

## ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОЛА С ПИРРОЛИДИНОВЫМ ФРАГМЕНТОМ НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ СВОЙСТВА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК ОСЕТРОВЫХ

<sup>1</sup>Фирсова А.В., <sup>1</sup>Половинкина М.А., <sup>1</sup>Григорьев В.А., <sup>1</sup>Осипова В.П., <sup>2</sup>Кудрявцев К.В.

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Южный научный центр Российской академии наук,  
г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

<sup>2</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова,  
г. Москва, Российская Федерация

**Аннотация.** Проведена оценка влияния новых фенольных производных пирролидина на качество нативной спермы осетровых рыб и на оплодотворяемость икры в сравнении с известным антиоксидантом – ионолом. Показана высокая эффективность применения (L)-1-(2-((1-гидрокси-нафталин-2-ил)тио)ацетил)пирролидин-2-карбоновой кислоты, добавка данного соединения способствует увеличению времени поступательного движения сперматозоидов в 2,2 раза относительно контроля и повышению процента оплодотворения и вылупления предличинок примерно в 1,5 раза. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения дополнительных исследований по установлению криопротекторной активности данных производных в условиях глубокой заморозки и дефростации.

**Ключевые слова.** Осетровые, репродуктивные клетки, оплодотворение, стерлядь, белуга, антиоксидант, пероксидное окисление липидов.

## EFFECT OF NEW PHENOL DERIVATIVES WITH PYRROLIDINE FRAGMENT ON THE REPRODUCTIVE PROPERTIES OF STURGEON GAMETES

<sup>1</sup>Firsova A.V., <sup>1</sup>Polovinkina M.A., <sup>1</sup>Grigoriev V.A., <sup>1</sup>Osipova V.P., <sup>2</sup>Kudryavtsev K.V.

<sup>1</sup>Federal research Centre the Southern scientific Centre of the Russian academy of sciences,  
Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** The influence of new phenolic derivatives of pyrrolidine on the quality of native sturgeon sperm and on the fertility of eggs was assessed in comparison with the well-known antioxidant - ionol. The high efficiency of (L)-1-(2-((1-hydroxynaphthalen-2-yl)thio)acetyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid was shown, the addition of this compound increases the time of forward movement of spermatozoa by 2.2 times relative to the control and an increase in the percentage of fertilization and hatching of prelarvae by about 1.5 times. The results obtained indicate the need for additional studies to establish the cryoprotective activity of these derivatives under conditions of deep freezing and defrosting.

**Keywords.** Sturgeon, reproductive cells, fertilization, sterlet, beluga, antioxidant, lipid peroxidation.

Антропогенные факторы, такие как зарегулирование стока рек и нарушение биологического цикла гидробионтов, негативно влияют на нерестовые популяции ценных пород рыб, в связи с чем искусственное воспроизводство стало играть основную роль в сохранении запасов осетровых рыб [1, 2]. Пополнение маточных стад осетровых дикими производителями с каждым годом становится сложнее из-за снижения численности естественных популяций [3, 4]. Для сохранения генетического разнообразия используют методы криоконсервации репродуктивных клеток рыб, так как они обеспечивают постоянное наличие клеточного материала. Известно, что процесс замораживания-оттаивания значительно снижает жизнеспособность и фертильность сперматозоидов, кроме того, концентрация растворенных веществ увеличивается в периоды замерзания из-за фазового расслоения и кристаллизации льда [5]. Прослеживается прямая зависимость процента живых репродуктивных клеток самцов после замораживания-оттаивания от качества нативной спермы [6]. Повысить качество исходного генетического материала можно добавлением протекторов антиоксидантного действия, поэтому в настоящее время ведется активный поиск новых безопасных и эффективных соединений, способствующих увеличению выживаемости и подвижности спермиев в минимальных концентрациях.

С целью снижения нежелательных побочных эффектов и увеличения эффективности направленного действия потенциальных биологически-активных соединений широкое распространение

получила стратегия синтеза полифункциональных антиоксидантов – аналогов природных биологически активных соединений. Пирролидиновые производные алкалоидов являются перспективными вторичными метаболитами растительного сырья. Некоторые производные пирролидина используются для лечения тромбозов и содержатся в ряде лекарственных и терапевтических препаратов [7].

В связи с этим, в работе оценено влияние двух пар энантиомеров (L)- и (D)-1-(2-((1-гидроксифенил)тио)ацетил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (**1,2**) и (L)- и (D)-1-(2-((1-гидроксиафталин-2-ил)тио)ацетил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (**3,4**) в сравнении с известным антиоксидантом 2,6-ди-*трет*-бутилфенолом (ионолом) (**5**) в концентрации 0.1 ммоль на качество нативной спермы белуги (*Huso huso* Linnaeus, 1758), а также на рыбоводные показатели оплодотворенной икры. В качестве контроля выступает нативная сперма белуги без добавок исследуемых соединений.

На первом этапе определено время и процент поступательного движения сперматозоидов нативной спермы и установлено, что добавка всех соединений не снижает процента подвижности спермиев, во всех группах 100% поступательного движения. Только при добавлении соединения **3** к нативной сперме белуги наблюдается увеличение времени поступательного движения сперматозоидов в 2,2 раза относительно контроля (1079 и 487 секунд, соответственно). В остальных вариантах данный показатель незначительно ниже контроля (табл.).

Таблица 1 - Показатели качества спермы белуги

Соединение	Время жизни, с	Процент оплодотворения икры, %	Процент вылупления личинок, %
контроль	487	68	58
<b>1</b>	365	70	62
<b>2</b>	402	45	24
<b>3</b>	1079	97	93
<b>4</b>	413	41	11
<b>5</b>	398	35	24

На втором этапе исследования проведено оплодотворение икры стерляди спермой белуги без добавки и в присутствии исследуемых соединений полусухим способом согласно стандартным методикам [8, 9]. Выходными показателями является процент оплодотворения икры и процент вылупления личинок. Процент оплодотворения икры и вылупления личинок с добавкой соединения **1** сравним с контрольным вариантом. Добавка энантиомера **3** способствует повышению процента оплодотворения до 97%. В присутствии остальных соединений процент оплодотворения ниже в 1.5-1.9 раз, относительно контроля. Наилучший результат вылупления личинок также характерен для производного **3** (93%) что в 1,6 раз больше контрольной партии. Самые низкие показатели установлены для (D)-изомеров пирролидинкарбоновых кислот (**2, 4**) и реперного антиоксиданта ионола (**5**).

Таким образом, добавка (L)-1-(2-((1-гидроксиафталин-2-ил)тио)ацетил)пирролидин-2-карбоновой кислоты в концентрации 0.1 мМ позволяет улучшить качество репродуктивных клеток самцов осетровых рыб, повысить процент оплодотворения икры и увеличить выход личинок. Новые производные пирролидинкарбоновых кислот **1-4** являются оптическими антиподами, однако в обоих случаях (L)-стереоизомеры проявляют более выраженную биологическую активность в исследуемой системе. Эффективность действия производного **3** превышает действие эталонного соединения – ионола, что позволяет предполагать его применение в качестве протекторной добавки в процессе криоконсервации репродуктивных клеток.

#### Список использованных источников

1. Чебанов М.С., Галич Е.В. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб / Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН: Анкара, 2013. – 367 с.
2. Abed-Elmdoust A., Rahimi R., Farahmand H., Amiri B. M., Mirvaghefi A., Rafiee G., Droplet vitrification versus straw cryopreservation for spermatozoa banking in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) from metabolite point of view // Theriogenology, 2019. – V.129. – P. 110-115. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.02.031>.
3. Рубан Г.И., Ходоревская Р.П., Кошелев В.Н. О состоянии осетровых в России // Астраханский вестник экологического образования, 2015. - №1 (31). – С.42-50.
4. История и состояние запасов осетровых (*Acipenseridae*) в Каспийском бассейне / А.Д. Власенко, Т.И. Булгакова, И.Н. Лепилина, И.В. Коноплева, И.А. Сафаралиев // Вестник МГТУ, 2020. – Т.23. - №2. – С.105-114.

5. Bhatnagar B.S., Bogner R.H., Pikal M.J. Protein stability during freezing: separation of stresses and mechanisms of protein stabilization // *Pharmaceut Dev Technol*, 2007. – V. 12. – P. 505-523. <https://doi.org/10.1080/10837450701481157>.

6. Исаев Д.А., Шафеи Р.А. Криоконсервация спермы осетровых рыб: текущее состояние и перспективы // *Рыбоводство и рыбное хозяйство*, 2016. \_ №5. – С. 65-73.

7. Amarouche L., Mehdid M. A., Brahimi F. T., Belkhadem F., Karmaoui M., Othman A. A. Synthesis of some 2-substituted pyrrolidine alkaloid analogues: N-benzyl-2-(5-substituted 1,3,4-oxadiazolyl) pyrrolidine derivatives and pharmacological screening // *Journal of Saudi Chemical Society*, 2022. – V. 26(3). – P. 1014448. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2022.101448>.

8. Неваленный А.Н., Пономарева Е.Н., Сорокина М.Н. Биологические основы рыбоводства: учебник для вузов — М.: Моркнига, 2016. — 434с.

9. Кучко, Т.Ю. Методы получения половых продуктов от производителей рыб: учебное пособие для студентов эколого-биологического и агротехнического факультетов / М-во науки и образования Рос. Федерации, федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования Петрозавод. гос. ун-т. – Петрозаводск : Издательство ПетрГУ, 2015. – 63 с.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 22-16-00095.