benyagoub, A. Ion tracks in amorphous silica / A. Benyagoub, M. Toulemonde // *J. Mater. Res.* – 2015. – Vol. 30, N 9. – P. 1529–1543. <https://doi.org/10.1557/jmr.2015.75>
11. Tunable nanoporous silicon oxide templates by swift heavy ion tracks technology / E. Y. Kaniukov [et al.] // *Nanotechnology.* – 2016. – Vol. 27, N 11. – P. 115305. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/27/11/115305>
12. Devine, R. A. B. Macroscopic and microscopic effects of radiation in amorphous SiO₂ / R. A. B. Devine // *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms.* – 1994. – Vol. 91, N 1–4. – P. 378–390. [https://doi.org/10.1016/0168-583x\(94\)96253-7](https://doi.org/10.1016/0168-583x(94)96253-7)
13. Silver nanocrystals with special shapes: controlled synthesis and their surface-enhanced Raman scattering properties / M. Yan [et al.] // *RSC Adv.* – 2014. – Vol. 4, N 1. – P. 98–104. <https://doi.org/10.1039/c3ra44437f>
14. Feng, C. Silver nano-dendritic crystal film: a rapid dehydration SERS substrate of totally new concept / C. Feng, Y. Zhao, Y. Jiang // *RSC Adv.* – 2015. – Vol. 5, N 6. – P. 4578–4585. <https://doi.org/10.1039/c4ra11376d>

References

1. Halvorson R. A., Vikesland P. J. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) for Environmental Analyses. *Environmental Science & Technology*, 2010, vol. 44, no. 20, pp. 7749–7755. <https://doi.org/10.1021/es101228z>
2. Kho K. W., Fu C. Y., Dinis U. S., Olivo M. Clinical SERS: are we there yet? *Journal of Biophotonics*, 2011, vol. 4, no. 10, pp. 667–684. <https://doi.org/10.1002/jbio.201100047>
3. Kneipp K. Surface-enhanced raman scattering. *Physics Today*, 2007, vol. 60, no. 11, pp. 40–46. <https://doi.org/10.1063/1.2812122>
4. Saikin S. K., Olivares-Amaya R., Rappoport D., Stopa M., Aspuru-Guzik A. On the chemical bonding effects in the Raman response: Benzenethiol adsorbed on silver clusters. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2009, vol. 11, no. 41, pp. 9401–9411. <https://doi.org/10.1039/b906885f>
5. Fromm D. P., Sundaramurthy A., Kinkhabwala A., Schuck P. J., Kino G. S., Moerner W. E. Exploring the chemical enhancement for surface-enhanced Raman scattering with Au bowtie nanoantennas. *Journal of Chemical Physics*, 2006, vol. 124, no. 6, pp. 61101. <https://doi.org/10.1063/1.2167649>
6. Ding S.-Y., You E.-M., Tian Z.-Q., Moskovits M. Electromagnetic theories of surface-enhanced Raman spectroscopy. *Chemical Society Reviews*, 2017, vol. 46, no. 13, pp. 4042. <https://doi.org/10.1039/c7cs00238f>
7. Noguez C. Surface Plasmons on Metal Nanoparticles: The Influence of Shape and Physical Environment. *Journal of Physical Chemistry C*, 2007, vol. 111, no. 10, pp. 3806–3819. <https://doi.org/10.1021/jp066539m>
8. Fink D., Alegaonkar P.S., Petrov A. V., Wilhelm M., Szimkowiak P., Behar M., Sinha D., Fahrner W. R., Hoppe K., Chadderton L. T. High energy ion beam irradiation of polymers for electronic applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 2005, vol. 236, no. 1–4, pp. 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2005.03.243>
9. Kaniukov E. Y., Shumskaya E. E., Yakimchuk D. V., Kozlovskiy A. L., Ibragimova M. A., Zdorovets M. V. Evolution of the polyethylene terephthalate track membranes parameters at the etching process. *Journal of Contemporary Physics (Armenian Academy of Sciences)*, 2017, vol. 52, no. 2, pp. 155–160. <https://doi.org/10.3103/s1068337217020098>
10. Benyagoub M., Toulemonde M. Ion tracks in amorphous silica. *Journal of Materials Research*, 2015, vol. 30, no. 9, pp. 1529–1543. <https://doi.org/10.1557/jmr.2015.75>
11. Kaniukov E. Y., Ustarroz J., Yakimchuk D. V., Petrova M., Terryn H., Sivakov V., Petrov A. V. Tunable nanoporous silicon oxide templates by swift heavy ion tracks technology. *Nanotechnology*, 2016, vol. 27, no. 11, p. 115305. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/27/11/115305>

12. Devine R. A. B. Macroscopic and microscopic effects of radiation in amorphous SiO₂. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 1994, vol. 91, no. 1–4, pp. 378–390. [https://doi.org/10.1016/0168-583x\(94\)96253-7](https://doi.org/10.1016/0168-583x(94)96253-7)

13. Yan M., Xiang Y., Liu L., Chai L., Li X., Feng T. Silver nanocrystals with special shapes: controlled synthesis and their surface-enhanced Raman scattering properties. *RSC Advances*, 2014, vol. 4, no. 1, pp. 98–104. <https://doi.org/10.1039/c3ra44437f>

14. Feng C., Zhao Y., Jiang Y. Silver nano-dendritic crystal film: a rapid dehydration SERS substrate of totally new concept. *RSC Advances*, 2015, vol. 5, no. 6, pp. 4578–4585. <https://doi.org/10.1039/c4ra11376d>

Информация об авторах

Якимчук Дмитрий Владимирович – мл. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: dim2yakim@gmail.com.

Канюков Егор Юрьевич – канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ka.egor@mail.ru.

Бундюкова Виктория Дмитриевна – мл. науч. сотрудник. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: victoria.bundyukova@gmail.com.

Демьянов Сергей Евгеньевич – д-р физ.-мат. наук, доцент, заведующий отделом. НПЦ НАН Беларуси по материаловедению (ул. П. Бровки, 19, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: demyanov@physics.by.

Information about the authors

Yakimchuk Dmitry Vladimirovich – Junior researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dim2yakim@gmail.com.

Kaniukov Egor Yurevich – Ph. D. (Physics and Mathematics), Leading researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ka.egor@mail.ru.

Bundyukova Victoria Dmitrievna – Junior researcher. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: victoria.bundyukova@gmail.com.

Demyanov Sergey Evgen'evich – D. Sc. (Physics and Mathematics), Assistant professor, Head of the Department. Scientific and Practical Materials Research Centre of the National Academy of Sciences of Belarus (19, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: demyanov@physics.by.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

СОЦИАЛЬНО-ГУМАНИТАРНЫЕ НАУКИ
SOCIAL SCIENCES AND HUMANITIES

УДК 904
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-623-632>

Поступило в редакцию 01.10.2018
Received 01.10.2018

О. Н. Левко

Институт истории Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

**ИСТОКИ БЕЛОРУССКОЙ ГОСУДАРСТВЕННОСТИ: КОНЦЕПЦИИ
И ФАКТЫ ТЫСЯЧЕЛЕТНЕЙ ИСТОРИИ**

(Представлено членом-корреспондентом А. А. Коваленей)

Аннотация. В отечественной исторической науке до настоящего времени превалирует концепция о создании единого Древнерусского государства у восточных славян, согласно которой центром государства был Киев, объединивший в IX–X вв. летописные племенные княжения в одну территориально-политическую структуру. Их центры в составе государства управляли отдельными волостями, а в период его дробления (XII–XIII вв.) удельными княжествами – землями.

На новом фактическом материале обосновывается иная концепция формирования и развития раннегосударственных образований у восточных славян. Три ведущих территориально-политических центра племенной эпохи: Киев, Новгород и Полоцк на местной основе заложили фундамент государственности у восточных славян. Полоцк был центром раннегосударственного образования «Полоцкая земля», имеющего собственную территорию, правящую княжескую династию. Полоцкая земля охватывала территорию современной Северной и Центральной Беларуси. Внешняя и внутренняя политика этого образования направлена на упрочение его политического и экономического престижа, сохранение целостности на протяжении X – первой половины XIII в.

Земли Южной и Западной Беларуси на протяжении указанного периода на разных условиях и в разное время входили в состав раннегосударственного образования «Киевская Русь».

Ключевые слова: Древнерусское государство, племенные княжения, Полоцкая земля, раннегосударственные образования, Киевская Русь

Для цитирования: Левко, О. Н. Истоки белорусской государственности: концепции и факты тысячелетней истории / О. Н. Левко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 623–632. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-623-632>

Olga N. Levko

Institute of History of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

**ORIGINS OF THE BELARUSSIAN STATEHOOD: CONCEPTS
AND MILLENNIUM FACTS**

(Communicated by Corresponding Member Aleksandr A. Kovalenia)

Abstract. The concept of creation of the common Old Russian state of the eastern Slavs is dominant in belorussian historical science. According to the concept Kiev united described in chronicles tribal unions in one territorial and political structure and had been the center of the state. Centers of the tribal unions being part of the state ruled over individual regions, and during the period of its fragmentation (XII–XIII centuries), the appanage principalities – the lands.

A new concept of formation and development of early state formations of the eastern Slavs is based on the new facts. Three main territorial and political centers of the tribe period, Kiev, Novgorod and Polotsk became the local base of statehood of the eastern Slavs. Polotsk was the center of the early state formation “the Polotsk land” that had its own territory and ruling dynasty. The Polotsk land covered the territory of modern North and Central Belarus. The aims of external and internal policy of this formation were strengthening its political and economic prestige, preservation of integrity during X – first half of XIII centuries.

Lands of South and West Belarus during above mentioned period on different terms and at different times had been part of early state formation “Kievan Rus”.

Keywords: Old Rus state, tribal unions, Polotsk land, early state formations, Kievan Rus

For citation: Levko O. N. Origins of the Belarussian statehood: concepts and millennium facts. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 623–632 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-623-632>

Введение. Современные государства Россия, Украина и Беларусь – наследники восточнославянских раннегосударственных образований насчитывают более 1150 лет с момента зарождения государственности на своей территории. И этот факт представляется бесспорным, так как находит отражение не только в письменных сообщениях, но и в достоверных археологических материалах, свидетельствующих о высоком уровне развития данных территорий, соответствующем раннегосударственному. Однако имеющиеся в научной литературе представления о путях образования и взаимосвязи данных территориально-политических структур далеко не всегда и не во всем согласуются с продуктом советской эпохи – концепцией о формировании и развитии единого Древнерусского государства.

Основная часть. Термин «государственность» связывается с определенными территорией, формами организации власти, устройства общества, возможностями его элиты вырабатывать и приводить в действие механизмы управления этой территориально-политической структурой и ее развитием.

Процесс государствообразования у славян и иных этно-племенных групп, населявших восточноевропейский ареал, протекал неравномерно и, начиная с середины 1-го тысячелетия, охватывал несколько столетий. Политической формой этих объединений были «княжения». Властные институты княжений представляли племенные собрания, а также князья с дружиной, осуществлявшие сбор дани и выполнявшие военные и судебные функции. Основная масса населения княжений была представлена свободными мужами-общинниками [1, с. 31–40]. В древнерусских летописях называются племена, или союзы племен, представлявшие отдельные этносы, среди которых были и населявшие территорию современной Беларуси: дреговичи, кривичи, радимичи. Эпоха племенных княжений в восточноевропейском регионе датируется обычно от VII до X в. и предшествует образованию государственных структур.

По мнению А. Н. Насонова, раннегосударственным образованием, возникшим в IX в., а в X в. ставшим основой формирования Древнерусского государства была «Русская земля» [2, с. 25–28].

В узком значении термином «Русская земля» летописи XII в. обозначали территорию, включавшую существовавшие в то время Киевское, Черниговское и Переяславское княжества.

Затяжным и неоднозначным был процесс ассимиляции славянами местного населения в зоне формирования Новгородского княжения. Здесь образовались два обширных региона, представленных археологическими культурами длинных курганов и сопок. По мнению В. В. Седова, в VI–VII вв. указанную территорию заняли славяне, пришедшие из областей, входивших в бассейн Вислы и Одера. Культуру псковских длинных курганов исследователь отождествлял с ранними кривичами. С VIII в. в бассейне озер Ильмень и Чудского расселилась новая волна славян (словен), отождествляемых с культурой сопок [3, с. 88, 91, 95, 96]. Археологически установлено, что в VI–VIII вв. длинные курганы с территории Псковщины распространяются в Полоцкое и Витебское Подвинье, занимая и берега левых притоков Западной Двины (реки Ушача, Улла, Свечанка, Лучёса) [4, с. 36–41].

Проведенные белорусскими археологами в последние десятилетия исследования на городищах и селищах Подвинья показывают, что начиная со второй четверти 1-го тысячелетия с территории Поднепровья в данный регион активно проникает праславянская киевская культура, а в VI–VII вв. наряду со славянами из Белорусского Полесья сюда (возможно через Понеманье) приходит и западнославянское население. На территории комплекса Кордон, выявленного в 2015 г. на правом берегу Западной Двины, раскопками обнаружены первые находки античных монет в восточной части Белорусского Подвинья (Витебский регион), датируемые 164 г. и 69–79 гг. В 2017 г. на селище 1 у д. Кордон выявлена еще одна монета, относящаяся уже к Боспорскому царству – халк, чеканенный в Пантикапее в период правления Перисада I (между 345 и 310 гг.

до н. э.). Монеты на правом берегу Витебского Подвинья появились с носителями киевской культуры, дошедшими сюда из днепро-двинского междуречья [5, с. 43–49]. Этот факт находит обоснование и в керамике с расчесами, черняховских бусинах, лунницах с эмалью (рис. 1), связанных с киевской культурой на других памятниках данного региона: селище у г. п. Городок Городокского р-на вблизи верховьев р. Ловать, городище у д. Новое Село Сенненского р-на на притоке Западной Двины – р. Свечанке [6, кн. 2, с. 271–320; 3, кн. 2, с. 263–270].

Находки на селище 1 комплекса Кордон у материка свинцово-оловянистых круглых и трапециевидных бляшек, отличающихся мелкими размерами, а также плохой сохранностью и хрупкостью, имеют близкие параллели среди украшений Подунавья, где они являлись составной частью материальной культуры середины–второй половины 1-го тыс. н. э. Вероятно, контакты со среднеевропейскими территориями обусловили их поступление в Белорусское Подвинье вместе с носителями. На территории центральной Беларуси (междуречье Днепра и Западной Двины) также встречаются керамика и вещи, характерные для западных славян. Форма и размер бляшек

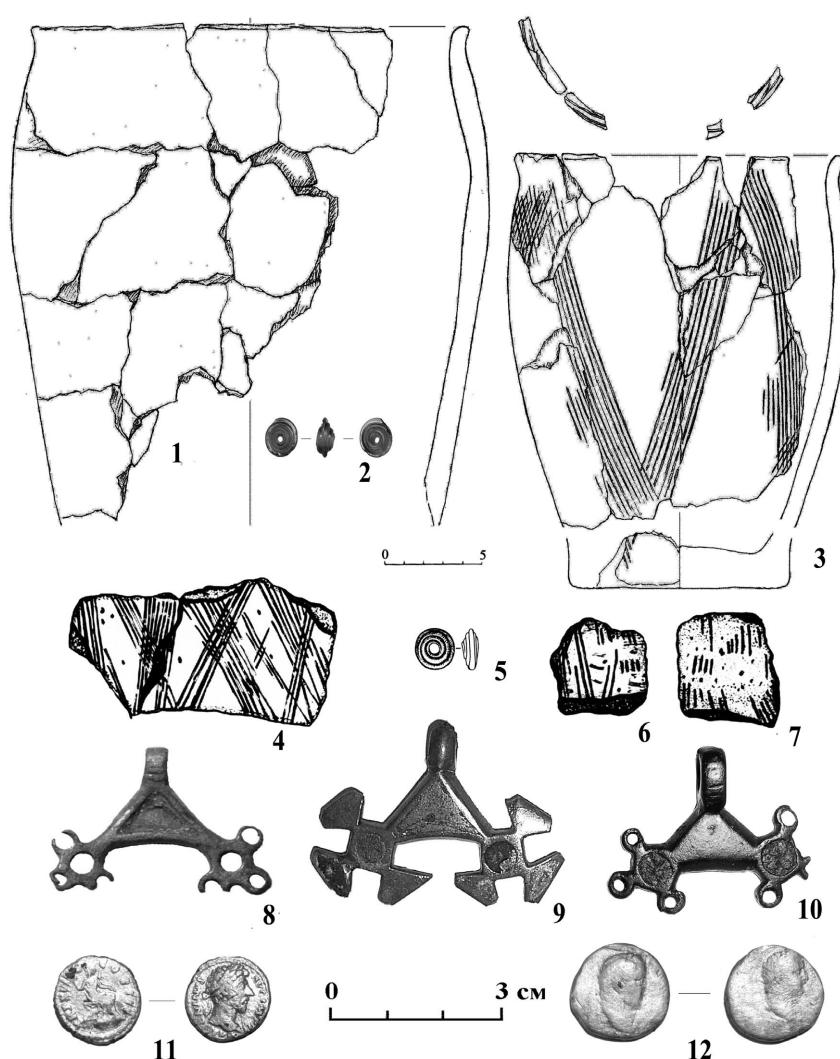


Рис. 1. Вторая четверть 1-го тысячелетия н. э.: керамика (1, 3), стеклянная бусина (2) с городища у д. Новое Село (раскопки П. Н. Подгурского); керамика (4, 6, 7), стеклянная бусина (5) из слоя селища у г. п. Городок (раскопки О. Н. Левко); фибулы с эмалью: Бирули (8), Абидня (9), Черная Лоза (10) (раскопки С. Д. Дерновича, Л. Д. Поболя, П. М. Кенько); римские монеты (11, 12) археологический комплекс Кордон (раскопки О. Н. Левко)

Fig. 1. Second quarter of the 1st millennium of new era: ceramics (1, 3), glass bead (2) from the ancient settlement near the village of Novoye Selo (P. N. Podgursky's excavations); ceramics (4, 6, 7), glass bead (5) from the layer of the ancient settlement near the urban village of Gorodok (O. N. Levko's excavations); enamels: Biruli (8), Abidnya (9), Chernaya Loza (10) (excavations of S. D. Dernovich, L. D. Pobol, P. M. Kenko); roman coins (11, 12) archaeological complex of Cordon (O. N. Levko's excavations)

с Кордона сопоставимы и с аналогичными древностями, выявленными в составе кладов VI–VII вв. на городищах Вежки Дубровенского р-на Витебской области и Горы Горецкого р-на Могилевской области (рис. 2), т. е. на левобережье Верхнего Поднепровья [6, кн. 2, с. 5–13; 7, с. 287–288].

Таким образом, в третьей четверти 1-го тысячелетия территория Центральной и Северной Беларуси оказывается в значительной степени наполненной населением разных славянских групп. Развивается новый массив поселенческих объектов, соотносимый в археологической литературе с банцеровской, тушемлинской, колочинской культурами, которые долгое время исследователи причисляют к ареалу балтов. Между тем, сами вещевые комплексы поселений: Свило-1, Новое Село, Кордон, Вежки и многих других свидетельствуют об их славянской природе.

На рубеже VIII–IX вв. между впадающими в Западную Двину реками Уллой и Ушачей сформировалось ядро предгосударственной полиэтничной территориально-политической структуры – «княжения полоцан». Центр его находился на укрепленном полоцком городище при впадении реки Полоты в Западную Двину. Г. В. Штыхов зафиксировал в основании насыпи вала городища Полоцка горшок, относящийся к культуре длинных курганов, и сделал вывод, что городище было обустроено кривичами. Тот факт, что кривичи были первыми «насельниками» Полоцка

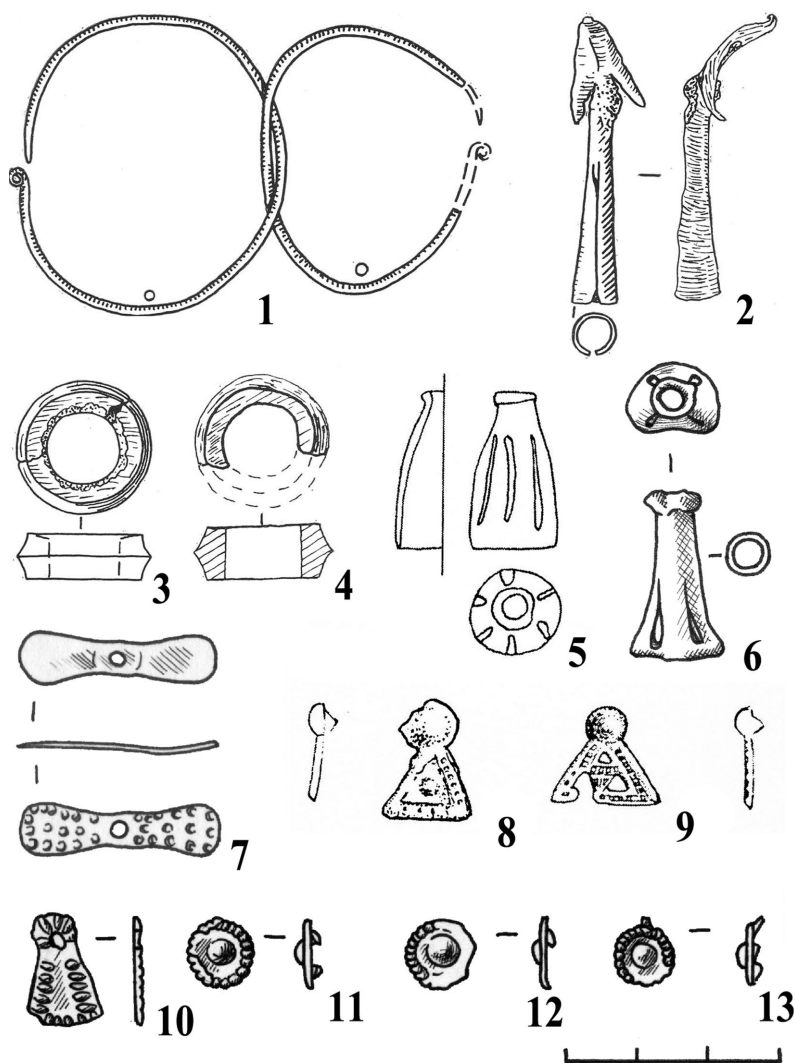


Рис. 2. Третья четверть 1-го тысячелетия н. э.: изделия из цветного металла (1), железа (2), глины (3, 4) с городища Свило-1 (раскопки А. Г. Митрофанова); оловянно-свинцовые украшения (5, 8, 9) с городища Вежки (раскопки Ю. В. Колосовского), (6, 10–13) и серебряная подвеска на пояс (7) с археологического комплекса Кордон (раскопки О. Н. Левко)
 Fig. 2. Third quarter of the 1st millennium of new era: articles of nonferrous metal (1), iron (2), clay (3, 4) from the site of Svilo-1 (A. G. Mitrofanov's excavations); tin-zinc jewelry (5, 8, 9) from the site of Vezhka (Yu. V. Kolosovsky's excavations), (6, 10–13) and silver belt hanger (7) from the archaeological complex of Cordon (O. N. Levko's excavations)

[8, с. 25] имеет и летописное подтверждение. С рубежа VIII–IX вв. Полоцк перекрывает движение балтских импортов по Западной Двине на территорию Смоленщины, замыкая на себе торговые контакты с западом, севером и югом. На Полоцком городище были выявлены значимые для ранней его стадии как центра политического образования артефакты: куфические дирхемы первой половины IX в. [9, с. 42–43].

Уже в начале формирования на основе княжения полочан новой государственной структуры Полоцк попадает на страницы летописи, датируемые 862–865 гг. Варяги – «находники» пытаются взять дань с Полоцка в пользу Рюрика, приглашенного на княжение в северную Русь. Аскольд, утвердившийся в Киеве, также затевает поход на Полоцк. Таким образом, к середине IX в. обозначился политический интерес северной (Новгородчина) и южной (Киевщина) территориально-племенных структур к Полоцкому княжению. В IX–X вв. памятники, расположенные западнее Полоцка (Свило 1, Городец на Мнютке) становятся опорными пунктами расширения территории княжения полочан в этом направлении. В 70-е годы X в. в Полоцке появляется правитель, пришедший «из-за моря» – Рогволод. Он положил начало формированию полоцкой княжеской династии. Этот факт трактуется в современной исторической науке как влияние «скандинавского фактора» на формирование государственности на белорусских землях. По мнению М. Н. Самоновой, вокняжение в середине X в. варягов Рогволода в Полоцке, а Туры в Турове связано с политической нестабильностью в Киевской Руси (убийство в 945 г. князя Игоря древлянами и последовавшая за ним активная деятельность княгини Ольги по восстановлению и расширению главенства Киева над данниками) [10]. С таким предположением можно согласиться, учитывая, что в 947 г. киевская княгиня предприняла поход на север через территорию Беларуси (с Днепра по р. Лучесе к Западной Двине, а затем к р. Ловать, проходящей по Псковщине и Новгородчине). По пути ею, видимо, были основаны также погосты для сбора дани в Витебской и Усвятской волостях [11, с. 156], еще не входивших в состав Полоцкого княжества [4]. Таким образом, увеличился объем государственных доходов Киевской Руси, а следовательно и ее значимость в восточноевропейском регионе. Этим походом была отсечена возможность расширения в X в. владений Полоцка на восток и создавалась угроза их дальнейшему самостоятельному существованию.

На Новгородском Рюриковом городище и в Ладоге власть князя-варяга поддерживал северо-европейский контингент. Многолетние раскопки Рюрикова городища [12] подтвердили летописное сообщение о призвании Рюрика для управления северной Русью. Присутствие на городище варягов-воинов засвидетельствовано находками боевого оружия, культовых скандинавских предметов, элитарностью всего вещевого комплекса. В то же время иноземный князь не собирал с волости доходов, это было прерогативой местной знати. Летописный тезис «рядиль ны по праву» стал основополагающим и в последующие столетия, когда приглашаемый уже из Киева князь правил в Новгороде, получая по условиям договора (ряда) из собранных новгородцами сумм так называемый дар (вознаграждение за исполнение его обязанностей).

Археологическое исследование Полоцкого городища доказывает факт отсутствия на нем иноземного контингента. Следовательно, управление Полоцким княжением и при Рогволоде продолжало осуществляться в ключе местных традиций, сформированных вышедшим из племенной знати боярством («мужами») [9, с. 79].

Не находят мотивированного подкрепления тезисы М. Н. Самоновой о роли правовых обычаев «скандинавского фактора» в вопросе возвращения киевским князем Владимиром Полоцкого княжества Рогнеде и ее сыну Изяславу в качестве «отчины», а также об увеличении территории Полоцкой земли благодаря нахождению на службе у Брячислава шведского конунга Эймунда. Изяслав Владимирович в конце X в. транслировал в Полоцкую землю христианские идеи, внедряемые в жизнь восточных славян его отцом Владимиром Святославовичем. Все последующие представители полоцкого княжеского дома управляли Полоцкой землей в соответствии с интересами элиты полоцкого общества, представленной земельным боярством и городским патрициатом («мужами»). Об этом свидетельствует и договор Брячислава со скандинавскими наемниками, предложившими ему свои услуги. Брячислав подчеркнул, что деньги платит он, но выделяют их его «мужи». Реальная дееспособность этой структуры проявлялась в тече-

ние определенного периода времени в изменяющихся формах внутренних и внешних политических и экономических отношений, переменах в территориально-административном развитии и др.

Особенность формирования экономического фундамента белорусской государственности на раннем ее этапе (IX–X вв.) заключается и в географическом факторе. Уникальный археологический объект эпохи викингов – Кордон на границе полоцких владений (Полоцкое Подвинье) с Витебским Подвиньем в течение 2015–2018 гг. исследовался Институтом истории НАН Беларуси. Кордон характеризуется значительной коллекцией артефактов, свидетельствующих о постоянном функционировании комплекса в пределах рубежа VIII/IX–X вв. [13, с. 87–103]. В вещевом материале последней четверти 1-го тысячелетия н. э. выделяются разнообразные украшения из цветных металлов, накладки на пояса и сумки, имеющие североевропейское, западнославянское

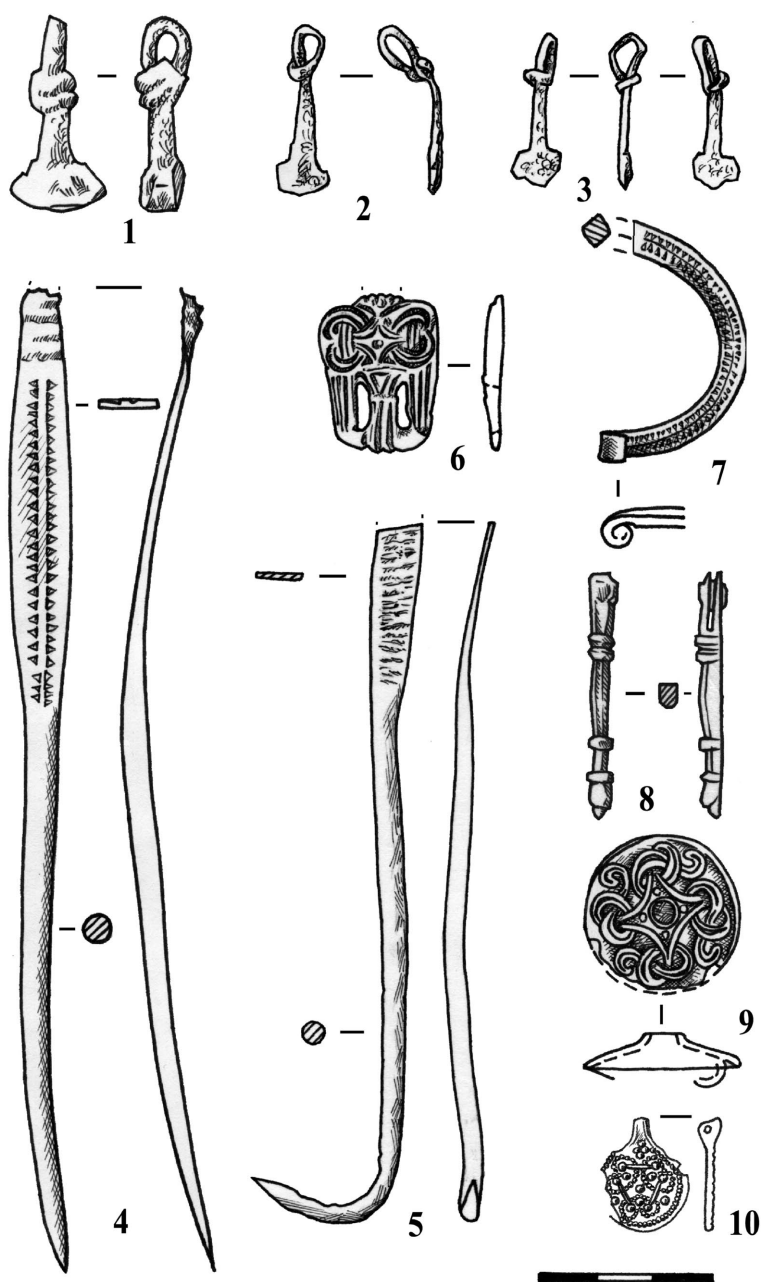


Рис. 3. Археологический комплекс Кордон. Скандинавские изделия из железа (1–3) – молоточки Тора; украшения одежды (4–7, 9), наконечник пояса (8), подвеска (10)

Fig. 3. Archaeological complex of Cordon. Scandinavian products of iron (1–3) – Thor's hammers; clothing decoration (4–7, 9), belt tip (8), pendant (10)

и ближневосточное происхождение. Часть вещей происходит из Волжской Булгарии. Морфологическая унификация и хронологическая синхронность некоторых из них коррелируются с северо-европейскими традициями эпохи викингов. Это отдельные предметы мужского и женского костюма, языческие символы, амулеты и предметы культа. Как правило, большинство из них являются привезенными из Скандинавии, однако нельзя исключать вероятность изготовления на месте, полностью или частично по импортным образцам. Непосредственное пребывание выходцев из Скандинавии на археологическом комплексе Кордон отмечено уникальными для Белорусского Подвинья привесками – амулетами в виде молоточков Тора. В раскопках селищ 1 и 2 в 2017 г. выявлено три экземпляра этих изделий, выполненных из железа (рис. 3:7–5). Данные артефакты считаются символами скандинавского божества Тора. Они характерны для Центральной Швеции, а также встречаются на территории Древней Руси, где датируются IX – концом X в. и началом XI в. Их сакральный статус исключает возможность использования данных предметов в торговле, они выступают как индикаторы скандинавского этнического компонента в материальной культуре населения Кордона.

Место данного уникального памятника Белорусского Подвинья особенно рельефно определяется в системе торговых связей в свете обнаруженного в 2016 г. российскими учеными аналогичного ему по составу вещевого материала IX – начала XI в. селища у д. Горожане Псковской области на р. Смердель (приток р. Локни, впадающей в р. Ловать). Этот объект находится также вблизи истоков р. Великой, что позволяет предположить связь между реками Великой, Ловатью на Псковщине с р. Западной Двиной в Беларуси через систему озер и ее правых притоков. К рубежу VIII/IX вв. в бассейне Западной Двины складывается полиэтничная культура, близкая по основным компонентам как северному псковско-новгородскому региону, так и междуречью Двины и Днепра (рис. 4).

Открытие новых памятников эпохи викингов Кордон и Горожане (рис. 5) показывает, что бассейн Западной Двины был не только зоной активного использования торговым полиэтничным населением начального отрезка пути «из варяг в греки» с верха Днепра до Ловати, но и зоной его проживания в период формирования этого пути. Данный процесс происходил парал-

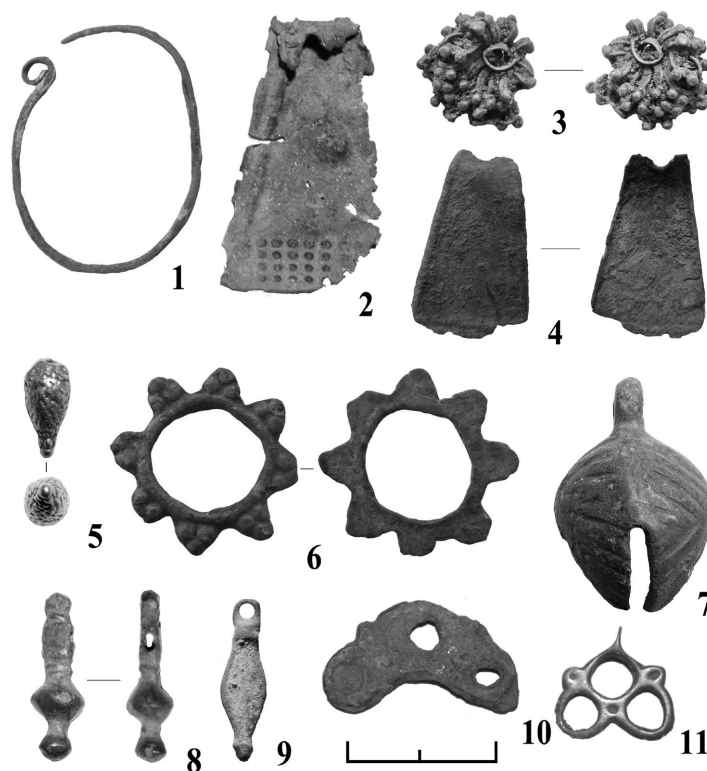


Рис. 4. Археологический комплекс Кордон. Славянские изделия из цветного металла IX–X вв. (1–9, 11), железа (10)
 Fig. 4. Archaeological complex of Cordon. Slavic products of nonferrous metal in IX–X centuries (1–9, 11), of iron (10)

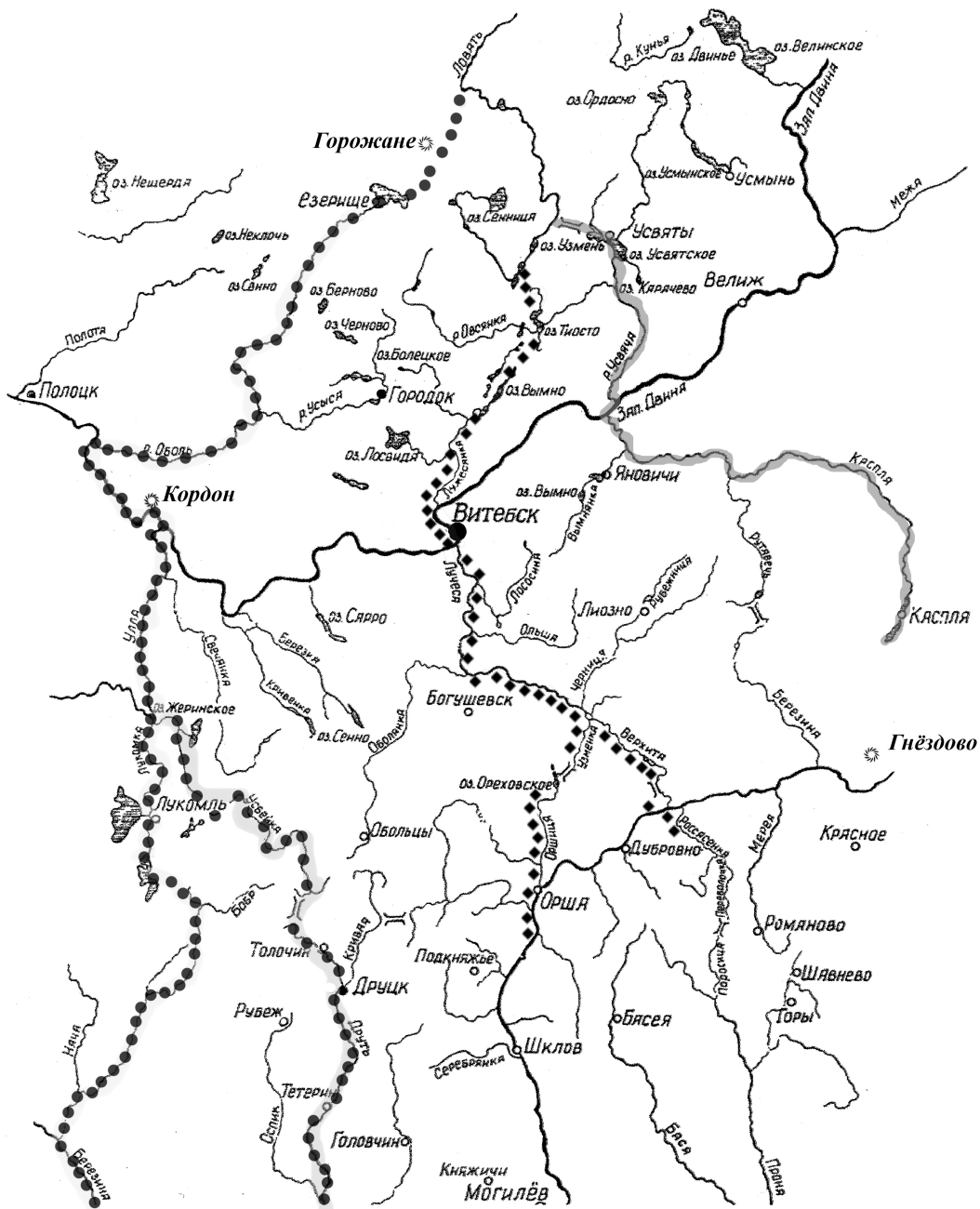


Рис. 5. Карта торговых путей и культурных связей 1-го тысячелетия н. э. в Днепро-Двинском бассейне

Fig. 5. Map of trade routes and cultural connections of the 1st millennium of new era in the Dnieper–Dvinsk Pool

тельно с перерастанием племенных княжений с центрами в Полоцке, Новгороде и Киеве в раннегосударственные образования. Новые археологические и нумизматические материалы в совокупности с уже известными фактами позволяют уверенно говорить о том, что сформировавшись на белорусских землях, участок пути «из варяг в греки» стимулировал дальнейшее успешное экономическое и политическое развитие данного региона в системе международных отношений.

Крещение Руси (988–990 гг.) при Владимире, отраженное в киевских и новгородских источниках, носило принудительный характер и сопровождалось актами неповиновения. Что же касается Полоцкого княжества, то на его территории христианство распространялось постепенно (на протяжении XI–XII вв.) и даже коллективное погребение, выявленное в Друцке, характеризует мирное сосуществование язычества с христианством в середине XII в. [14, с. 371–378]. В широ-

ких слоях населения Полоцкой земли христианская вера укореняется благодаря активной просветительской миссии Евфросинии Полоцкой. Она содействовала упрочению государственной власти, поднятию авторитета этого раннегосударственного образования на международной арене.

Заключение. Территории государственного образования, известного под названием «Полоцкая земля», соответствует два этапа ее развития, один из которых (конец X – XI в.) связан с ее формированием, а второй (XII – первая треть XIII в.) с распадом. Формирование данной раннегосударственной структуры осуществлялось по принципам, аналогичным сложению Киевской Руси. В конце X – начале XI в. территория Полоцкого княжества расширяется за счет включения в нее Витебского Подвинья и племенных образований с центрами в Лукомле и Друцке, где присутствует значительный компонент южнорусского населения [9, с. 38–39].

В XII в. в период усобиц полоцкое боярство, как и в Киевской Руси, влияло на решения городского веча, способствовавшие замене одного князя другим на полоцком столе. Однако это были только князья из дома полоцких Рогволодовичей и, таким образом, территориально-политическая закрытость Полоцкой земли для киевских правителей рода Рюриковичей оставалась неизменной. В историческом развитии древнегосударственных центров Восточной Европы остается еще немало нерешенных вопросов, требующих взвешенной оценки. Предстоит новый этап накопления и рассмотрения фактов, борьбы мнений, вынесения на обсуждение гипотез, претендующих на успех. Представляется перспективным дальнейшее исследование различий и противоречий, существовавших между основными носителями восточнославянской государственности, центрами которых были Киев, Новгород и Полоцк. Такой подход будет способствовать более объективному объяснению хода исторического процесса на означенной территории.

Список использованных источников

1. Котляр, Н. Ф. Древнерусская государственность / Н. Ф. Котляр. – СПб.: Алетейя, 1998. – 443 с.
2. Насонов, А. Н. «Русская земля» и образование территории Древнерусского государства / А. Н. Насонов. – М.: Издательство Академии Наук СССР, 1951. – 282 с.
3. Седов, В. В. У истоков восточнославянской государственности / В. В. Седов. – М.: УРСС, 1999. – 144 с.
4. Левко, О. Н. Начальный этап формирования Полоцкого государства / О. Н. Левко // Полацк: карані нашага радава. Полацкая зямля як сацыякультурная прастора ўзнікнення і развіцця беларускага этнасу і нацыянальнай дзяржаўнасці. – Полацк, 1996. – С. 36–41.
5. Ляўко, В. М. Рымскія манеты з гарадзішча і селішча каля вёскі Кардон у Беларускім Падзвінні / В. М. Ляўко, В. М. Сідаровіч // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. гуманіт. навук. – 2017. – № 4. – С. 43–49.
6. Славяне на территории Беларуси в догосударственный период: в 2 кн. / О. Н. Левко, И. А. Марзалюк, А. И. Дробушевский [и др.]. – Минск: Беларуская кніга, 2016. – 2 кн.
7. Седин, А. А. Никодимовское городище раннего средневековья в Восточной Белоруссии / А. А. Седин // Этногенез и этнокультурные контакты славян: Тр. VI Международного Конгресса славянской археологии. – М., 1997. – Т. 3. – С. 287–288.
8. Левко, О. Н. Полоцкая земля в государствообразующих процессах Восточной Европы / О. Н. Левко // Полацк у гісторыі і культуры Еўропы: матэрыялы Міжнароднай навуковай канферэнцыі (Полацк, 22–23 мая 2012 г.). – Мінск: Беларуская навука, 2012. – С. 22–30.
9. Полоцк / О. Н. Левко [и др.]. – Минск: Беларуская навука, 2012. – 741 с. – (Древнейшие города Беларуси).
10. Самонова, М. П. Скандинаво-славянские связи на белорусских землях в IX–XIII вв. (по письменным источникам). – Минск, 2014. – 25 с.
11. Левко, О. П. Витебск на пути «из варяг в греки» / О. Н. Левко // Вывучэнне археалагічных помнікаў на тэрыторыі Полацкай зямлі (да 1150-годдзя Полацка): матэрыялы па археалогіі Беларусі. – Мінск, 2011. – Вып. 21. – С. 154–159.
12. Носов, Е. Н. Новгородское (Рюриково) городище / Е. Н. Носов. – Л.: Наука, 1990. – 212 с.
13. Левко, О. Н. Кордон – ключевой объект предгосударственной истории Белорусского Подвинья // Шумілінскі край: Беларусь праз прызму рэгіянальнай гісторыі. – Мінск: Беларуская навука, 2018. – С. 87–103.
14. Левко, О. Н. Курган с массовыми погребениями XII века в Друцке / О. Н. Левко, А. В. Войтехович // Археологія і даўня історыя Украіны. – К., 2010. – Вып. 1: Проблеми давньоруської та середньовічної археології. – С. 371–378.

References

1. Kotlyar N. F. *Old Russian statehood*. Saint Petersburg, Aleteiya Publ., 1998. 443 p. (in Russian).
2. Nasonov A. N. *“Russian land” and the formation of the territory of the Old Russian state*. Moscow, Publisher Academy of Sciences of the USSR, 1951. 282 p. (in Russian).

3. Sedov V. V. *At the origins of Eastern Slavic statehood*. Moscow, URSS Publ., 1999. 144 p. (in Russian).
4. Levko O. N. The initial stage of the formation of the Polotsk state. *Polatsk: karani nashaga radavoda. Polatskaya zymlya yak satsyyakul'turnaya prastora yzniknennyya i razvitsystyya belaruskaga etnasu i natsyyanal'nai dzvyarzhaynastsy* [Polotsk: the roots of our family tree. Polotsk as a socio-cultural space of the emergence and development of the Belarusian nation and the national state]. Polatsk, 1996, pp. 36–41 (in Russian).
5. Liauko V. M., Sidarovich V. M. Roman coins from the hill fort and settlement near Kardon in the Belarusian Dzvinia region. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya gumanitarnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, humanitarian series*, 2017, vol. 4, pp. 43–49 (in Belarussian). <https://doi.org/10.29235/2524-2369-2017-0-4-43-49>
6. Levko O. N., Marzalyuk I. A., Drobusevskii A. I. [et al.]. *Slavs on the territory of Belarus during the pre-state period: the series "Slavic antiquities of Belarus". 2 Books*. Minsk, Belaruskaya kniga, 2016 (in Russian).
7. Sedin A. A. Nikodimov early medieval settlement in Eastern Belarus. *Etnogenez i etnokul'turnye kontakty slavyan: Trudy VI Mezhdunarodnogo Kongressa slavyanskoi arkheologii. T. 3* [Ethnogenesis and ethno-cultural contacts of the Slavs: Proceedings of the VI International Congress of Slavic Archeology. Vol. 3]. Moscow, 1997, pp. 287–288 (in Russian).
8. Levko O. N. Polotsk land in the state-building processes of Eastern Europe. *Polatsk u gistoryi i kul'tury Eyropy. Materyyaly Mizhnarodnai navukovai kanferentsyi (Polatsk, 22–23 maya 2012 g.)* [Polotsk in the history and culture of Europe. Materials of the International Scientific Conference (Polatsk, May 22–23, 2012)]. Minsk, 2012, pp. 22–30 (in Russian).
9. Levko O. N. [et al.]. Polotsk. The Most Ancient Cities of Belarus. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2012. 741 p. (in Russian).
10. Samonova M. N. *Scandinavian-Slavic relations on the Belarusian lands in the 9–13th centuries (according to written sources)*. Minsk, 2014. 25 p. (in Russian).
11. Levko O. N. Vitebsk on the way “from the Varangians to the Greeks”. *Vyvuchenne arkhealogichnykh pomnikay na terytoryi Polatskai zyamli (da 1150-goddzya Polatska). Materyyaly pa arkheologii Belarusi* [The study of archaeological sites in the territory of Polotsk (the 1150th anniversary of Polotsk). Materials on the Archeology of Belarus]. Minsk, 2011, vol. 21, pp. 154–159 (in Russian).
12. Nosov E. N. *Novgorod (Ryurikovo) site*. Leningrad, Nauka Publ., 1990. 212 p. (in Russian).
13. Levko O. N. Kordon – the key object of the pre-state history of the Belarusian Monument. *Shumilinski krai: Belarus' praz pryzmu regiyanal'nai gistoryi. Zbornik navukovykh artykulau* [Shumilinsky Region: Belarus through the prism of regional history. Collection of scientific articles]. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2018, pp. 87–103 (in Russian).
14. Levko O. N., Voitekhovich A. V. Mound with mass burials of the XII century in Drutsk. *Arkheologiya i davnya istoriya Ukraini. Vip. 1: Problemi davn'orus'koï ta seredn'ovichnoï arkheologii* [Archeology and ancient history of Ukraine. Issue 1: Problems of Old Russian and Middle Archeology]. Kiev, 2010, vol. 1, pp. 371–378 (in Russian).

Информация об авторе

Левко Ольга Николаевна – д-р ист. наук, заведующая центром. Институт истории НАН Беларуси (ул. Академическая, 1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: onlevko@gmail.com.

Information about the author

Levko Olga Nikolaevna – D. Sc. (History), Head of the Center. Institute of History of the National Academy of Sciences of Belarus (1, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: onlevko@gmail.com.

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

АГРАРНЫЕ НАУКИ
AGRARIAN SCIENCES

УДК 631.461:631.445.2
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-633-640>

Поступило в редакцию 04.06.2018
Received 04.06.2018

Академик В. В. Лапа, Н. А. Михайловская, С. А. Касьянчик, Е. Г. Мезенцева

*Институт почвоведения и агрохимии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

**ВЛИЯНИЕ МОНОАЗОТНОЙ СИСТЕМЫ УДОБРЕНИЯ
НА БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС
ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ЛЕГКОСУГЛИНИСТОЙ ПОЧВЫ
С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ФОСФОРА И КАЛИЯ**

Аннотация. Влияние моноазотной системы удобрений на биохимический статус дерново-подзолистой легко-суглинистой почвы с высоким содержанием фосфора и калия изучали в течение 5 лет. Интерпретацию данных ферментативной диагностики проводили по результирующему оценочному показателю – биохимическому коэффициенту, учитывающему 4 ключевых энзиматических параметра и представляющему соотношение усредненных скоростей гумификации и минерализации в циклах С и N. Пятилетнее применение моноазотной системы удобрения привело к прогрессирующему усилению минерализационных процессов, скорость которых возрастала с увеличением дозы азота. Экологически целесообразно внесение полного минерального удобрения с минимальными дозами фосфора и калия, при этом процессы гумификации и минерализации сбалансированы, что сохраняет органическое вещество.

Ключевые слова: моноазотная система удобрения, высоко окультуренная дерново-подзолистая суглинистая почва, гумификация, минерализация, биохимический коэффициент

Для цитирования: Влияние моноазотной системы удобрения на биохимический статус дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы с высоким содержанием фосфора и калия / В. В. Лапа [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 633–640. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-633-640>

Academician Vitalij V. Lapa, Natallia A. Mikhailouskaya, Sviatlana A. Kasyanchyk, Elena G. Mezentseva

Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

**INFLUENCE OF MONONITROGEN FERTILIZER SYSTEM ON BIOCHEMICAL STATUS
OF LUVISOL SANDY LOAM SOIL WITH HIGH CONTENTS OF PHOSPHORUS AND POTASSIUM**

Abstract. The effect of mononitrogen fertilizer system on biochemical status of high fertility Luvisol sandy loam soil was studied during five years in the field experiment. Data interpretation of enzyme diagnostics was done based on the resulting estimation criteria, which is a biochemical coefficient including four key enzymatic parameters and representing the ratio of average speeds of humification and mineralization activities in C and N cycles. Five-year application of mono nitrogen fertilizer system resulted in progressive increase of organic substances mineralization, which enhanced with nitrogen dose rising. It is ecologically advisable to fertilize the soil with the complete mineral fertilizer with the minimal doses of phosphorus and potassium. Thus, humification and mineralization processes are balanced and organic matter is saved.

Keywords: mononitrogen fertilizer system, Luvisol sandy loam soil, humification, mineralization, biochemical coefficient

For citation: Lapa V. V., Mikhailouskaya N. A., Kasyanchyk S. A., Mezentseva E. G. Influence of mononitrogen fertilizer system on biochemical status of Luvisol sandy loam soil with high contents of phosphorus and potassium. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 633–640 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-633-640>

Введение. По уточненным данным за 2013–2016 гг. дерново-подзолистые глинистые и суглинистые почвы с содержанием подвижных форм фосфора и калия выше 250 мг/кг составляют 23,3 % пахотных почв Беларуси [1]. Такие почвы отличаются устойчивостью к техногенным нагрузкам, снижают негативное воздействие токсикантов разной природы и обеспечивают высокую урожайность сельскохозяйственных культур [1–5]. Высоко окультуренные почвы – это стратегический резерв государства [4], их плодородие необходимо сохранять, применяя экологически обоснованные системы удобрения. К настоящему времени некоторые агрохимические и биологические аспекты применения удобрений на высоко окультуренных почвах исследованы недостаточно. Дискуссионными остаются вопросы экологической целесообразности и длительности эффективного применения моноазотной системы удобрения.

В исследованиях, проведенных в Беларуси на дерново-подзолистых легкосуглинистых почвах с высоким содержанием подвижного фосфора, в пределах 650–750 мг/кг, и калия – 400–500 мг/кг, показано, что в течение первых трех лет наибольшие прибавки урожайности яровой пшеницы и ярового ячменя и лучшие экономические показатели получали за счет одностороннего применения азотных удобрений. При этом наибольший эффект от азотных удобрений отмечали на фонах без навоза, на фонах последействия соломистого навоза их эффективность снижалась. Прибавки урожайности от внесения фосфора и калия были незначительными [2; 3].

На Северо-Западе России на дерново-подзолистых почвах с высоким содержанием подвижных фосфора и калия также установлена более высокая агрономическая и экономическая эффективность минеральной моноазотной системы удобрения и практическое отсутствие эффекта от фосфора и калия [4; 5]. В серии длительных полевых опытов с разными сельскохозяйственными культурами А. И. Иванов показал, что азотные удобрения обеспечивали стабильно высокие прибавки урожайности в течение 12–13 лет. Отмечено, что азотные удобрения, в особенности в повышенных дозах, активизировали процессы мобилизации почвенных запасов фосфора и калия. При этом коэффициент использования фосфора увеличивался в 1,4 раза, калия – в 1,5 раза [4]. В исследованиях В. В. Ильющенкова также получены данные, что длительное использование моноазотной системы удобрения замедляло темпы деградации азотного состояния и ускоряло деградацию фосфатного и калийного состояний почвы [5].

Несмотря на высокие агрономические и экономические показатели, российские и белорусские исследователи отмечают, что моноазотная система удобрения может оказаться экологически рискованной в отношении качества урожая. Наблюдается снижение содержания крахмала, сахаров и клетчатки в продукции. Отмечается повышение концентрации нитратов в клубнях картофеля, которое, однако, не достигает предельно допустимой [4; 5].

Анализ литературы показывает, что до настоящего времени нет однозначной экологической оценки моноазотной системы удобрения высоко окультуренных почв, что вызывает необходимость более углубленного исследования этой проблемы. По нашему мнению, для адекватной экологической оценки моноазотной системы удобрения агрохимические исследования должны сопровождаться изучением ее влияния на биологический статус высоко окультуренных почв. В этом отношении наиболее информативна ферментативная диагностика. Почвенные ферменты играют ключевую роль в процессах формирования плодородия. Основу микробного метаболизма составляет функционирование ферментов, которые катализируют ключевые биохимические реакции, регулирующие плодородие почв [6–9]. В пользу применения ферментативной диагностики свидетельствуют строгая субстратная специфичность ферментов [6; 9], более высокая стабильность энзиматических параметров [6; 8] и относительная простота измерения по сравнению с другими биологическими показателями. Методы определения активности ферментов более стандартизированы [6; 7; 10; 11], что позволяет получать сопоставимые данные.

Для оценки влияния моноазотной системы удобрения на биологический статус почвы наиболее важны данные по активности ключевых биохимических процессов, формирующих плодородие – гумификации и минерализации органических веществ в циклах основных биогенных элементов [6; 7; 9; 10]. К наиболее масштабным минерализационным процессам в цикле азота относится аммонификация [6; 10], в цикле углерода – разложение полисахаридов [6; 9], которые целесообразно оценивать по активности ключевых гидролитических ферментов – уреазе (цикл

N) и инвертазе (цикл C) [10]. Наиболее значимый процесс, ведущий к образованию органического вещества – гумификация лигнинов растительных остатков. По современным представлениям катализаторами гумификации ароматических соединений считаются микробные оксидазы – фенолоксидазы и пероксидазы, а их активность служит показателем скорости процессов гумификации [7; 10; 12; 13]. Эти ферменты играют критическую роль в процессах гумификации и тесно положительно коррелируют с содержанием гумуса [10; 12; 13].

Цель исследований – оценить влияние моноазотной системы удобрения на скорость процессов гумификации и минерализации органических веществ в циклах углерода и азота, установить их соотношение и направленность изменения плодородия высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы при моноазотной системе удобрения.

Материалы и методы исследования. Биохимические исследования проведены в 2014–2018 гг. в стационарном полевом опыте на высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве (ОАО «Гастелловское» Минский р-н). Агрохимическая характеристика пахотного слоя почвы представлена в табл. 1. Опыт развернут в пространстве в двух полях. Схема опыта включает 15 вариантов в 4-кратной повторности. Общий размер делянки 24,0 м² (4,0 × 6,0 м).

Т а б л и ц а 1. Динамика агрохимических показателей высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы (2012–2017 гг.)

Table 1. Dynamics of agrochemical properties of high fertility Luvisol sandy loam soil (2012–2017)

Вариант Variant	pH _{ксл}		Гумус, % Humus, %		P ₂ O ₅ , мг/кг		K ₂ O, мг/кг	
	2012 г.	2017 г.	2012 г.	2017 г.	2012 г.	2017 г.	2012 г.	2017 г.
Без удобрений	6,17	6,10	2,24	2,22	799	700	432	335
N ₃₃₀	6,20	6,09	2,19	2,12	803	728	423	321
N ₄₈₀	6,19	6,09	2,16	2,08	793	663	419	280
N ₆₃₀	6,29	6,10	2,15	2,10	855	710	406	275
N ₆₃₀ P ₉₀ K ₁₉₅	6,19	6,05	2,13	2,09	800	662	427	285
Навоз, 50 т/га	6,03	5,91	2,17	2,12	756	709	424	386
Навоз, 50 т/га + N ₃₃₀	6,12	6,00	2,23	2,19	755	724	412	378
Навоз, 50 т/га + N ₄₈₀	6,17	6,05	2,18	2,26	846	779	454	357
Навоз, 50 т/га + N ₆₃₀	6,24	6,08	2,26	2,35	779	732	442	326
Навоз, 50 т/га + N ₆₃₀ P ₉₀ K ₁₉₅	6,21	6,03	2,31	2,38	811	783	460	341
Навоз, 100 т/га	6,06	5,99	2,26	2,20	820	796	473	436
Навоз, 100 т/га + N ₃₃₀	6,14	6,10	2,12	2,11	770	737	452	412
Навоз, 100 т/га + N ₄₈₀	6,16	6,08	2,43	2,47	775	744	472	414
Навоз, 100 т/га + N ₆₃₀	6,00	5,94	2,35	2,40	755	717	462	391
Навоз, 100 т/га + N ₆₃₀ P ₉₀ K ₁₉₅	6,02	5,97	2,14	2,23	732	739	443	430
НСР ₀₅			0,14	0,16	51	44	36	32

Возделываемые культуры: 2014 г. – яровая пшеница, 2015 г. – яровой ячмень, 2016 г. – яровой рапс, 2017 г. – озимая пшеница. Технологии возделывания культур включали традиционную систему обработки почвы, интегрированную систему защиты растений от сорняков, вредителей и болезней. Фосфорные и калийные удобрения (аммонизированный суперфосфат и хлористый калий) вносили весной под предпосевную культивацию, азотные – в форме карбамида под предпосевную культивацию и в подкормку.

Биохимические показатели определяли в воздушно-сухих почвенных образцах. Для определения активности инвертазы использован колориметрический метод Т. А. Щербаковой [7; 11], в котором для индикации редуцирующих сахаров используется 3,5-динитросалициловая кислота, а активность фермента рассчитывается в мг глюкозы/кг почвы. Активность почвенной уреазы устанавливали колориметрическим методом по Т. А. Щербаковой [7; 11], где в качестве ферментного субстрата используется мочевины, активность фермента рассчитывается в мг N-NH₄⁺/кг

почвы. Активность окислительных ферментов, полифенолоксидазы (ПФО) и пероксидазы (ПО), определяли также колориметрически, по трансформации гидрохинона в почве и выражали в мг превращенного субстрата – мг 1,4-*p*-бензохинона/кг почвы [11; 14].

Результаты и их обсуждение. Биохимические исследования в высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве проводили в течение 2014–2018 гг. В соответствии с разработанными нами методическими рекомендациями определяли активность гумификации и минерализации в циклах основных биогенных элементов – углерода и азота по биохимической трансформации основных форм нахождения этих элементов в почвах. Количественная оценка скорости процессов минерализации в цикле углерода дана по инвертазной активности, а в цикле азота – по уреазной активности почвы. Количественная характеристика скорости процессов гумификации ароматических соединений проведена по активности почвенных оксидаз, осуществляющих процессы окислительной полимеризации за счет кислорода воздуха (полифенолоксидаза) и за счет кислорода перекиси водорода (пероксидаза) [10].

Активность фермента – количественная характеристика скорости протекания конкретного биохимического процесса, которая выражается количеством превращенного субстрата за единицу времени на единицу массы почвы. Ферментативная диагностика позволяет количественно определять скорости важнейших формирующих плодородие почвенных процессов – гумификации и минерализации в циклах C и N. Соотношение скоростей протекания гумификационных и минерализационных процессов показывает направленность трансформации органических веществ и позволяет определять тренд изменения плодородия под влиянием антропогенных факторов.

Для интерпретации данных ферментативной диагностики почвы разработан результирующий оценочный показатель – биохимический коэффициент K_6 . Предлагаемый критерий рассчитывается как соотношение усредненных количественных данных по скорости процессов гумификации ароматических соединений, определяемых по активности оксидаз (ПФО и ПО), и процессов минерализации по активности гидролитических ферментов в циклах C (инвертаза) и N (уреаза), что подробно изложено в методических рекомендациях [10] и нашей предыдущей публикации [3].

Биохимический коэффициент – информативный диагностический показатель, учитывающий 4 ключевых биохимических параметра, что позволяет соотносить скорости гумификации и минерализации, выявлять их баланс или дисбаланс, давать экологическую оценку систем удобрения и нормировать антропогенную нагрузку.

При близких к единице значениях K_6 наблюдается относительный баланс гумификации и минерализации. Снижение биохимического коэффициента ($K_6 < 1$) указывает на преобладание минерализационных процессов, его повышение ($K_6 > 1$) свидетельствует о более активном протекании гумификации.

В табл. 2 представлены результаты определения K_6 по вышеперечисленным ключевым биохимическим параметрам за пять лет исследований. Сравнительный анализ данных ферментативной диагностики по результирующему показателю K_6 выявил следующие зависимости:

в течение 2014–2016 гг. одностороннее применение азотных удобрений приводило к сдвигу в сторону преобладания минерализации, скорость которой увеличивалась при внесении возрастающих доз азота N_{60} , N_{90} и N_{120} : на безнавозном фоне коэффициенты K_6 снижались от 1,00 до 0,96, 0,93 и 0,93, на фоне последействия 50 т/га навоза – от 0,99 до 0,96, 0,92 и 0,89, на фоне последействия 100 т/га навоза – от 0,99 до 0,95, 0,92 и 0,91 соответственно (табл. 3);

в последующие два года (2017–2018 гг.) моноазотная система удобрения еще более значительно снижала величины биохимических коэффициентов, при внесении N_{60} , N_{90} и N_{120} на безнавозном фоне коэффициенты K_6 снижались от 1,00 до 0,91, 0,83 и 0,83, на фоне последействия 50 т/га навоза – от 0,96 до 0,89, 0,85 и 0,85, на фоне последействия 100 т/га навоза – от 0,95 до 0,93, 0,86 и 0,85 соответственно;

на фоне последействия 50 и 100 т/га навоза во все годы исследований (2014–2018 гг.) отмечен относительный баланс гумификации и минерализации, биохимические коэффициенты K_6 были близки к единице (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Влияние моноазотной системы удобрения на биохимический коэффициент K_b высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы (2014–2018 гг.)

T a b l e 2. Effect of mononitrogen fertilizer system on biochemical coefficient of high fertility Luvisol sandy loam soil (2014–2018)

Вариант Variant	Биохимический коэффициент Biochemical coefficient $K_b = \Gamma(\%) / M(\%)$				
	2014 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.
Без удобр. – ф. 1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
N_{60}	0,93	1,00	0,94	0,91	0,91
N_{90}	0,90	0,96	0,93	0,84	0,82
N_{120}	0,89	0,97	0,93	0,85	0,82
$N_{120}P_{15}K_{30}$	0,99	1,07	1,12	1,03	1,02
П/д н. 50 т/га – ф. 2	1,03	0,99	0,96	0,96	0,96
Ф. 2 + N_{60}	0,98	0,95	0,95	0,90	0,88
Ф. 2 + N_{90}	0,94	0,91	0,91	0,86	0,84
Ф. 2 + N_{90+30}	0,92	0,88	0,88	0,86	0,84
Ф. 2 + $N_{120}P_{15}K_{30}$	1,03	1,07	1,08	1,00	1,00
П/д н. 100 т/га – ф. 3	1,02	0,96	0,98	0,94	0,96
Ф. 3 + N_{60}	0,97	0,94	0,93	0,95	0,92
Ф. 3 + N_{90}	0,91	0,91	0,94	0,88	0,85
Ф. 3 + N_{120}	0,92	0,92	0,88	0,86	0,84
Ф. 3 + $N_{120}P_{15}K_{30}$	1,09	1,04	1,05	1,02	1,00

П р и м е ч а н и е. П/д н. – последствие навоза, Г – гумификация, М – минерализация.

N o t e. П/д н. – manure aftereffect, Г – humification, М – mineralization.

Т а б л и ц а 3. Влияние длительности применения моноазотной системы удобрения на высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве на биохимический коэффициент K_b (2014–2018 гг.)

T a b l e 3. Effect of duration of mononitrogen fertilizer system application on biochemical coefficient of high fertility Luvisol sandy loam soil (2014–2018)

Вариант Variant	Без удобрения Without fertilizer	N_{60}	N_{90}	N_{120}	$N_{120}P_{15}K_{30}$
2014–2016 гг.					
Без органики	1,00	0,96	0,93	0,93	1,06
50 т/га навоза	0,99	0,96	0,92	0,89	1,06
100 т/га навоза	0,99	0,95	0,92	0,91	1,06
2017–2018 гг.					
Без органики	1,00	0,91	0,83	0,83	1,02
50 т/га навоза	0,96	0,89	0,85	0,85	1,00
100 т/га навоза	0,95	0,93	0,86	0,85	1,00

Следует отметить, что сдвиг в сторону преимущественного протекания минерализационных процессов в 2017–2018 гг. не может быть обусловлен только длительностью последствия навоза, так как аналогичная ситуация наблюдается и на фоне без его внесения (табл. 2, 3).

Ферментативная диагностика выявила прогрессирующее снижение биохимического коэффициента при моноазотной системе, указывающее на ее потенциальную рискованность. Наиболее существенный сдвиг в сторону минерализации отмечен в 2017–2018 гг., на 4-й и 5-й годы исследований. Преобладание минерализационных процессов не способствует восполнению органического вещества и представляет потенциальный риск деградации плодородия.

Аналогичные закономерности, указывающие на неустойчивость гумусного состояния хорошо окультуренных дерново-подзолистых почв, отмечены в многолетних исследованиях А. И. Иванова: за 12 лет на фоне моноазотной системы удобрения содержание гумуса в почве

снизились на 0,22–0,32 %, относительная доля ГК уменьшилась на 5–12 % при одновременном увеличении доли ФК на 7–10 % [4].

Длительное использование моноазотной системы удобрения замедляет темпы деградации азотного состояния, однако значительно ускоряет деградацию фосфатного и калийного состояний окультуренных дерново-подзолистых почв. Наиболее критично влияние моноазотной системы удобрения на калийное состояние почвы – по данным В. В. Ильющенкова за 13 лет содержание подвижного и водорастворимого калия снижалось в два раза [5].

Российские исследователи отмечают допустимость краткосрочного применения моноазотной системы удобрения на высоко окультуренных дерново-подзолистых почвах (в течение 5 лет), так как длительное ее применение неизбежно приведет к снижению плодородия и ухудшению качества растениеводческой продукции [4; 5]. Проведенные нами 5-летние биохимические исследования подтверждают их выводы.

Таким образом, на высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве пятилетнее применение моноазотной системы удобрения привело к прогрессирующему усилению минерализации органических веществ. Для сохранения плодородия дерново-подзолистых легкосуглинистых почв с высоким содержанием фосфора и калия экологически наиболее целесообразно внесение полного минерального удобрения с минимальными дозами фосфора и калия – $P_{15}K_{30}$. Ферментативная диагностика показала экологические преимущества НРК-удобрения. При внесении $N_{120}P_{15}K_{30}$ на фонах без навоза и по последдействию 50 и 100 т/га навоза биохимические коэффициенты K_6 в 2014–2016 гг. на уровне 1,06, в 2017–2018 гг. – в пределах 1,00–1,02, что свидетельствует о сбалансированности процессов гумификации и минерализации и обеспечивает сохранность органического вещества (табл. 3).

Однако в сельскохозяйственной практике в настоящее время превалирует ориентация на получение быстрого результата и высоких экономических показателей [2–5], в то время как необходима система удобрения, ориентированная на перспективу устойчивых долговременных эффектов.

Длительное использование моноазотной системы удобрения замедляет темпы деградации азотного состояния, однако значительно ускоряет деградацию фосфатного и калийного состояний окультуренных дерново-подзолистых почв. За пять лет применения моноазотной системы удобрения отмечены тенденции снижения содержания подвижных форм фосфора и калия (табл. 1).

Как правило, наиболее высокую продуктивность сельскохозяйственных культур и качество продукции получали на фоне последствия 100 т/га навоза с внесением полного минерального удобрения с минимальными дозами фосфора и калия (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Влияние моноазотной системы удобрения на продуктивность сельскохозяйственных культур на высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве (2013–2017 гг.)

Table 4. Effect of mononitrogen fertilizer system application on crop productivity on high fertility Luvisol sandy loam soil (2013–2017)

Вариант Variant	Без удобрений Without fertilizer	N_{60}	N_{90}	N_{120}	$N_{120}P_{15}K_{30}$
Без навоза	250	305	323	339	345
50 т/га навоза	284	321	327	349	356
100 т/га навоза	294	324	346	369	367
НСР ₀₅			38,6		

Заключение. Для интерпретации данных ферментативной диагностики почв разработан результирующий оценочный показатель – биохимический коэффициент K_6 , учитывающий 4 ключевых энзиматических параметра и представляющий собой соотношение усредненных скоростей гумификации (ПФО и ПО, цикл С) и минерализации (инвертаза и уреазы, циклы С и N). Предлагаемый критерий позволяет давать экологическую оценку системы удобрения, выявлять дисбаланс гумификации и минерализации, тренд изменения плодородия почв и нормировать антропогенную нагрузку.

Ферментативная диагностика по результирующему показателю – биохимическому коэффициенту K_6 показала, что пятилетнее применение моноазотной системы удобрения привело к прогрессирующему усилению минерализации органических веществ в высоко окультуренной легкосуглинистой почве. Наиболее рискованным, как на фоне без навоза, так и по последствию 50 и 100 т/га навоза, было внесение N_{120} , при этом K_6 снижались от 1,00 до 0,83, от 0,96 до 0,85 и от 0,95 до 0,85 соответственно. Пятилетнее применение моноазотной системы удобрения выявило тенденцию снижения содержания подвижных форм фосфора и калия в почве.

Экологически наиболее целесообразно внесение полного минерального удобрения с минимальными дозами фосфора и калия, при этом как на фоне без навоза, так и по последствию навоза наблюдается сбалансированность гумификации и минерализации, способствующая сбережению органического вещества, K_6 в пределах 1,00–1,06. Баланс процессов гумификации и минерализации отмечен при органической системе удобрения, биохимические коэффициенты K_6 близки к единице.

Список использованных источников

1. Агрохимическая характеристика почв сельскохозяйственных земель Республики Беларусь (2013–2016) / под общ. ред. И. М. Богдевича. – Минск: Ин-т почвоведения и агрохимии, 2017. – 275 с.
2. Лапа, В. В. Особенности удобрения яровой пшеницы при возделывании на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве с очень высоким содержанием фосфора и калия / В. В. Лапа, О. Г. Кулеш, Е. Г. Мезенцева // Почвоведение и агрохимия. – 2016. – № 1(56). – С. 93–105.
3. Лапа, В. В. Активность процессов минерализации и гумификации в высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве в зависимости от применения удобрений / В. В. Лапа, Н. А. Михайловская // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 3. – С. 125–132.
4. Иванов, А. И. Почвенно-агрохимическое обоснование системы удобрения на хорошо окультуренных дерново-подзолистых почвах Северо-Запада России / А. И. Иванов. – СПб.: Пушкин, 2000. – 40 с.
5. Ильющенко, В. В. Азотное, фосфатное и калийное состояние хорошо окультуренных дерново-подзолистых почв Северо-Запада России и его изменение при длительном использовании минеральных систем удобрения / В. В. Ильющенко. – Великие Луки, 2000. – 16 с.
6. Звягинцев, Д. Г. Биология почв / Д. Г. Звягинцев, И. Л. Бабьева, Г. М. Зенова. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 445 с.
7. Щербакова, Т. А. Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества / Т. А. Щербакова. – Минск: Наука и техника, 1983. – 221 с.
8. Dick, R. P. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters / R. P. Dick // *Agr. Ecosys. Environ.* – 1992. – Vol. 40, N 1–4. – P. 25–36. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(92\)90081-1](https://doi.org/10.1016/0167-8809(92)90081-1)
9. Dick, R. P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality / R. P. Dick // *SSSA Special Publication* / eds. J. W. Doran [et al.]. – Madison, 1994. – P. 107–124. <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub35.c7>
10. Биохимические и микробиологические критерии оценки плодородия почв и нормирования антропогенной нагрузки / В. В. Лапа [и др.]. – Минск: Ин-т почвоведения и агрохимии, 2015. – 40 с.
11. Хазиев, Ф. Х. Методы почвенной энзимологии / Ф. Х. Хазиев. – М.: Наука, 2005. – 252 с.
12. Kirk, T. K. Enzymatic “combustion”: the microbial degradation of lignin / T. K. Kirk, R. L. Ferrell // *Annu. Rev. Microbiol.* – 1987. – Vol. 41, N 1. – P. 465–505. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002341>
13. Гулько, А. Е. Фенолоксидазы почв: продуцирование, иммобилизация, активность / А. Е. Гулько, Ф. Х. Хазиев // *Почвоведение.* – 1992. – № 11. – С. 55–67.
14. Карагіна, Л. А. Вызначэнне актыўнасці поліфенолаксидазы і пераксідазы ў глебе / Л. А. Карагіна, Н. А. Міхайлоўская // *Весці АН БССР. Сер. с/г навук.* – 1986. – № 2. – С. 40–41.

References

1. Bogdevich I. M., Lapa V. V., Rak M. V., Chernysh A. F., Putyatin Yu. V., Lomonos O. L. [et al.]. *Agrochemical characteristics of agricultural soils of Belarus Republic (2013–2016)*. Minsk, Institute of Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, 2017. 275 p. (in Russian).
2. Lapa V. V., Kulesh O. G., Mezentseva E. G. Specificity of spring wheat fertilization under cultivation on Luvisol sandy loam soil with very high content of phosphorus and potassium. *Pochvovedenie i agrochimiya [Soil Science and Agrochemistry]*, 2016, vol. 1, no. 56, pp. 93–105 (in Russian).
3. Lapa V. V., Michailovskaya N. A. Activity of mineralization and humification processes in high-fertility derno-podzolic sandy-loam soil depending on the fertilizer application. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belaru*, 2016, vol. 60, no. 3, pp. 125–132 (in Russian).
4. Ivanov A. I. *Agrochemical Foundation of fertilizer system on high fertility sod-podzolic soils of Nord-West regions of Russia*. Sankt-Petersburg; Pushkin, 2000. 40 p. (in Russian).

5. Ilyuschenkov V. V. *Nitrogen, phosphorus and potassium status of high fertility sod-podzolic soils of Nord-West regions of Russia and its change under long time application of mineral fertilizer system*. Velikie Luki, 2000. 16 p. (in Russian).
6. Zviagintsev D. G., Babyeva I. L., Zenova G. M. *Soil Biology*. Moscow, Publishing House of Moscow State University, 2005. 445 p. (in Russian).
10. Lapa V. V. [et al.]. *Biochemical and microbiological criteria for the characterization of soil fertility status and normalizing of anthropogenic press*. Minsk, Institute of Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, 2015. 40 p. (in Russian).
7. Scherbakova T. A. *Enzymatic activity of soil and transformation of soil organic matter*. Minsk, Nauka i Technika Publ., 1983. 221 p. (in Russian).
8. Dick R. P. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 1992, vol. 40, no. 1–4, pp. 25–36. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(92\)90081-1](https://doi.org/10.1016/0167-8809(92)90081-1)
9. Doran J. W., Coleman D. C., Bezdicek D. F., Stewart B. A., Dick R. P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. Doran J. W. (ed.). *SSSA Special Publication*, 1994, pp. 107–124. <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub35.c7>
11. Chaziev F. H. *Methods of soil enzymology*. Moscow, Nauka Publ., 2005. 252 p. (in Russian).
12. Kirk T. K., Ferrell R. L. Enzymatic “combustion”: the microbial degradation of lignin. *Annual Review of Microbiology*, 1987, vol. 41, no. 1, pp. 465–505. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002341>
13. Gulko A. E., Chaziev F. H. Phenoloxidases: production, immobilization, activity. *Pochvovedenie = Eurasian Soil Science*, 1992, no. 11, pp. 55–67 (in Russian).
14. Karyagina L. A., Mikhailouskaya N. A. Determination of polyphenoloxidase and peroxidase activities in soil. *Vesti Akademii navuk Belaruskai Savetskai Satsyialistychnai Respubliki. Seryya sel'skagapadarchykh navuk = Proceedings of the Academy of Sciences of the Belarusian Soviet Socialist Republic. Series of Agricultural Sciences*, 1986, no. 2, pp. 40–41 (in Russian).

Информация об авторах

Лана Виталий Витальевич – академик, д-р с.-х. наук, профессор, директор. Институт почвоведения и агрохимии НАН Беларуси (ул. Казинца, 90, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: brissagro@gmail.com.

Михайловская Наталья Алексеевна – канд. с/х наук, доцент, заведующая лабораторией. Институт почвоведения и агрохимии НАН Беларуси (ул. Казинца, 90, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: bionfl@yandex.ru.

Касьянчик Светлана Ананьевна – канд. с/х наук, доцент. Институт почвоведения и агрохимии НАН Беларуси (ул. Казинца, 90, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: agro@presidium.bas-net.by.

Мезенцева Елена Геннадьевна – канд. с/х наук, доцент. Институт почвоведения и агрохимии НАН Беларуси (ул. Казинца, 90, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: e_mezentseva@list.ru.

Information about the authors

Lapa Vitalij Vitalyevich – Academician, D. Sc. (Agrarian), Professor, Director. Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (90, Kazinets Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: brissagro@gmail.com.

Mikhailouskaya Natallia Alekseevna – Ph. D. (Agrarian), Associate professor, Head of the Laboratory. Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (90, Kazinets Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bionfl@yandex.ru.

Kasyanchyk Sviatlana Ananievna – Ph. D. (Agrarian), Associate professor. Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (90, Kazinets Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: agro@presidium.bas-net.by.

Mezentseva Elena Gennadievna – Ph. D. (Agrarian), Associate professor, Head of the Laboratory. Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (90, Kazinets Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e_mezentseva@list.ru.