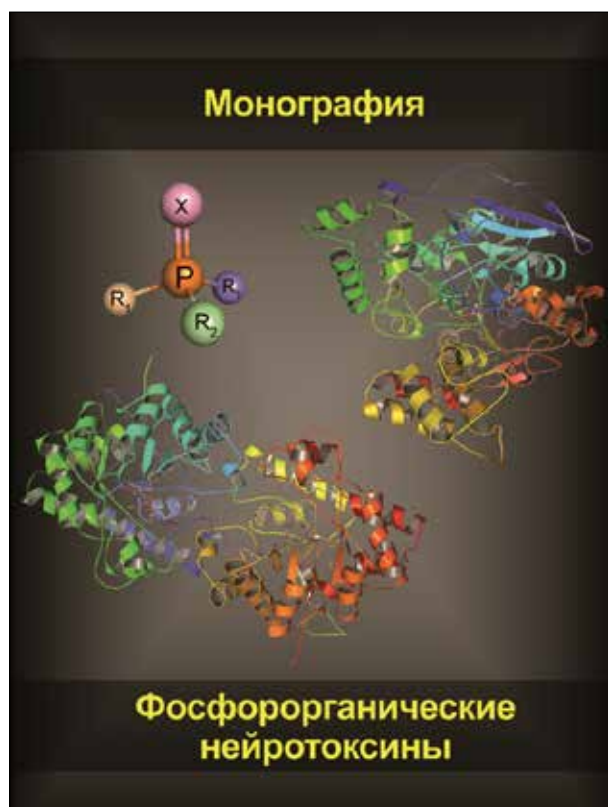


## Рецензия на коллективную монографию «Фосфорорганические нейротоксины»



В конце марта 2020 г. в издательском Центре РИОР вышла в свет коллективная монография «Фосфорорганические нейротоксины»<sup>1</sup>, подготовленная 43 авторами из Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, ФГБУ «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, ФГБУ «33 ЦНИИИ» Министерства обороны Российской Федерации и других научных учреждений и ведомств Российской Федерации.

Монография посвящена истории создания и изучения фосфорорганических нейротоксинов, их молекулярным мишеням – холинэстеразам, способам выявления и детоксикации таких соединений. К фосфорорганическим нейротоксинам относятся фосфорорганические

боевые отравляющие вещества (ФОВ), средства защиты сельскохозяйственного производства (гербициды и инсектициды) и лекарственные препараты. Поэтому появление монографии, охватывающей такой круг проблем, и, что очень важно, вышедшей на русском языке – незаурядное событие в российской науке и, в частности, в токсикологии.

Рецензируемый труд прекрасно сверстан и издан, и носит фундаментальный характер, о чем говорят уровень авторского состава, широкая тематика глав, качественный и современный иллюстративный материал, огромное количество привлеченных первоисточников, причем большая часть из них – на английском языке, что приближает отечественного читателя к современным мировым знаниям по рассматриваемым проблемам. Всего в монографии 380 страниц, она разделена на 5 глав, включающих 15 статей, 40 таблиц, 138 рисунков и схем, и 1288 ссылок на источники. Есть все основания считать, что аналогов данного труда, по крайней мере, на русском языке, еще не было.

ФОВ (зарин, циклозарин, табун) массированно применялись Ираком во время ирано-иракской войны (1980–1988 гг.), благодаря чему накоплен большой опыт их боевого применения [1]. Особое значение работе придает то, что, вопреки Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении (КЗХО)<sup>2</sup>, ФОВ находят применение в военных целях в «горячих точках» планеты и в террористических актах. Произошедшая 29 марта 1995 г. зариновая атака в Токийском метро унесла жизни 10 человек, поражения разной степени тяжести получили 6,5 тыс. человек [2]. Не так давно, в 2013 г., ракеты с заринном были использованы против сирийских войск международными террористами в Восточной Гуте и в районе Алеппо (Сирия). Большие запасы ФОВ остались не уничтоженными в США. Есть государства, не присоединившиеся к КЗХО, и, следовательно, не подлежащие международным инспекциям [3, 4].

<sup>1</sup> Фосфорорганические нейротоксины: монография / Под ред. чл.-корр. РАН Варфоломеева С.Д., проф. Ефременко Е.Н.: РИОР, 2020. 380 с. ISBN: 978-5-369-02026-5. DOI: <https://doi.org/10.29039/02026-5>. РИНЦ: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42358712>

Organophosphorus Neurotoxins: monograph / Eds. Professor Varfolomeev S.D., Professor Efremenko E.N. Moscow: RIOR, 2020. 380 p. ISBN: 978-5-369-02026-5. DOI: <https://doi.org/10.29039/02026-5>

<sup>2</sup> Принята Генеральной Ассамблеей ООН 30 ноября 1992 г., вступила в силу 29 апреля 1997 г.

Не меньшую опасность представляют отравления фосфорорганическими соединениями (ФОС), находящимися в гражданском обороте. Фосфорорганические пестициды составляют около 40 % от числа всех применяемых в сельском хозяйстве (растениеводстве и животноводстве) химикатов. К их числу относятся: параоксон, паратион (*тиофос*), метилпаратион, кумафос (*корал*, *резитокс*), малатион (*карбофос*), диизопропилфторфосфат (ДФФ) и др. [5]. Острая интоксикация ФОС занимает фактически первое место среди прочих экзотических отравлений не только по тяжести, но и по частоте. Летальность таких отравлений составляет почти 20 %, а частота – около 15 % от всех случаев интоксикаций. Согласно ВОЗ, ежегодно в мире регистрируется более 3 млн случаев отравления пестицидами, включая более 250 тыс. смертельных исходов. Более половины случаев заболеваний от отравления химическими веществами приходится на детей в возрасте до 15 лет<sup>3</sup>.

**Первая глава** монографии посвящена истории развития и актуальности исследования фосфорорганических нейротоксинов.

В разделе В.А. Иноземцева с соавт. подробно рассмотрена история ФОВ, начиная с 1930-х гг. по настоящее время. Исследователи делают вывод, что история ФОВ еще далеко не закончена. Весьма интересными в связи с обвинениями в адрес России в применении ОВ из группы «Novichok agents» представляются приведенные авторами данные Ханка Эллисона (D. Hank Ellison) за 2008 г. [6] о структуре и физико-химических свойствах 11 соединений, входящих в группу «Novichok agents», и о 51 прекурсор для их синтеза. Все эти соединения уже тогда имели уникальный идентификатор CAS, который присваивается Химической реферативной службой (Chemical Abstracts Service, CAS) – подразделением Американского химического общества, издающего с 1907 г. реферативный журнал Chemical Abstracts. Это уникальный численный идентификатор химических соединений, полимеров, биологических последовательностей нуклеотидов или аминокислот, смесей и сплавов, внесенных в реестр CAS. Используется для однозначной идентификации химического соединения. Кроме индекса, каждое вещество также получает уникальное название, как правило, сконструированное по

жестким правилам номенклатуры химической реферативной службы. Таким образом, американскими учеными еще за 10 лет до провокации в Солсбери была проведена огромная работа по изучению химических соединений, входящих в группу «Novichok agents», а также прекурсоров, используемых для их синтеза, так что называть класс этих соединений «русским» никак нельзя.

В разделе Е.В. Розенгарда с соавт., которые обобщили данные о проводившихся в СССР и в России исследованиях холинэстераз и их эффектов, показан вклад российских исследователей в общее понимание молекулярных механизмов действия холинэстеразы и молекулярной физиологии холинергической системы. К сожалению, в этой работе нет упоминания о вкладе российских военных ученых в решение ряда проблем, связанных с обнаружением ФОВ. В частности, не упомянуто о разработке Э.Т. Гайнуллиной индикаторной трубки ИТ-44, которая была принята на снабжение Советской Армии в 1959 г. и выпускалась миллионами штук. Ни в одной армии мира в то время не было таких средств индикации ФОВ [7]. Но тут мы, военные химики, сами виноваты, не умеем вовремя и открыто показывать и свои достижения, и свою надобность.

В разделе Д.А. Гудкова и К.С. Горбунова показаны современные технологии, открывающие новые перспективы для анализа хронической интоксикации ФОС, прогноза тяжести острого отравления и долговременных последствий для здоровья. Авторы, в частности, считают, что оценка таких воздействий на современном уровне должна включать в себя анализ пула мРНК в биологических жидкостях и широкое применение метаболомного анализа<sup>4</sup>, генетических подходов к выявлению предпосылок отягощения последствий интоксикации.

**Вторая глава** монографии посвящена холинэстеразам – молекулярным мишеням фосфорорганических нейротоксинов.

В разделе С.В. Луцеккина с соавт. рассмотрено моделирование элементарных стадий реакции гидролиза в активном сайте ферментов, относящихся к классу холинэстераз – ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и бутирилхолинэстеразы (БХЭ). С использованием комбинированного метода квантовой и молекулярной механики (КМ/ММ) детализирован механизм реакции гидролиза

<sup>3</sup> World Health Organization. The Impact of Pesticides on Health: Preventing Intentional and Unintentional Deaths from Pesticide Poisoning. 2004. URL: [https://www.researchgate.net/publication/326107016\\_The\\_Impact\\_of\\_Pesticides\\_on\\_Health](https://www.researchgate.net/publication/326107016_The_Impact_of_Pesticides_on_Health) (дата обращения: 10.05.2020).

<sup>4</sup> Метаболомика – систематическое изучение уникальных химических «отпечатков пальцев», специфичных для процессов, протекающих в живых клетках, конкретнее – изучение их низкомолекулярных метаболитических профилей. Метаболом представляет собой полный набор низкомолекулярных метаболитов (таких как промежуточные продукты обмена веществ, гормоны и другие сигнальные молекулы и вторичные метаболиты), которые могут быть найдены как в биологическом образце, так и в единичном организме.

нативного субстрата ацетилхолина в активном центре АХЭ; для серии сложноэфирных субстратов разработан метод оценки зависимости реакционной способности фермента от структуры субстрата. Показаны результаты изучения механизма гидролиза миорелаксанта сукцинилхолина БХЭ и влияние на него полиморфной модификации Asp70Gly. С использованием различных методов компьютерного моделирования исследована стабильность ферментсубстратного комплекса двух вариантов фермента с сукцинилхолином. Эта работа – одновременно и фундаментальный обзор современных данных по структуре и функции АХЭ и БХЭ.

В другом разделе, подготовленном С.В. Луцкиным с соавт. приведены результаты моделирования механизмов реакций холинэстераз с целью улучшения их каталитических свойств в реакциях нейтрализации фосфорорганических соединений. Авторы – сторонники развития направления антидотов, называемых «биоловушками», «биочистильщиками» или «биоскавенджерами», способных связывать и/или гидролизовать ФОС. Их использование представляется наиболее эффективной альтернативой традиционным антидотам для нейтрализации или детоксикации ФОС. Представлен анализ различных взглядов на механизмы взаимодействия холинэстераз с ФОС, обсуждаются возможные направления создания эффективных каталитических биоловухек на основе БХЭ и изменения механизма их действия по сравнению с нативным ферментом.

С.Д. Варфоломеевым, В.И. Быковым и С.Б. Цибеновой предложена и исследована кинетическая модель, описывающая динамику синаптического «разряда» с учетом кинетики инъекции нейромедиатора в синаптическую щель, рН-зависимости каталитической активности фермента и диффузионного вывода протонов. В рамках данной модели рассмотрено функционирование холинергического синапса. Модель позволяет описать кинетическое поведение холинергических синапсов и ряд физиологических феноменов – отравление нервно-паралитическими ядами, нервно-мышечный паралич, применение лекарственного препарата Votox при лечении инсультных параличей, механизм записи и хранения информации в нейробиологической памяти, болезнь Альцгеймера.

Третья глава монографии посвящена биокаталитическому определению ФОС.

В разделе И.В. Лягина и Е.Н. Ефременко рассматриваются способы ферментативного определения ФОС. В настоящее время известна большая группа ферментов, модифицирующих такие соединения, преимущественно путем гидролиза (в работе они сведены в наглядные таб-

лицы). В сумме и те, и другие ферменты могут быть задействованы для определения содержания различных ФОС. Авторами представлены последние научные разработки в области ферментных биосенсоров для анализа ФОС на примере пестицидов в самых разнообразных объектах окружающей среды. Для этих целей могут применяться растворимые и иммобилизованные формы ферментов, их различные комбинации, а также неочищенные ферменты в составе клеток микроорганизмов. Они выделяют два крупных направления создания биосенсоров, позволяющие улучшить пределы обнаружения ФОС:

сопряжения наномеханических детекторов и преобразователей сигнала. Например, на нитроцеллюлозной мембране путем физической адсорбции иммобилизуется фермент, который затем ингибируется определяемым соединением, и его остаточная активность определяется в присутствии свидетеля, видимого «невооруженным» глазом. Направление позволяет создавать коммерчески доступные «стрипы» (тест-полоски) для экспрессного и простого определения ФОС;

поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия, которая может быть более чувствительной, чем другие варианты поверхностного плазмонного резонанса, благодаря возможности распознавания разных соединений непосредственно в исследуемом образце (без предварительной пробоподготовки).

В разделе Е.Н. Ефременко, А.В. Нечаева и И.Н. Курочкина рассматриваются различные типы электрохимических сенсоров, основанных на ингибировании БХЭ для анализа ФОС. Описана разработанная авторами специальная конструкция толстопленочных сенсоров и электрохимического детектора для анализа холинэстераз и их ингибиторов в водных образцах, предназначенных для субнаномолярного обнаружения фосфорорганического пестицида диазинона и других необратимых ингибиторов БХЭ. Представлен современный инновационный подход к анализу БХЭ с помощью спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР). Новые ГКР-субстраты на основе серебряной пасты были использованы для чувствительного количественного определения тиохолина (предел обнаружения – 260 нМ) и активности БХЭ. Были проанализированы реальные образцы человеческой плазмы крови и показана хорошая корреляция между спектрофотометрическим методом и методом спектроскопии ГКР.

Раздел С.А. Еремина посвящен иммунохимическим методам определения ФОС. Такие методы основаны на распознавании антител (антигена) специфическими рецепторами



(антителами) с образованием комплекса антиген-антитело и измерении аналитического сигнала, генерируемого иммунохимической тест-системой в ответ на образование комплекса, что приводит к высокой чувствительности и специфичности анализа. Изложены принципы их работы. В таблицу сведены примеры разработанных методов ИФА для определения основных ФОС и данные по чувствительности этих определений в терминах  $IC_{50}$ -концентрации на середине градуировочной кривой. Автор считает, что для разработки и создания новых иммунохимических методов для определения ФОС необходимо прежде всего: 1) получить специфичные антитела на ФОС; 2) синтезировать конъюгаты ФОС с белками, ферментами или метками, которые используются для проведения конкурентной реакции определяемого антигена и меченого антигена с антителами; 3) оптимизировать условия проведения конкурентного иммуноанализа и метода детекции метки; 4) разработать способ пробоподготовки образцов для определения ФОС методами иммунохимического анализа.

**Четвертая глава** монографии посвящена ферментным и клеточным биокатализаторам в процессах детоксификации ФОС.

В разделе *И.В. Лягина и Е.Н. Ефременко* дается обзор биокатализаторов, которые способны катализировать химические превращения ФОС. Лабильная группа в фосфорорганических пестицидах, чаще всего, представляет собой производное фенола или алкилтиола, которые могут быть линейными, разветвленными или ароматическими. Пестициды обычно имеют как минимум две одинаковые сложноэфирные группы, которые являются небольшими простыми алкильными заместителями, дающими начало ахиральному фосфорному центру. Несмотря на это структурное многообразие ФОС, обнаружено большое число ферментов, которые способны каталитически воздействовать на эти соединения. Рассмотрены механизм гидролиза ФОС органофосфатгидролазой (наиболее хорошо изученный фермент), метилпаратионгидролазой, лактонами семейства PL, кислот органофосфатангидролазой, параоксоназой, диизопропилфторфосфатгидролазой, белковым маркером старения 30, щелочной (ALP) и кислот (ACP) фосфатазами, цитохромами (оксидоредуктазы).

*Обзор А.В. Свиридова с соавт.* посвящен анализу новейших данных о ферментных системах катаболизма натуральных и синтетических органофосфонатов – С-Р лиазе и фосфонатазе, их структуре, разнообразию и физиологической роли у различных таксонов бактерий. Важнейшую роль в процессах выживания прокариот в условиях недостатка фосфора играют

ферменты, обеспечивающие разрыв устойчивой С-Р связи, прежде всего фосфонатаза и С-Р лиазный комплекс. Обладающие различными наборами ферментных систем бактерии могут формировать консорциумы, способные кооперативно катализировать все стадии процесса трансформации глифосат и таких его производных, как фосфометилиминодиацетат, в нетоксичные для бактерий соединения (АцетилГФ, АМФК) и их последующую минерализацию.

*О.Ф. Сенько с соавт.* детально рассматривают микробные биокатализаторы в процессе разложения ФОС и, в частности, методы генетического модифицирования организмов, способных осуществлять ускоренную биодеградацию ФОС, иммобилизацию клеток-деструкторов и создание искусственных консорциумов для повышения эффективности микробного биоразложения ФОС. Они считают, что возможности повышения эффективности процессов биодеградации далеко не исчерпаны. Увеличение активности штаммов-деструкторов, глубины деструкции ФОС, осуществляемой этими организмами, а также расширение спектра деградируемых соединений представляется актуальной проблемой, для решения которой существуют методы генной инженерии.

**Пятая глава** монографии посвящена стабилизированным формам биокатализаторов для деструкции ФОС.

*В.В. Завьяловым с соавт.* представлен анализ теоретических и экспериментальных исследований отечественных и зарубежных ученых по разработке самоочищающихся (самодегазирующихся) материалов для средств индивидуальной защиты, обеспечивающих повышение выживаемости людей в условиях воздействия ФОВ. Данное направление авторы считают наиболее перспективным из разрабатываемых. Атимикробная и биокаталитическая активность, самоочищение (самодегазация) могут приобретаться за счет их функционализации при использовании наноразмерных металлосодержащих частиц, проявляющих антибактериальные свойства, а также наноразмерных ферментных полиэлектrolитных комплексов, катализирующих гидролиз ряда высокотоксичных и токсичных соединений, токсинов и продуктов их деструкции и обеспечивающих самоочищение (самодегазацию) материалов. Для обоснования и выбора конструкции эффективного фильтрующе-сорбирующего фермент-содержащего самоочищающегося (самодегазирующегося) материала, который мог бы использоваться в индивидуальных и коллективных средствах защиты, необходимо проведение исследований с готовыми изделиями и реаль-

ными сильнодействующими ФОВ и разнообразными ФОС.

В разделе О.В. Масловой с соавт. рассмотрены современные подходы к иммобилизации ферментов с целью получения стабильных биопрепаратов, пригодных для разложения в природных объектах различных ФОС: параоксона, метил- и этилпараоксона, кумафоса, паратиона, метил- и этилпаратиона, хлорпирифоса, зомана, VX, метилфосфоновой кислоты и ее изобутилового и диизобутилового эфиров, диизопропилфторфосфата. В случае серьезно загрязненного сочетание ферментных биопрепаратов с микробными биокатализаторами позволяет быстро и эффективно восстанавливать целостность экосистем и обеспечивать экологическую безопасность природных объектов с точки зрения их очистки от ФОС.

А.Г. Асланлы, И.В. Лягин и Е.Н. Ефременко в качестве эффективного пути деградации ФОС рассматривают биокатализаторы, но считают, что им присущи серьезные недостатки, такие как нестабильность свойств и возможный иммунный ответ со стороны организма при применении их *in vivo*. Продлить время пребывания фермента, деградирующего ФОС, в кровотоке в каталитически активной форме возможно путем увеличения его стабильности и снижения его доступности к гидролитическому воздействию литических ферментов крови. При этом нековалентная модификация молекулы белка является одним из лучших способов получения высокоэффективных биокатализаторов. В отличие от ковалентной модификации, связанной как с потерей активности фермента, так и с трудоемкостью процедуры получения, ис-

пользование данного подхода не требует больших трудозатрат, не приводит к стерическим затруднениям для взаимодействия фермента с субстратом и, следовательно, является наиболее простым и эффективным подходом.

Собранная в монографии информация – шаг к новому познанию в токсикологии ФОС. Отмечу и *существенный недостаток монографии* – полное игнорирование медицинских аспектов защиты от фосфорорганических нейротоксинов, хотя в научной литературе накоплен большой опыт оказания медицинской помощи отравленным и пораженным такими веществами по результатам применения ФОВ в ходе ирано-иракской войны и ликвидации последствий террористического акта в Токио в 1995 г. Надеюсь, что в следующих работах авторов монографии такой опыт будет обобщен.

Данная монография будет полезной для студентов, аспирантов, научных сотрудников, специализирующихся в области физической химии, физико-химической биологии, химической энзимологии, токсикологии, биохимии, молекулярной биологии и генетики, биотехнологии, нанотехнологии и биомедицины.

Монография подготовлена при поддержке РФФИ (гранты № 19-03-00076, № 18-29-17069), РНФ (грант № 16-14-00061, № 18-13-00030, № 18-74-00021), государственного задания (АА-АА-А16-116052010081-5)

*Главный редактор журнала  
«Вестник войск РХБ защиты»  
доктор технических наук, доцент  
С.В. Петров*

#### *Использованные источники*

1. Pearson G.S. The Search for Iraq's Weapons of Mass Destruction. Inspection, Verification and Non-Proliferation. New York: Antony Rowe Ltd., 2005.

2. Tu A. Overview of Sarin Terrorist Attacks in Japan // Natural and Selected Synthetic Toxins. ACS Symposium Series. V. 745. Ch. 20. P. 304–317. American Chemical Society. 2000. <https://doi.org/10.1021/bk-2000-0745.ch020>

3. Ковтун В.А., Голипад А.Н., Мельников А.В. и др. Химический терроризм как силовой инструмент проведения внешней политики США и стран Запада // Вестник войск РХБ защиты. 2017. Т. 1. № 2. С. 3–13. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2017-1-2-3-13>

4. Ковтун В.А., Колесников Д.П., Супотниц-

кий М.В., Шило Н.И. Сирийская «химическая война» // Вестник войск РХБ защиты. 2018. Т. 2. № 3. С. 7–39. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2018-2-3-7-39>

5. Nelson J., Hopfer H., Silva F. et al. Evaluation of GC-ICP-MS/MS as a new strategy for specific heteroatom detection of phosphorus, sulfur, and chlorine determination in foods // J. Agric. Food Chem. 2015. V. 63(18). P. 4478–4483. <https://doi.org/10.1021/jf506372e>

6. Ellison D. Hank. Handbook of Chemical and Biological Warfare Agents (Second ed.), CRC Press, 2008.

7. Гайнуллина Эра Тазетдиновна. К 90-летию со дня рождения // Вестник войск РХБ защиты. 2020. Т. 4. № 2. С. 194–195.