

Получение аддукта левоглюкозенона и резорцина и его *in vitro* антикоагулянтная и антиагрегантная активность

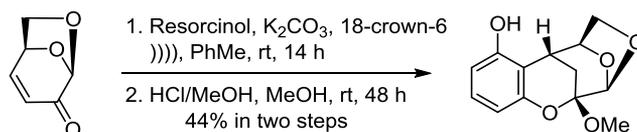
Лилия Х. Файзуллина^{1*}, Юлия А. Халилова¹, Фарид А. Валеев¹,
Валентин Н. Павлов², Александр В. Самородов²

¹ Уфимский институт химии Уфимского федерального исследовательского центра РАН,
пр. Октября, 71, Уфа 450054, Россия; e-mail: sinvmet@anrb.ru

² Башкирский государственный медицинский университет,
ул. Ленина, 3, Уфа 450008, Россия; e-mail: AVSamorodov@gmail.com

Поступило 7.07.2021

Принято после доработки 31.08.2021



Разработана методика получения аддукта левоглюкозенона и резорцина в условиях ультразвукового облучения смеси K_2CO_3 и 18-краун-6-эфира в толуоле. Изучена его *in vitro* антикоагулянтная и антиагрегантная активность.

Ключевые слова: аддукты Михаэля, левоглюкозенон, резорцин, смешанный кеталь, антиагрегантная активность, антикоагулянтная активность.

Взаимодействие левоглюкозенона со многими известными нуклеофилами по реакции Михаэля приводит к образованию хиральных C(4)-аддуктов.¹ Реакции с 1,3-бифункциональными соединениями, такими, например, как diketоны или ди(три)азолы, часто не завершаются на стадии образования аддукта Михаэля, а в результате последующих внутримолекулярных трансформаций образуются продукты взаимодействия второй функциональной группы с кетогруппой углеводного фрагмента.² Обнаружено, что и сам левоглюкозенон способен к подобным превращениям, приводящим к олигомерным продуктам.³ Поэтому, в отличие от реакции с циклогексаноном, димедон взаимодействует с левоглюкозеноном с образованием гексагидрохроменового производного в результате внутримолекулярного образования кетала взаимодействием кетогруппы левоглюкозенона с енольной формой димедонового фрагмента.⁴ Как известно,⁵ хромановая система входит в состав молекул таких классов биологически активных природных соединений, как флавоноиды и токоферолы. При получении содержащих хромановый фрагмент производных левоглюкозенона в реакции с димедоном ароматизации гексагидрохромена препятствует наличие *gem*-диметильной группы.

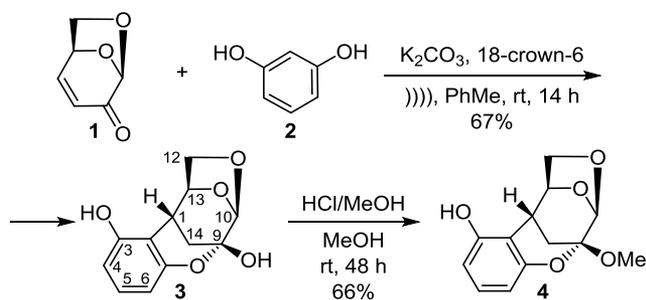
Из ароматических производных левоглюкозенона известен его аддукт Михаэля с β -нафтолом, исполь-

зованный в синтезе 9-членного лактона, аннелированного с бензольным циклом, а также продукт непосредственного присоединения 2-гидроксibenзальдегида по окса-реакции Михаэля и альдольной конденсации – производное хирального хромена.⁶

Принимая во внимание значимость хроманового блока для выяснения отдельных аспектов взаимосвязи структура–активность, мы изучили возможности получения аддуктов левоглюкозенона с резорцином. Несмотря на то, что этот *meta*-двухатомный фенол ограниченно распространен в природе, его фрагмент, особенно карбоксипроизводное, входит в состав целого ряда различных биологически активных соединений. На его основе созданы антибактериальные, антисептические и дезинфицирующие средства.⁷

Резорцин вступает в реакцию с такими электрофилами, как альдегиды, поэтому не исключается возможность присоединения его к левоглюкозенону по атому C(4). К сожалению, в типичных условиях взаимодействия резорцина с альдегидами в присутствии пиридина левоглюкозенон оказался инертен. Реакцию левоглюкозенона с резорцином удалось реализовать в более жестких условиях с использованием ультразвукового облучения. Так, реакция присоединения к левоглюкозенону (1) резорцина (2) в растворе PhMe в присутствии K_2CO_3 и катализатора 18-краун-6-эфира сопровождалась образованием

Схема 1

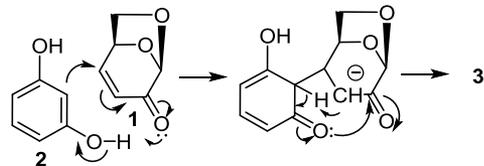


аддукта Михаэля и его последующей спонтанной циклизацией в хроман – соединение 3. Соединение 3 оказалось нестабильным, поэтому полукеталь 3 перевели в кеталь 4 (схема 1).

Тетрациклическое соединение 3 является продуктом "тыльного" тандемного превращения, инициированного реакцией 1,4-нуклеофильного присоединения резорцина (2) к левоглюкозенону (1) и последующей внутримолекулярной кетализацией за счет сближенности гидроксильной группы и кетогруппы. Это возможно только при конформации "кресло" шестичленного цикла и при внутримолекулярной атаке кетогруппы гидроксильной группой из α -области резорцинового фрагмента. Таким образом, доказательством *R*-конфигурации центров C(1) и C(9) является стереохимическая особенность реакционной способности левоглюкозенона (1): первая стадия протекает под строгим контролем со стороны 1,6-ангидромостику, а вторая – возможна за счет стерического содействия. Стереохимия центров C(10) и C(13) не затрагивается в ходе превращения.

Как и во всех реакциях Михаэля, присоединение нуклеофила к двойной связи левоглюкозенона (1) происходит стереоспецифично со стороны, противоположной 1,6-ангидромостику, превращение завершается замыканием в дигидропирановый цикл "снизу", согласно предполагаемому механизму (схема 2).

Схема 2

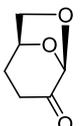
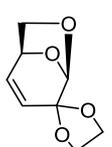


Об образовании пиранового цикла свидетельствуют сигнал четвертичного атома C(9) в спектре ЯМР ^{13}C соединения 4 при 101.2 м. д. и наличие корреляционных пиков в спектре 1H - ^{13}C HMBC между атомами C(9)/1-CH, C(3)/1-CH и C(9)/OCH₃.

Учитывая предполагаемую биогенетическую связь резорцина с кумаринами, мы изучили антикоагулянтную и антиагрегантную активность в условиях *in vitro* всех используемых в синтезе соединений и некоторых производных левоглюкозенона.

По результатам проведенных исследований установлено, что по показателю максимальной амплитуды левоглюкозенона 1 и кеталь 4 проявляют антиагрегантную активность, превышающую показатели препарата сравнения – ацетилсалициловой кислоты, а монодиоксолановое производное левоглюкозенона 6, полученное нами ранее,⁸ и резорцин (2) оказывают антиагрегантное действие на уровне ацетилсалициловой кислоты (табл. 1). При этом соединения 1–6 эффектив-

Таблица 1. Влияние соединений 1–6 и препаратов сравнения на показатели агрегации тромбоцитов и АПТВ, Ме (0.25–0.75)

Соединение	Латентный период,* % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Удлинение АПТВ, % к контролю
1	+13.7 (10.6–15.9)**	–18.9 (17.4–21.1)**	–21.6 (18.3–23.1)**	+1.7 (1.5–3.7)
2	+9.9 (6.8–12.3)**	–11.1 (7.8–13.2)**	–13.1 (6.5–15.7)**	+4.4 (3.3–5.1)
3	+7.2 (5.4–8.6)**	–10.2 (7.6–12.3)**	–14.9 (12.4–17.3)**	+2.5 (1.4–4.2)
4	+20.4 (18.7–24.5) *****	–17.5 (17.1–18.9)**	–13.5 (11.7–14.7)**	+3.8 (3.1–5.3)
	–10.5 (8.6–11.3)**	–4.7 (3.2–6.7)**	+2.7 (2.1–3.3) ***	+3.4 (3.2–4.6)
5				
	+11.3 (8.5–14.7)**	–17.6 (15.3–20.1)**	–19.2 (17.4–22.9)*****	+2.7 (1.9–3.5)
6				
Ацетилсалициловая кислота	–2.1 (1.1–2.6)	–13.7 (10.8–16.4)**	–10.5 (7.6–12.3)**	–
Гепарин натрия	–	–	–	+20.3 (19.7–21.4)**

* Латентный период представлен для агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном.

** $p \leq 0.05$.

*** $p \leq 0.001$, в сравнении с ацетилсалициловой кислотой.

нее ацетилсалициловой кислоты удлиняли латентный период агрегации, который характеризует интенсивность реакции высвобождения тромбоцитов. Скорость агрегации тромбоцитов, как и в случае ацетилсалициловой кислоты, уменьшалась для всех указанных производных. Следует отметить, что все соединения вызывали гипокоагуляцию, повышая АПТВ на 1.7–4.4%, по сравнению с контролем, и не влияли на концентрацию фибриногена и протромбиновое время. Изученные соединения по выраженности действия значительно уступали гепарину, повышавшему АПТВ на 20.3%.

Таким образом, на основе левоглокозенона разработан метод синтеза хирального соединения, содержащего фармакофорный хромановый фрагмент. Получены первые результаты исследования антикоагулянтной и антиагрегантной активности левоглокозенона. Введение хроманового фрагмента приводит к увеличению этих видов биологической активности.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C (500 и 126 МГц соответственно), а также спектры COSY, NOESY, ^1H – ^{13}C HMBC, ^1H – ^{13}C HSQC записаны на спектрометре Bruker Avance III 500 MHz в CD_3OD . Масс-спектры зарегистрированы на ВЭЖХ масс-спектрометре LCMS-2010 EV (Shimadzu) с одним квадруполом в режиме регистрации положительных и отрицательных ионов при потенциале капилляра 4.5 и –3.5 кВ соответственно, ионизация электрораспылением, элюент MeCN – H_2O . Элементный анализ выполнен на CHNS(O)-анализаторе Thermo Scientific Flash 2000. Углы оптического вращения определены на поляриметре PerkinElmer-341. Температуры плавления определены на приборе Voetius с визуальным устройством PHMK 05. Для аналитической ТСХ применены пластины Sorbfil марки ПТСХ-АФ-А, изготовитель ЗАО "Сорбполимер" (Краснодар). Колоночная хроматография проведена с использованием силикагеля Macherey-Nagel 60 (размер частиц 0.063–0.2 мм).

В работе использованы: левоглокозенон (**1**) ((1*S*,5*R*)-6,8-диоксабицикло[3.2.1]окт-2-ен-4-он, CAS № 37112-31-5) фирмы Circa Group (Австралия), чистота 87.9% (ВЭЖХ), после перегонки технического левоглокозенона чистота составила 96% (ГЖХ), $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ –498.7° (*c* 1.0, CHCl_3); цирен (**5**) (дигидролевоглокозенон, 6,8-диоксабицикло[3.2.1]октан-4-он, CAS № 53716-82-8) фирмы Circa Group (Австралия), т. кип. 231.6°C, *d* 1.25 г/мл.

(1*R*,9*R*,10*R*,13*S*)-8,11,15-Триоксатетрацикло[7.4.1.1^{10,13}.0^{2,7}]пентадека-2,4,6-триен-3,9-диол (3). К раствору 1.00 г (8.0 ммоль) левоглокозенона (**1**) в 30.0 мл PhMe при комнатной температуре добавляют 0.88 г (8.0 ммоль) резорцина (**2**), 6.9 г (50.0 ммоль) K_2CO_3 , и каталитическое количество 18-краун-6-эфира. Реакционную смесь облучают на ультразвуковом генераторе УЗДН-2Т (диапазон 44 Гц, мощность тока 80 мА) в течение 14 ч (контроль методом ТСХ). Растворитель отгоняют, остаток хроматографируют на

колонке с SiO_2 . Выход 1.25 г (67%). R_f 0.3 (петролейный эфир – EtOAc, 1:1). Белые кристаллы. Т. пл. 250–253°C. $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ –53.7° (*c* 1.0, CHCl_3). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (*J*, Гц): 1.62 (1H, д, д, *J* = 12.6, *J* = 0.9, 14- CH_2); 2.40 (1H, д, д, *J* = 12.6, *J* = 3.4, 14- CH_2); 2.91 (1H, д, *J* = 2.9, 1-CH); 3.81 (1H, д, д, *J* = 6.7, *J* = 4.7, 12- CH_2); 4.15 (1H, д, *J* = 6.7, 12- CH_2); 4.30–4.35 (1H, м, 13-CH); 4.83 (1H, с, 10-CH); 6.23–6.29 (2H, м, H-4,6); 6.85 (1H, д, *J* = 7.8, H-5). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 28.8 (C-14); 38.1 (C-1); 67.8 (C-12); 78.0 (C-13); 96.6 (C-9); 102.1 (C-10); 104.0 (C-4); 106.5 (C-6); 116.7 (C-2); 126.9 (C-5); 157.0 (C-3); 157.5 (C-7). Масс спектр, *m/z* ($I_{\text{отн}}$, %): 237 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100). Найдено, %: C 60.90; H 5.15. $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_5$. Вычислено, %: C 61.02; H 5.12.

(1*R*,9*R*,10*R*,13*S*)-9-Метокси-8,11,15-триоксатетрацикло[7.4.1.1^{10,13}.0^{2,7}]пентадека-2,4,6-триен-3-ол (4). К раствору 0.95 г (4.0 ммоль) аддукта **3** в 10.0 мл MeOH при 0°C добавляют 3.0 мл 20% раствора HCl в MeOH. Реакционную смесь перемешивают в течение 48 ч при комнатной температуре (контроль методом ТСХ). Затем реакционную смесь нейтрализуют насыщенным водным раствором NaHCO_3 (pH 6) и продукты реакции экстрагируют EtOAc (3 × 15.0 мл). Экстракт сушат MgSO_4 , растворитель отгоняют, остаток хроматографируют на колонке с SiO_2 . Выход 66 мг (66%). R_f 0.5 (петролейный эфир – EtOAc, 1:1). Белые кристаллы. Т. пл. 235–237°C. $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ –150° (*c* 1.35, MeOH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (*J*, Гц): 1.95–1.98 (1H, м, 14- CH_2); 2.28 (1H, д, д, *J* = 12.4, *J* = 3.5, 14- CH_2); 2.96 (1H, д, д, д, *J* = 6.0, *J* = 3.5, *J* = 3.0, 1-CH); 3.35 (3H, с, OCH_3); 3.80 (1H, д, д, д, *J* = 12.0, *J* = 7.4, *J* = 4.6, 12- CH_2); 4.14 (1H, д, *J* = 7.4, 12- CH_2); 4.34–4.38 (1H, м, 13-CH); 4.62 (1H, уш. с, OH); 5.03 (1H, д, *J* = 1.7, 10-CH); 6.27–6.31 (2H, м, H-4,6); 6.86 (1H, д, *J* = 8.8, H-5). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 26.5 (C-14); 39.3 (C-1); 49.8 (OCH_3); 69.1 (C-12); 79.7 (C-13); 101.2 (C-9); 103.5 (C-6); 104.8 (C-10); 108.2 (C-4); 118.1 (C-2); 128.4 (C-5); 158.5 (C-3); 159.0 (C-7). Масс спектр, *m/z* ($I_{\text{отн}}$, %): 251 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100). Найдено, %: C 62.42; H 5.61. $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_5$. Вычислено, %: C 62.39; H 5.64.

Исследование антиагрегантной и антикоагулянтной активности соединений 1–6. Эксперименты выполнены в соответствии с требованиями Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств. Исследование антиагрегантной и антикоагулянтной активности проведено в условиях *in vitro* на крови 38 здоровых доноров-мужчин в возрасте 18–24 лет. Исследование одобрено этическим комитетом Башкирского государственного медицинского университета Минздрава России (протокол № 1 от 20.02.2019). Информированное согласие получено у всех участников исследования до забора крови.

Влияние соединений на агрегацию тромбоцитов изучено по методу Борна⁹ на агрегометре AT-02 (НПФ "Медтех", Россия). Антиагрегантная активность соединений и препарата сравнения исследована в конечной концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л при инкубации в течение 5 мин. В качестве индукторов агрегации использованы аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл и

коллаген в концентрации 5 мг/мл ("Технология-Стандарт", Россия). Изучено влияние соединений на максимальную амплитуду агрегации (МА), скорость агрегации и время достижения МА при агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. В тесте индуцированной коллагеном агрегации тромбоцитов оценен латентный период агрегации, что характеризует интенсивность реакции высвобождения тромбоцитов. В качестве препарата сравнения использована ацетилсалициловая кислота (субстанция-порошок, Shandong Xinhua Pharmaceutical Co., Китай).

Определение антикоагулянтной активности проведено клоттинговыми тестами¹⁰ на турбидиметрическом гемокоагулометре Solar CGL 2110 (ЗАО "СОЛАР", Беларусь), конечные концентрации исследуемых соединений и препарата сравнения – $5 \cdot 10^{-4}$ г/мл. Изучены показатели активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбинового времени (ПВ) и концентрации фибриногена методом Клаусса. В качестве препарата сравнения использован гепарин натрия (5000 МЕ/мл раствор для инъекций, ампулы 1 мл, ОАО "Синтез", Россия).

Статистический анализ проведен с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США). Проверка на нормальность распределения выполнена с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для описания вариационных рядов рассчитаны медиана, 25 и 75 процентиля, минимумы и максимумы значений. Проведен однофакторный дисперсионный анализ (если совокупность данных подчиняется законам нормального распределения и дисперсии всех выборок, F-критерий) или тест Краскела–Уоллиса (если совокупность данных не подчиняется законам нормального распределения, H-критерий). Критический уровень значимости p для статистических критериев принят ≤ 0.05 .

Файл сопроводительных материалов, содержащий спектры ЯМР ¹H и ¹³C полученных соединений, а также спектры COSY, NOESY, ¹H–¹³C HMBSC, ¹H–¹³C HSQC соединения **4**, доступен на сайте журнала <http://hgs.osi.lv>.

Авторы благодарят Circa Group за предоставленный технический левоглюкозенол и цирен товарной марки.

Работа выполнена по теме № АААА-А20-120012090028-3 госзадания.

Спектры ЯМР записаны на оборудовании Центра коллективного пользования научным оборудованием "Химия" Уфимского института химии РАН и Регионального центра коллективного пользования "Агидель" Уфимского федерального исследовательского центра РАН.

Список литературы

- (a) *Levoglucosone and Levoglucosans: Chemistry and Applications*; Witczak, Z. J., Ed.; ATL Press, Science Publishers: Mount Prospect, 1994. (b) Miftakhov, M. S.; Valeev, F. A.; Gaisina, I. N. *Russ. Chem. Rev.* **1994**, *63*, 869.

- [*Успехи химии* **1994**, *63*, 922.] (c) *Carbohydrate Synthons in Natural Products Chemistry: Synthesis Functionalization, and Applications*; ACS Symposium Series; vol. 841; Witczak, Z. J., Tatsuta, K. Eds.; Washington, 2003. (d) Sarotti, A. M.; Zanardi, M. M.; Spanevello, R. A.; Suárez, A. G. *Curr. Org. Synth.* **2012**, *9*, 439. (e) Comba, M. B.; Tsai, Y.-h.; Sarotti, A. M.; Mangione, M. I.; Suárez, A. G.; Spanevello, R. A. *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 590. (f) Khalilova, Yu. A.; Tagirov, A. R.; Doronina, O. Yu.; Spirikhin, L. V.; Salikhov, Sh. M.; Valeev, F. A. *Russ. J. Org. Chem.* **2014**, *50*, 110. [*Журн. орган. химии* **2014**, *50*, 118.] (g) Faizullina, L. Kh.; Galimova, Y. S.; Salikhov, Sh. M.; Valeev, F. A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2020**, *56*, 1434. [*Химия гетероцикл. соединений* **2020**, *56*, 1434.]
- (a) Samet, A. V.; Laikhter, A. L.; Kislyi, V. P.; Ugrak, B. I.; Semenov, V. V. *Mendeleev Commun.* **1994**, *4*, 134. (b) Samet, A. V.; Yamskov, A. N.; Ugrak, B. I.; Vorontsova, L. G.; Kurella, M. G.; Semenov, V. V. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **1996**, *45*, 399. [*Изв. АН, Сер. хим.* **1996**, 415.] (c) Samet, A. V.; Yamskov, A. N.; Ugrak, B. I.; Semenov, V. V. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **1997**, *46*, 532. [*Изв. АН, Сер. хим.* **1997**, 553.] (d) Samet, A. V.; Chernysheva, N. B.; Shestopalov, A. M.; Semenov, V. V. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **1999**, *48*, 210. [*Изв. АН, Сер. хим.* **1999**, 208.] (e) Gorobets, E. V.; Miftakhov, M. S.; Valeev, F. A. *Russ. Chem. Rev.* **2000**, *69*, 1001. [*Успехи химии* **2000**, *69*, 1091.] (f) Gorobets, E. V.; Spirikhin, L. V.; Tzypysheva, I. P.; Miftakhov, M. S.; Valeev, F. A. *Russ. J. Org. Chem.* **2001**, *37*, 1088. [*Журн. орган. химии* **2001**, *37*, 1147.] (g) Valeev, F. A.; Gorobets, E. V.; Spirikhin, L. V.; Miftakhov, M. S. *Russ. J. Org. Chem.* **1999**, *35*, 1242. [*Журн. орган. химии* **1999**, *35*, 1268.] (h) Valeev, F. A.; Gorobets, E. V.; Miftakhov, M. S. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **1999**, *48*, 152. [*Изв. АН, Сер. хим.* **1999**, 152.] (i) Samet, A. V.; Laikhter, A. L.; Reznikov, D. N.; Yamskov, A. N.; Ugrak, B. I.; Chernyshova, N. B.; Yolkin, V. V.; Semenov, V. V. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **1994**, *43*, 1073. [*Изв. АН, Сер. хим.* **1994**, 1135.] (j) Tagirov, A. R.; Galimova, Yu. S.; Faizullina, L. Kh.; Salikhov, Sh. M.; Valeev, F. A. *Russ. J. Org. Chem.* **2017**, *53*, 1053. [*Журн. орган. химии* **2017**, *53*, 1040.]
- Shafizadeh, F.; Furneaux, R. H.; Stevenson, T. T. *Carbohydr. Res.* **1979**, *71*, 169.
- Khalilova, Yu. A.; Spirikhin, L. V.; Salikhov, Sh. M.; Valeev, F. A. *Russ. J. Org. Chem.* **2014**, *50*, 117. [*Журн. орган. химии* **2014**, *50*, 125.]
- Sosnovskikh, V. Ya. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2020**, *56*, 1111. [*Химия гетероцикл. соединений* **2020**, *56*, 1111.]
- (a) Тагиров, А. Р.; Файзуллина, Л. Х.; Салихов, Ш. М.; Валеев, Ф. А. *Бутлеровские сообщения* **2014**, *39*(10), 48. (b) Samet, A. V.; Lutov, D. N.; Firgang, S. I.; Lyssenko, K. A.; Semenov, V. V. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 3026.
- (a) Crombie, L.; Ponsford, R. *J. Chem. Soc. C* **1971**, 788. (b) Bandaranayake, W. M.; Begley, M. J.; Brown, B. O.; Clarke, D. G.; Crombie, L.; Donald, A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1974**, 998. (c) Bandaranayake, W. M.; Crombie, L.; Whiting, D. A. *J. Chem. Soc. C* **1971**, 811. (d) Clarke, D. G.; Crombie, L.; Whiting, D. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1974**, 1007.
- Tagirov, A. R.; Biktagirov, I. M.; Galimova, Yu. S.; Faizullina, L. Kh.; Salikhov, Sh. M.; Valeev, F. A. *Russ. J. Org. Chem.* **2015**, *51*, 569. [*Журн. орган. химии* **2015**, *51*, 587.]
- Born, G. V. R. *J. Physiol.* **1962**, *162*, 67.
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*; Миронов, А. Н., Ред.; Гриф и К: Москва, 2013, ч. 1.