

ПОЛИУРОНИДЫ. СТРУКТУРА, СВОЙСТВА, ПРИМЕНЕНИЕ (ОБЗОР)

© 2000 г. А.И. Сливкин

Воронежский государственный университет

Обзор посвящен вопросам изучения разновидности натуральных полиуронидов, для которых характерна локализация в морских водорослях. Главное внимание обращено на разновидность фитогликанов этого типа - альгиновые кислоты. Представлены разделы включающие информацию и анализ методов выделения и очистки полиуронидов, особенностей структуры и физико-химических свойств. Основные пути утилизации альгиновых кислот рассмотрены в связи с возможностями их химической модификации. В качестве приоритетных направлений использования полиуронидов и аналогов на их основе отмечены успехи по созданию соответствующих лекарственных форм, иммуномодуляторов, радиопроекторов. Анализ результатов проведенных исследований продемонстрирован на примерах аналоговых превращений альгиновых кислот, благодаря которым осуществлен синтез алкил- и алканоламиносодержащих полиэлектролитов, полимерных лекарств пролонгированного действия на основе противотуберкулезных субстанций гидразида изоникотиновой кислоты, парааминосалициловой кислоты и др.

Полиуроновые кислоты и их аналоги (простые и сложные эфиры) представляют собой гликаны, звенья полимерных цепей которых — ангидропроизводные альдурановых кислот. Полиурониды, представляющие собой гомо- и гетероконденсаты D-галактуронозой, D-маннураноной, L-гумирлураноной, D-глюкурононой и других кислот, распространены практически во всех наземных растениях и в ряде водорослей. Эта разновидность фитогликанов может присутствовать в растительной биосфере в растворимой и нерастворимой форме. Полиурониды наземных растений объединены общим наименованием — пектины, пектиновые вещества. Пространственно-структурированные пектины, нерастворимые в воде, играют определенную роль в организации клеток. Этот вид гликанов носит наименование — протопектин, представляющий по своей структуре, в основном, полимерную соль пектовой кислоты (поли-D-галактуронозой) с ионом Ca^{2+} .

Растворимые пектиновые вещества присутствующие, главным образом, в клеточном соке, играют важную роль в метаболизме растений. В составе макроцепей пектинов кроме D-галактуронат, имеются также блоки, состоящие из остатков D-галактозы, L-арабинозы, L-рамнозы, D-ксилозы и др. Часть карбоксильных и гидроксильных пектиновых кислот этерифицированы соответственно: метиловым спиртом и

уксусной кислотой. Степень замещения — переменная величина, связанная с периодом развития растительной системы. Таким образом осуществляется регуляция плотности заряда на макромолекулах пектина, что обеспечивает контролирование миграции микрочастиц на клеточном уровне. Процесс этерификации и омыления пектиновых веществ осуществляется, благодаря обратимому действию в живых системах, фермента — пектинэстеразы. Основная межзвеньевая связь в структуре пектовых кислот $\alpha - 1 \rightarrow 4$.

Характерным для растворимых пектинов свойством является, способность их водных растворов к образованию прочных гелей. Этот процесс обусловлен ассоциацией макромолекул. Вязкость растворов пектиновых веществ, степень гелеобразования зависят от плотности заряда на их макромолекулах. Этому процессу способствует присутствие в растворах низкомолекулярных углеводов, органических кислот, неорганических солей. Благодаря специфическому комплексу физико-химических свойств, пектиновые вещества, практически нетоксичные в отношении животных организмов, нашли широкое применение в пищевой промышленности, фармацевтике, косметике. Эта разновидность гликанов используется в качестве желеобразующих компонентов, сорбентов, носителей лекарственных веществ, частей лекар-

ственных форм. Пектиновые вещества производятся в промышленном масштабе путем извлечения их экстракцией из отходов плодо- и овощеперерабатывающей промышленности.

Опубликована монография по химии пектиновых веществ [1], в которой обсуждены успехи, по изучению этой группы гликанов, с момента его открытия. Представлены достаточно исчерпывающие обзоры литературы по свойствам пектинов [2-4]. Предложен метод выделения пектина из цитрусовых плодов, и некоторые способы приготовления пектовой кислоты [5].

Гликаны морских водорослей составляют до 80 % сухого веса растений. В структуре клеточных стенок участвуют, помимо целлюлозы, полисахариды со специфической структурой — агар, каррагинин, ламинарин, альгиновые кислоты. Структурные варианты и количественное содержание этих гликанов зависят от вида растений. Для разновидностей красных водорослей характерно наличие значительного количества сульфатов полиоз типа агара и каррагинина. Агар является смесью полиоз: агарозы и агаропектина, содержащих сульфатные группы. Агароза построена из D-галактозы и 3,6-ангидро-L-галактозы; межзвеньевые связи $\beta - 1 \rightarrow 4$ и $\alpha - 1 \rightarrow 3$ [6]. Содержание сульфогрупп в структуре агарозы незначительно. При мягком гидролизе агарозы возможно получение соответствующего димера-агаробиозы.

Большая группа сульфированных полиоз красных водорослей, содержит только D-галактозу, с регулярно чередующимися связями $\beta - 1 \rightarrow 4$, $\alpha - 1 \rightarrow 3$. Типичный гликан этого класса каррагинин, в структуре которого C_4 – замещенный остаток D-галактозы входит в состав макроцепи в виде 2,6-дисульфата [7].

Полиуроновые кислоты являются основным компонентом клеточных стенок бурых водорослей. Важнейшие из полиурунидов: альгиновая кислота и ламинарин. Выделение альгиновой кислоты было впервые описано Стенфордом в 1881 году, позже (1955 г.) найдено, что в состав молекул альгиновой кислоты входят остатки D-маннуриновой и L-гулуриновой кислот [8]. Было установлено, что при фракционировании альгиновой кислоты, посредством осаждения ионом марганца или хлористого калия выделяют фракции с различным соотношением остатков двух уроновых кислот [9]. Состав уроновых кислот был определен хроматографированием гидролизатов на колонке с анионитами и количественным разделением по реакции с орцином.

В составе указанного вида водорослей также присутствует ламинарин, выполняющий роль энергетического резерва клеток.

Макромолекулы ламинарина, в основном, соответствуют структуре β -гликана. Остатки D-глюкозы связаны $\beta - 1 \rightarrow 3$ связями. Примерно 50 % молекул имеют концевые восстанавливающие группы, остальные макроцепи блокированы с образованием гликозидов маннита, количество которого составляет около 2 %. Часть молекул разветвлена, с точкой ветвления $\beta - 1 \rightarrow 6$ [10]. В составе этого вида растений содержатся также сульфированные гомогликаны — фуканы, макромолекулы которых включают остатки L-фукозы ($\alpha - 1 \rightarrow 2$ связь) в значительной степени сульфированные в положении 4. Этот полисахарид содержит также некоторое количество остатков D-галактозы и обладает слабой разветвленностью [11].

Особое значение в отношении практического использования водорослевых гликанов имеет комплекс их физико-химических свойств, биохимическая активность, практически полная безвредность в отношении животных организмов. Широко известны ценные качественные показатели агара (агарозы), при утилизации их в пище-вкусовой индустрии, микробиологических исследованиях, фармацевтике. Анализ литературы показывает о значительном развитии исследований связанных с изучением альгиновых кислот.

Производятся работы по оптимизации промышленного извлечения полиурунидов из растительных объектов, а также методов их фракционирования и тонкой очистки полиурунидов. Развернуты широкие исследования, посвященные аналитическому контролю состава и структуры альгиновой кислоты (АК), добываемой из различных видов растительного сырья. Значительное место в проводящихся работах, занимает изучение физико-химических свойств разнообразных водных систем, в состав которых входит АК, реологии их растворов. Учитывая, наиболее реализуемые пути использования АК, осуществлен значительный комплекс работ по созданию новых технологий в области пищевой индустрии, производства гигиенических и косметических средств с участием АК. Наиболее интересными направлениями возможного использования в практических целях АК, являются медицина и фармацевтика. Это обусловлено особенностью структуры макромолекул АК, имеющих значительную концентрацию высокоактивных функционалов — карбоксиллов, лабильность межзвеньевых гликозидных связей, характерную реакционную способность гидроксильных групп. Это сочетается с высокой гидрофильностью и совместимостью гликана с компонентами живого организма. В резуль-

тате ряда проведенных биохимических и медико-биологических исследований установлена специфическая активность АК, солей на их основе, как лекарственных средств. Молекулы АК, представляющие собой гидрофильные макроанионы, могут быть использованы в качестве матриц для создания различных фармацевтических средств с пролонгацией их действия в живом организме. Особое значение в комплексе биохимических свойств АК приобретает возможность создания на их основе стимуляторов иммунитета животных организмов и человека путем регулирования плотности и знака заряда на макроцепях, с образованием аналогов АК с ионогенными структурами типа анионитов, катионитов или амфолитов различного вида. Рядом проведенных в области иммунохимии исследований показано, что водорастворимые макроионы могут проявлять себя в качестве мощных стимуляторов иммунитета, интенсификаторов действия вакцин на живой организм [12]. Представляет значительный интерес изучение возможности использования малотоксичных водорастворимых макроионов, на основе природных гликанов, в качестве акцепторов канцерогенов и канцерогенбелковых ассоциатов (эндо- и экзо-типа) [13]. Практическое применение фармацевтических средств такого типа позволяет расширить и повысить эффективность профилактических мероприятий против заболеваний в зонах усиленного онкологического риска.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ

Существующие в настоящее время способы выделения полиуронидов из морских водорослей в основных деталях построены на методе Стенфорда. Фитогликан обычно выделяют из растительного сырья в виде натриевой соли. Для этого высушенный и измельченный природный материал экстрагируют 0,2 N серной кислотой, а затем 1 % раствором соды в течение 10-12 часов. Образовавшуюся смесь фильтруют через пористые бумажные или керамические фильтры; фильтрат содержит альгинат натрия. Полимерную соль осаждают водорастворимым органическим растворителем (спирт). Осадок промывают спиртом, эфиром и сушат при 30-40°C. Выход альгината Na по отношению к сухой массе водорослей составляет обычно 25-30 %. В зависимости от вида растительного материала, отличающегося концентрацией альгиновой кислоты, варьируется режим фильтрования содового экстракта. Основной регулировочный параметр — степень разбавления этого экстракта водой. Подбираются также условия седиментации Na-аль-

гината. В большинстве случаев альгинаты получают более или менее окрашенными в коричневый цвет из-за адсорбции полимерных фенольных соединений. Белый альгинат может быть получен из водорослей вида *Laminaria digitata*. В ряде случаев Na-альгинат, полученный по описанному методу, может быть загрязнен гликанами, содержащими ксилозу, фукозу, различные уроновые кислоты и сульфатные группы [5, 14].

В последние годы, предложен ряд усовершенствований способов выделения и очистки природных полиуронидов указанного типа. Разработана высокоэкономичная и приемлемая для крупнотонажного промышленного производства технология получения альгиновой кислоты и фукостерина. Способ основан на замачивании бурых морских водорослей (*Lessonia* и др.) в водных растворах минеральных кислот (HCl, H₂SO₄ и др.) с последующим промыванием их водой, высушиванием и экстракцией CH₂Cl₂ или другими органическими растворителями [15].

В целях оптимизации технологии получения альгината Na, предложен и исследован процесс сушки полимерной соли на фторопластовых пластинках при 333-363°K и толщине слоя 150-600 × 10⁻⁶ м. [16]. Альгинаты натрия и кальция порошкового типа, получают путем диспергирования коры растений до размера частиц ≥ 300 меш., окислением образовавшегося материала (Na-гипохлоридом, K-хлоратом, H₂O₂) при pH = 7. Окисленный порошок обрабатывают минеральной кислотой для осаждения геля фибриллярной альгиновой кислоты. Полимер нейтрализуют NaOH или CaCO₃ в среде органического растворителя (CH₃OH). Этот способ обеспечивает высокий выход целевого продукта, не требует нагрева и фильтрации [17]. Исследования показали, что определенные виды беломорских водорослей *Laminaria saccharina* отличаются высоким содержанием альгиновой кислоты, ламинарина. Усовершенствована технология выделения Na-солей полиуронидов, полисахаридного комплекса, маннита [18]. Модифицирована технология получения альгината Na из бурых водорослей типа фукусовых, произрастающих в приморье Дальнего Востока. Показана целесообразность их использования в качестве сырья для производства альгинатов с возможностью увеличения выхода полимеров, с молекулярной массой около 100 тыс. ед. и повышенной вязкостью 0,2%-ных растворов, предложен метод уменьшения окраски продукта [19].

Разработан экономичный способ получения альгинатов Na и Ca из морских водорослей Тихоокеанского побережья, позволяющий улучшить качество

целевых продуктов и сократить расход пресной воды в технологическом процессе. Сырье замачивают в морской воде и последовательно обрабатывают формалином и HCl (растворы в морской воде). Промывку и содовую экстракцию ведут также с применением морской воды при 70-90°C. Экстракт подвергают очистке, проводят осаждение солей и сушку [20]. Проведено исследование влияния условий деионизации системы, а также процесса лиофильной сушки и длительной экстракции на вязкость $[\eta]$ и молекулярную массу альгината, выделяемого из бурых водорослей. С увеличением продолжительности экстракции показатель вязкости проходит через максимум [21]. Альгинат натрия в виде гомогенного геля, имеющий плотную консистенцию может быть получен из смеси Na, K-солей полиуронида с сульфатом кальция. Для ускорения процесса добавляют воду и вводят 0,002-0,1 % полифосфорной кислоты [22]. Опубликован обзор, посвященный рассмотрению технологий получения гликанов в том числе полиуронидов, из разных видов водорослей, на современных отечественных и зарубежных производствах [23].

СТРУКТУРА, АНАЛИЗ

Опубликовано значительное количество работ направленных на изучение строения альгиновых кислот и совершенствование связанных с этим аналитических методов. Достаточно эффективным, оказалось использование, для этих целей хроматографических способов и методик, связанных с измерением физических величин водосодержащих полиуронидов. Изучались особенности химического строения альгинатов с точки зрения моносахаридного состава макроцепей и последовательности разнородных звеньев в их структуре.

Показана зависимость реологических свойств гелей от состава и строения полимерных звеньев. Для определения соотношения остатков D-маннурановой, и D-гулурановой кислот использована избирательная активность фермента бактериального происхождения: маннуронан-С-5-эпимеразы, под действием которого происходит преобразование остатков маннурановой кислоты в остатки гулурановой кислоты в составе полимерных цепей. Обогащение макромолекул такого характера приводит к повышению способности полимера к гелеобразованию [24]. Предложен достаточно удобный метод, определения соотношения остатков маннурановой и гулурановой кислот в фитогликанах с применением поляриметрического метода. В этом случае использована разница в вели-

чинах углов оптического вращения $[\alpha]_D^{20}$ бруциновых солей маннурановой и гулурановой кислот. Для опытов готовили 0,5-1% растворы модельных смесей бруциновых солей. Измерения проводили через полтора часа на поляриметре Perkin-Elmer 141 (толщина слоя 10 см). Концентрации рассчитывали по формулам:

$C_{II}(\%) = 5[\alpha]_D^{20} + 112,5$; $C_I(\%) = 100 - C_{II}$,
где C_{II} - концентрация гулурановой кислоты; C_I - концентрация маннурановой кислоты [25].

Для изучения структуры межзвеньевых связей в макроцепях полиуронидов, выделенных из бурых водорослей (*L. brasiliensis*), после восстановления карбоксильных групп были использованы методы газовой хроматографии, масс-спектрологии, ^{13}C -ЯМР. Результаты указывают на присутствие в структуре гликана: 1 → 4 связанных β-D-маннуранопиранозных и α-D-гулуранопиранозных остатков в соотношении 1,2: 1. Путем гидролиза полимера в растворе щавелевой кислоты (100°C, 20 часов) и количественного анализа образовавшихся продуктов, установлено, что в структуре полиуронида имеются гомополимерные блоки β-D-маннуронаты со степенью полимеризации до 26 и α-L-гулуранаты со степенью полимеризации до 20, примесь в структуре других урановых кислот менее 2 %. Данные эксперимента показывают на преимущественно протекающий гидролиз гликозидных связей между различными урановыми кислотами [26]. Изучен молекулярный состав пяти видов альгинатов натрия. Установлено соотношение D-маннурановая / L-гулурановая кислота от 0,45 до 5,25. Исследовано влияние этого соотношения на свойства водных растворов гликанов. Зависимость величины M_{cp} и молекулярного состава не выявлена. По данным измерения растворов полиуронидов установлена зависимость параметра межмолекулярного взаимодействия в концентрированных растворах от состава гликанов [27]. Методы жидкостной хроматографии использованы для установления структурных особенностей одной из разновидностей альгинатов. Показано, что для макромолекул гликана характерно наличие двух гомомолекулярных блоков, состоящих из остатков D-маннурановой кислоты (степень полимеризации до 10) и L-гулурановой (степень полимеризации до 15). В структуре макроцепей присутствует третий блок, включающий практически те же пропорции мономеров со случайным распределением [28]. Изучены различные современные методы определения M_{cp} альгината натрия. Предложена методика седиментации-диффузии для установления абсолютного значения среднечисловой молекулярной массы. При определении коэффициента поступатель-

ной диффузии использован метод фотонной корреляции спектроскопии. Разбавленные растворы полиуронида в воде и 0,2 М NaCl анализировали методами вискозиметрии лазерного светорассеяния, скорости седиментации в ультрацентрифуге; диапазон M_{cr} (1,4-6,4)·10⁵ [29]. Для установления молекулярного состава альгината использованы методы гель-проникающей хроматографии и ядерно-магнитного резонанса. Исследовались три образца гликанов после их предварительного гидролиза. Установлен диапазон соотношения D-маннуриновой кислоты / L-гулуриновой кислоты от 0,47 до 1,18. Оба использованных метода дали близкие результаты [30]. Предложены различные аналитические методы определения содержания альгиновых кислот, альгинатов в сырье, растворах. Описан количественный метод оценки содержания альгинатов в водных растворах на основе способности гликанов к комплексообразованию с полигексаметиленбигуанидиний хлоридом (ПГМБГ). Метод состоит в смешивании водных растворов гликана и ПГМБГ (избыток), с последующим центрифугированием смеси. Образующийся комплекс, выделяется в виде осадка, в присутствии 2,5 % ацетата натрия, оптимальная концентрация альгината 0,1-0,5 мг/мл. Остаточное количество ПГМБГ определяли по поглощению в области 235 нм (УФ-спектроскопия) [31]. Аналитическое исследование концентрации карбоксильных групп при возможном совместном присутствии в структуре полимера сульфатных функционалов может быть осуществлено методом кондуктометрического титрования при использовании NaOH. Полученные данные согласуются с результатами ИК-спектрального анализа [32]. На примерах нескольких видов бурых водорослей (Эгейское море) продемонстрирован способ определения альгината натрия в сырье, дана характеристика его M_{cr} и зависимости вязкости от концентрации и температуры растворов [33]. Опубликован обзор успехов в области изучения особенностей химического строения альгинатов. Рассмотрен механизм процесса гелеобразования в присутствии поливалентных ионов, а также зависимость характера гелеобразования от вида альгината и источника ионов кальция [34].

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Изучение физико-химических свойств альгинатов, в основном, проводилось, в отношении различных водосодержащих систем. Опубликованы материалы исследования реологических свойств структурированных растворов и гелей в системе: альгинат на-

трия—глюконат кальция—вода при варьировании концентраций компонентов и температуры.

Проводилось измерение вязкости, упругости и ползучести гелей. Изучена реология водных растворов альгината натрия с концентрацией до 15 % с использованием ротационной вискозиметрии в интервале градиентов скорости сдвига 0,2-1312 см⁻¹ в области температур 25-60°C [35]. Разработаны принципы сенсорной оценки вязкости водных растворов альгината натрия в широком интервале концентраций в пределах сохранения свойств растворов, как ньютоновских жидкостей. Параллельно проведена инструментальная оценка вязкости растворов [36]. Продемонстрировано согласование расчетов реологических постоянных водных растворов альгината натрия при 10-50°C с данными экспериментального определения вязкости этих систем [37]. Проведена аналитическая оценка реологических свойств различных альгинатов. Альгинат натрия выделяли экстракцией 3 %-ным раствором Na₂CO₃, порошкообразного продукта, полученного после обработки водорослей 0,5 % HCl, водой и высушиванием при 50°C. Альгинат кальция получали взаимодействием содового экстракта с CaCl₂. Очистку этого альгината проводили обработкой NaOCl. Альгиновую кислоту получали обработкой Ca-альгината 5 % раствором HCl. Очищенный альгинат натрия выделяли после взаимодействия альгиновой кислоты с раствором NaOH [38]. Исследована зависимость вязкости водных растворов альгинатов различных технических марок в области концентраций 0,5-4,5 % и 0,1-1 %. При этом использованы: ротационный вискозиметр с соосными цилиндрами (градиент сдвига 3-1312 см⁻¹) и капиллярный вискозиметр при градиенте сдвига 30-80000 см⁻¹ [39]. Изучены релаксационные напряжения при малых деформациях растяжения для образцов альгинатных гелей, приготовленных в растворах CaCl₂; SrCl₂; BaCl₂; Pb(NO₃)₂ с концентрацией 0,03-1 моль/л [40]. Представлены обзоры по изучению свойств и применению альгинатных гелей [41, 42].

МОДИФИКАЦИЯ ПОЛИУРОНИДОВ

Разнообразные пути утилизации растительных полиуронидов, во многих случаях, вызывают необходимость предварительной или целевой коррекции физических и химических свойств гликанов. Необходимым является варьирование растворимостью альгиновых кислот, способностью к гелеобразованию, плотностью гелей. В определенных случаях, в частности, для химической активации этих гликанов

осуществляют введение в структуру звеньев полимера дополнительных функциональных групп. Важное значение имеет разработка способов простого и управляемого процесса, изменение степени полимеризации альгиновых кислот, альгинатов, путем расщепления макроцепей по гликозидным центрам. Снижение M_{cp} позволяет изменять физические свойства полимера (вязкость водных растворов и их концентрации), биохимические свойства (совместимость с животными биологическими системами).

Предложены различные способы деполимеризации альгинатов натрия путем физического, химического, биохимического воздействия на полимер. Проведено исследование скорости термодеполимеризации полиуронидов, отличающихся соотношением остатков маннурановой и гулурановой кислот (1,9 и 0,7). Процесс проводился в диапазоне температур 140-180°C и длительностью до 35 мин. Установлена зависимость степени деполимеризации от молярного состава гликана. Образцы полимеров с высоким содержанием маннурановой кислоты менее термоустойчивы [43]. Патентуется способ получения альгинатов с низким M_{cp} , 10 %-ные растворы которых при 20°C, имеют вязкость 10-1500 спазу, путем контролируемой обработки нативных гликанов в кислой, щелочной, водных средах или с применением ферментов [44]. Биохимический метод эпимеризации альгинатов (обращения звеньев маннурановой кислоты в остатки гулурановой кислоты) заключается в воздействии на обрабатываемый гликан бактериального фермента маннуронан- C_5 -эпимеразы [24].

Для создания на основе альгиновых кислот, соединений с направленной биоактивностью, разработан способ сульфатирования этих гликанов. Синтез сульфэфиров проводится обработкой полимера в системе хлорсульфоновая кислота-пиридин. В целях оптимизации технологического процесса сульфатирования использован метод факторного планирования эксперимента. Разработанные математические модели позволяют установить связь между степенью замещения и переменными параметрами режима процесса [45]. В целях получения аналогов альгиновой кислоты, способных растворяться в органических растворителях, разработан способ получения простых и сложных эфиров с Si-содержащими заместителями. Первая стадия процесса приготовления суспензии исходного полимера (5 %) в ацетоне с дальнейшей обработкой формамидом при 50°C (1 час). Подготовленный таким образом полимер подвергают воздействию гексаметилдисилазана при 60°C (2 часа) в зависимости от условий проведения процесса наблюдается замещение части или всех OH- и COOH-групп в звеньях полимера. В результате образуются триметилсилильные аналоги аль-

гиновой кислоты, растворимые в этилен- и пропиленгликоле [46]. Предложен способ получения сложных эфиров альгиновой кислоты с алканолами и ароматическими спиртами. Сущность данного способа заключается в предварительном получении четвертичных алкиламмонийных солей альгиновой кислоты и последующего алкилирования, арилирования этих солей соответствующими галоген-аналогами углеводородов. Алкиламмонийную соль получают из 0,6-0,7 %-ного раствора альгината натрия, путем элюирования через колонку (Дауэкс-50) при 4°C. Безводную тетрабутиламмонийную соль альгиновой кислоты выделяют методом сублимационной сушки. Для варианта синтеза этилового эфира: 10 г полимерной соли в 400 мл диметилсульфоксида смешивают при 25°C с 0,4 г этилйодида, выдерживают смесь при 30°C (12 часов). Этиловый эфир альгиновой кислоты (6 г) выделяют путем осаждения и экстракции органическими растворителями [47]. Имеется сообщение о разработке методики синтеза и свойствах пропиленгликолевых эфиров альгиновой кислоты [48]. Практическое значение разнообразных солей на основе альгиновой кислоты, обусловило исследования, по изучению принципов их образования, особенностей, свойств. Рассмотрены условия связывания пиперазина (иона пиперазиния) с карбоксильной группой альгиновой кислоты в бессолевой среде в присутствии хлоридов. Для этой цели использован способ равновесного диализа, метод титриметрии. Установлено, что при pH = 5 и молярном соотношении: пиперазин / альгиновая кислота = 0,525 COOH-группы полимера исчерпывающе (94,9 %) связаны дикатионами пиперазиния [49]. Описан пример синтеза биологически активных полимерных солей альгиновой кислоты с лекарственными действующими началами основного характера (клофелин) [50].

Превращение солевых структур на основе альгиновой кислоты, в целях формирования гелеобразных, пористых материалов для фармацевтических целей изучались на примерах совмещения комбинаций альгината натрия и кальция [51, 52]. Продолжены исследования, по изучению способов формирования и свойств водорастворимых волокон на основе альгинатов кальция [53].

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИУРОНИДОВ

ЛЕКАРСТВА

Водорослевые полисахариды, содержащие фрагменты альгиновых кислот, их солей, а также промышленно выделенные и очищенные альгинаты используются в медицинской практике, в качестве раноза-

живляющих активных начал, противоязвенных средств, гепатозащитных препаратов. Гликаны, в качестве субстратов применяются в составе различных лекарственных форм внутреннего и наружного действия.

Опубликованы патентные данные об успешных клинических испытаниях высокоэффективных ранозаживляющих препаратов наружного действия. В качестве активных ингредиентов, в их состав входят: гликозиламиногликаны (гепарин, гепарин-сульфат), альгинаты, коллаген или его ферментативный гидролизат. Лекарственная форма представляет собой водную суспензию полимеров с концентрацией 250-350 мг/мл. Препарат не вызывает вредных побочных явлений [54]. Предложено ранозаживляющее фармацевтическое средство, в состав которого входят в виде активных компонентов (%): альгинат натрия (2-14) и антисептик (0,1-6). Полимерный компонент и антисептик осаждаются на раневую поверхность из водно-глицеринового раствора хлористым кальцием, в результате этого полимерный препарат фиксируется на ране [55]. Для применения в хирургической практике, предложено использование материала, на основе волокон из структурно-модифицированного альгината натрия. Изучено взаимодействие лекарств с водными растворами альгината. Показано, что применение упомянутых материалов способствует процессу неосложненного заживления ран [56]. Экспериментально изучено противоязвенное, гепатозащитное, гипополипидемическое действие препаратов на основе полисахаридных материалов, извлеченных из водорослей Белого моря *Laminaria saccharina*, *L. digitata*. Для опытов были использованы: альгинат натрия, ламинарин, полисахаридный комплекс и маннит. Показано, что полученные полимерные смеси обладают малой токсичностью, проявляя указанную медико-биологическую активность. Найдено, что альгинат натрия является слабительным средством [18]. Изучены лечебные свойства полисахаридного комплекса – зостерина, входящего в состав морских водорослей. Препарат применялся в составе лечебных напитков. Установлен положительный эффект лекарства в условиях язвенного процесса гастродуоденальной слизистой в клиническом эксперименте [57]. Карбоксилсодержащие полисахариды, входящие в состав разновидности пектина - зостерина, были испытаны в условиях клиники, в качестве добавок к лечебному питанию, больных хроническим гепатитом. Применение этого химио-терапевтического метода привело к стабилизации патологического процесса в печени у 74 % больных. Пектиноподобный

полисахарид - зостерин, отличающийся высокими сорбционными свойствами проявляет антиаллергенную активность, что было использовано, при лечении детской пищевой аллергии [58].

Осуществлена серия исследований, посвященная изучению природных полиуронидов, в качестве регуляторов коагулирующей способности крови. Предложен способ получения волокнистого материала, обладающего кровоостанавливающими свойствами, для его изготовления, натуральные или синтетические волокна (хлопок, нейлон, полиэфиры и др.) пропитывают растворами альгиновой кислоты или ее солей, содержащими также, в качестве добавок, антисептики, болеутоляющие препараты и другие [59]. Разработаны способы получения и проведены клинические испытания материалов, содержащих альгиновую кислоту и ее соли, обладающих свойствами гемостатиков [60].

Соли альгиновой кислоты, которые используются в качестве пролонгирующего компонента в препаратах для лечения онкологических заболеваний, являются одновременно также, противоязвенным и кровоостанавливающим активным началом [61]. Регулирование антикоагуляционной активности альгиновой кислотой, представляется возможным в результате введения в ее структуру неорганических (сульфатных) кислотных группировок [45]. Соли водорослевых полиуронидов используются как активные компоненты, снижающие побочное действие жаропонижающих, болеутоляющих и других фармацевтических препаратов, на желудочно-кишечный тракт. Одна из предлагаемых лекарственных форм представляет собой водный раствор, содержащий: альгината натрия (мол. масса 160000) – 5 % и ацетилсалициловой кислоты – 2 %; доза – 50 мл/сутки [62].

Гликаны, содержащие в своей структуре карбоксилнесущие звенья, неорганические, кислые группировки проявляют комплекс биохимических свойств, связанных с ингибированием различных вирусных инфекций, регулированием коагулирующих свойств крови, анальгетическим, антипирогинетическим эффектом и др. Проведены исследования, посвященные применению альгинатов в препаратах антацидного действия. Разработан способ приготовления жидких антацидных средств, содержащих в качестве активного ингредиента альгиновую кислоту или ее соли [63]. Лечение воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта успешно осуществляется путем использования порошков, таблеток, суспензий, содержащих альгинат магния и антацидные вещества: $Al(OH)_3$; $Mg(OH)_2$; $MgCO_3$, силикат магния и другие [64, 65].

РАДИОПРОТЕКТОРЫ

Известна способность захватывания или ингибирование всасывания ^{90}Sr в желудочно-кишечном тракте животных и человека альгинатом натрия. Была также выявлена зависимость ингибирующего эффекта этого гликана, от соотношения в альгинате Na количества звеньев D-маннуриновой и L-гулуриновой кислоты, а также наличия свободных карбоксилатов в гулуриновом фрагменте макромолекулы [66]. Показана возможность более пятикратного снижения эффекта накопления ^{90}Sr в животных объектах при использовании радиопротектора-альгината натрия. Доказано, что с повышением концентрации гулуринов в гликане значительно уменьшается всасывание и депонирование ^{90}Sr в костной ткани животных. Параллельно показано, что практически все виды этого полиуронида в незначительной степени влияют на абсорбцию ионов кальция [67]. Отмечено, что единичное назначение альгината натрия, обогащенного L-гулуриновой кислотой (в виде полимера) уменьшает задержку ^{90}Sr в организме человека в четыре раза [68].

Важнейшей информацией полученной в результате изучения воздействия обогащенных α -L-гулурином альгинатов, является доказательство влияния этих гликанов на метаболизм депонированных в костном скелете радиоизотопов Sr, Ba, Ra и др. При опытах с лабораторными животными установлено специфическое связывание радионуклидов альгинатом (при пероральном назначении) в условиях их выделения из крови на поверхность слизистой кишечника с последующим выведением из организма. Обеднение слизистой радионуклидами и вызывает дальнейший отток их из циркулирующей крови [66]. Аналогичное исследование с достаточной убедительностью показало способность деградированного альгината натрия ускорять элиминацию радионуклида ^{226}Ra из организма животных. По данным современных исследований, альгиновая кислота – метаболит бурых водорослей – гетерогликан, состоящий из фрагментов с чередующимися маннуриновой и гулуриновой кислотами и блоков, содержащих остатки только маннуриновой или гулуриновой кислот. Учитывая наибольшую стабильность в отношении гидролитического действия блоков из остатков гулуриновой кислоты, оказалось возможным разработать метод обогащения альгиновой кислоты L-гулурином [69, 70, 71].

Способ обогащения заключается в частичном гидролизе альгинатов с помощью органических или минеральных кислот и последующем фракционирова-

нии на основе меньшей растворимости полигулурионида в кислой среде. В процессе может быть использован также способ фракционирования на основе различного сродства гулуринов к ионам Mg^{2+} и K^+ . При содержании в альгинате 54-69 % гулуриновой кислоты, всасывается до 25 % назначенной дозы радионуклида, при содержании 97 % гулурионида только 16 %. Введение таких препаратов альгината натрия позволяет добиться снижения депонированного в костях ^{90}Sr на 80 %. Эффективность действия антидота повышается при сочетании перорального и внутривенного метода назначения альгината животным. Опыты показывают, что с уменьшением содержания гулурионида, растет захват альгинатом ионов кальция, и понижается захват ионов стронция. Степень полимеризации в диапазоне от 6 до 178 мало влияет на захват изотопов. Практическое отсутствие токсического действия альгината натрия и АК на животных [72, 73] позволило провести исследования эффективности альгинатов в качестве антидотов на человеческом организме [72, 73]. Использование препаратов, обогащенных гулурином до 97 % дает эффект ингибирования всасывания радионуклидов до 87 %. При использовании препарата в виде 10 % раствора в молоке из расчета 9 г в день достигается шестикратное снижение всасывания радионуклида [68].

Проведены исследования, направленные на разработку терапии отравления радиоизотопами человеческого организма с применением модифицированных альгинатов. Установлено, что альгинаты имеют тенденцию сохраняться в кишечнике даже после прекращения их интенсивного применения (9-20 г/день, в течение 7 дней) и оказывают действие через 1-2 недели. Пероральный способ является наиболее характерным для введения альгинатов в экспериментальной и клинической медицине в виде водных, водно-спиртовых, молочных растворов. Отечественные исследования показали значительную эффективность альгинатов производства Архангельского водорослевого комбината, выделяемых из ламинариевых водорослей Белого моря. Соотношение маннуринов / гулуринов – 1 : 24. Приводятся данные об ингибировании всасывания радионуклида из желудочно-кишечного тракта человека на 89,7 % при дозе 20 г альгината кальция [74]. На животных объектах проведено исследование сорбционной активности альгиновой кислоты, выделенной из ламинарии японской, а также образцов соответствующих растительных систем в отношении радионуклида ^{85}Sr . Полисахарид или растительное сырье используется в виде добавок к пищевым продуктам. Показано резкое повышение

сорбционной активности (пятикратное) при использовании альгиновой кислоты в сравнении с такими же дозами, содержащимися в исходном природном сырье [75].

Соли альгиновой кислоты, учитывая их практическую нетоксичность в отношении человека, используются как корректирующие добавки в пищевые продукты. Предложено применение альгината кальция в хлебопечении. Определена эффективная дозировка его добавок, которая гарантирует, при регулярном потреблении продукта равномерное распределение сорбента радионуклидов в желудке и кишечнике. Это обеспечивает стабильное связывание радионуклидов, не допуская дальнейшего всасывания их в желудочно-кишечном тракте [76]. Альгинат натрия использован также, в качестве защитного сорбента радионуклидов в составе добавок к мясным продуктам типа консервов и колбас, совместно с серусодержащими аминокислотами и комплексом витаминов. Исследование показало достаточно высокую эффективность этих материалов в составе пищи предотвращающих накопление радиоактивных частиц в организме человека [77].

ИММУНОСТИМУЛЯТОРЫ

Известны модуляторы иммунитета, полученные органическим синтезом (левамизол, дибазол), вещества микробного происхождения - мурамил-дипептид, полисахариды (продгозан, пирогенал), органо-препараты (тималин), витамины (А, С, группа В), очищенные иммуноглобулины (интерферон) и др. Для профилактики и лечения иммунодефицитов используются также растительные препараты (женьшень, эхинацея, элеутерококк) [78].

Учитывая острый недостаток синтетических фармацевтических препаратов при их высокой стоимости и наличия в ряде случаев вредного побочного действия на организм, актуальным является расширение работ по созданию и биологическому скринингу фитопрепаратов и продуктов их аналогового превращения. Представлены материалы по систематизации информационных данных, связанных с иммуностимулирующим действием гликанов высших растений [79]. В настоящее время, известно около 20 высших растений, содержащих иммуностимулирующие полисахариды. Многие из этих препаратов применяются для профилактики и лечения инфекционных заболеваний. Ряд известных в настоящее время растительных гликанов представляет собой неспецифические иммуностимуляторы. Например, синтез интерферо-

на усиливают гликаны из женьшеня, повышая устойчивость организма к кишечной палочке и возбудителям туберкулеза. Исследования гликопротеидов показали, что иммунная активность определяется углеводной, а не белковой частью молекулы. Иммуностимулирующие полиозы, в ряде случаев, относятся к геммицеллюлозам структуры клеточных стенок, или резервным гликанам. Наиболее характерны в этом отношении, молекулы геммицеллюлоз со степенью полимеризации 50-200, состоящие из остатков β -D-ксилозы (связь 1 \rightarrow 4), в комбинации со значительным количеством арабинозы, галактозы, уроновых кислот.

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что полианионные структуры гликанов со звеньями – остатками альдуриновых кислот, являются более сильными иммуностимуляторами, чем нейтральные полисахариды [80]. Характерные свойства поликатионов и полианионов в процессе стимуляции иммунных реакций являются общими как для натуральных, так и для синтетических полимеров [81, 12].

Ниже представлены примеры иммуностимулирующих растительных полиоз в составе которых, имеется значительное количество звеньев остатков уроновых кислот.

Результаты этого исследования указывают на целесообразность поиска эффективных стимуляторов иммунитета в различных классах растительных полисахаридов, главным образом, из числа гликанов, имеющих в своей структуре значительную концентрацию звеньев или фрагменты блоков, несущих карбоксильные (солевые) группы или химически связанные остатки неорганических кислот (сульфаты). В этом отношении, менее исследованными являются кислые полисахариды, содержащиеся в морских водорослях (урониды, сульфаты нейтральных гетерогликанов).

Проведено сравнительное исследование новых иммуностимуляторов-аналогов бактериального полисахарида декстрана (градекс – I) гликана, экстрагированного из растений (вегетан – II) и синтетического гетероцепного полимера (полиоксидоний – III). Вещества I и III преимущественно активируют функции макрофагов, усиливают G0-G1a переход у покоящихся лимфоцитных клеток. Процесс активации клетки локализован в плазматической мембране и связан с увеличением ее проницаемости для ионов кальция. Препарат II увеличивает проницаемость клеточной мембраны для ионов, оказывает прямое активирующее влияние на β -лимфоциты, индуцируя их полноценные деления (G0, G1, S; G2, M) и созре-

Таблица 1. Строение и иммуностимулирующие свойства полисахаридов некоторых высших растений

Название растения	Определенные полисахариды	Имуностимулирующие свойства
1	2	3
<i>Anelica acutiloba</i> (дудник остролопастный)	Гетерогликанопроteid (56 % -уроновых кислот, 45 % -гексозы, 4 % белка)	Противоопухолевая активность (активация макрофагов и киллеров), усиление интерфероногенеза. Иммуностимуляция за счет активации β -лимфоцитов и Т-лимфоцитов-хелперов
<i>Panax ginseng</i> (жень-шень)	Водорастворимые и щелочнорастворимые гликаны (пектины и полиозы со звеньями: Ara, Rha, Xyl, CalA, Glc (корни))	Активация функций ядерных лейкоцитов человека, индуцирование синтеза интерферона, усиление поглотительной реакции фагов, положительный эффект при аллергии замедленного типа
<i>Chamomilla recutita</i> (ромашка ободранная)	Гетерогликаны в составе которого фрагменты: 4-О-метилглюкуроноксилен- α -D-галактоуронаны	Усиление фагоцитоза, сильное противовоспалительное действие
<i>Eupatorium perfoliatum</i> (посконник пронзеннолистный)	Гетерогликаны, в составе которого значительная концентрация фракции 4-О-метилглюкуроноксилана	Усиление фагоцитоза, повышение резистентности организма противовирусных, в частности, гриппозной, инфекций.
<i>Solidago virgaurea</i> (золотарник обыкновенный)	Гетерогликан, содержащий фракции пектовой кислоты и остатки Gal, Glc, Ara, Xyl, Rha.	Высокая противоопухолевая активность; противовоспалительное действие.
<i>Viscum album</i> (омела белая)	Арабиногалактан, содержащий значительное количество структурных элементов кислотного типа	Повышение хемотоксического индекса клеток гранулоцитов, иммуноглобулинов, задержка роста метастаз опухолей

вание в Ig-секретирующие клетки. П также стимулирует созревание цитотоксических Т-лимфоцитов в слабоантигенной MLC. При введении каждого из трех исследованных иммуностимуляторов *in vivo* наблюдается значительная активация реакции иммунной системы. Происходит стимулирование образования антител в ответ на гетерологические антигены, индуцируется выработка интерферонов. Наблюдалось значительное повышение резистентности организма к микробным и вирусным инфекциям различной этиологии [82].

Разработан способ получения иммуностимулирующих препаратов, активные ингредиенты которых, представляют собой полисахариды, содержащие в структуре макроцепей звенья галактурановой кислоты, рамнозы арабинозы, галактозы, фрагменты гликана. Полисахариды этого типа извлекаются путем экстрагирования горячей водой из растительной системы (*Glycyrrhiza glabra*) (солодка; Афганистан); полученный водный раствор гликанов осаждают спиртом. Активную фракцию гликанов выделяют путем экстрагирования осадка уксусной кислотой [83]. Проведено исследование иммунопотенцирующих свойств фитогетерогликана – зоостерина. Этот полисахарид входит в клеточную структуру растительных систем

Losteraceae. Полимерные цепи зоостерина являются катионоактивными макромолекулами, содержащими звенья ангидрогалактурановой кислоты. В отличие от известных пектинов, в составе макромолекул присутствуют фрагменты апиогалактуранана, что обуславливает его устойчивость к действию внеклеточных пектинов. В опытах *in vitro* зоостерин стимулировал бласттрансформацию спленоцитов, при индексе стимуляции 3,8 %. Проведены эксперименты с использованием местного ^3H -зоостерина при пероральном введении. Обнаружено распределение стимулятора в иммунокомпетентных органах – тимусе и селезенке. Разновидность иммуностимуляции может быть отнесена к типу “oral enhancement” (усиление иммунного ответа) [84]. Опубликованы результаты биохимического исследования растительного гетерогликана, выделенного из *Glycyrrhiza glabra glandulifera* (столоны). Структурные особенности охарактеризованного гетерогликана (глицирризан), отличающегося определенной концентрацией карбоксильных групп, заключается в том, что его макроцепи состоят из звеньев D-галактурановой и D-глюкуроновой кислот, L-арабинозы, D-галактозы, L-рамнозы в соотношении 2 : 1 : 22 : 10 : 1. Основная структурная единица глицирризана – L-арабино- β -3,6-галактан. Изучено иммунологическое действие этой

разновидности гликана на ретикулоэндотелиальную систему, имеющее значительный активирующий индекс [85].

В связи с разработкой способов химиотерапевтического лечения синдромов иммунодефицита (СПИД), проведено исследование и запатентованы его результаты в отношении биохимического эффекта природного полисахарида (мол. масса порядка 10^3 - $3,10^6$ D), выделенного путем экстракции из морских водорослей классов *Phaeophyceae*, *Phodophyceae*, *Chlorophyceae* и др. Представлена физико-химическая характеристика и данные спектрального анализа оригинальных гликанов. Установлена противовирусная активность полисахаридов, в том числе, при подавлении ВИЧ-инфекции. Препарат в лечебных целях используется в составе порошков, гранул, капсул, таблеток, растворов, сиропов, суспензий или других пероральных или парентеральных форм. Новое фармацевтическое средство обладает низкой токсичностью и оказывает лечебное действие при суточных дозах 0,1-1000 мг/кг [86]. Опубликованы патентные данные о новом препарате, обладающем способностью подавлять действие вирусов иммунодефицита. Активное действующее начало препарата – растительный гликан, извлекаемый из морских водорослей экстракцией. Этот полисахарид в виде белого аморфного, сильно гигроскопичного порошкообразного продукта, имеет M_{cp} в диапазоне 15000-80000. Охарактеризован структурный состав макромолекул гликана: галактозамина – 13-20, глюкуроновой кислоты 11-19, фукозы 10-27, сульфатных функционалов 27-38,5 (вес. %). Таким образом, характерной особенностью использовавшегося в медико-биологических целях полисахарида, является наличие в его структуре комбинаций слабо диссоциирующих (карбоксилы) и сильно диссоциирующих анионоактивных группировок. Лекарственный препарат используется в виде таблеток, капсул, порошков, гранулятов, растворов для инъекций [88].

Противовирусная активность солей альгиновой кислоты достаточно высока также в условиях обработки растительных объектов. Для уничтожения вирусов табачной и огуречной мозаики предложено использовать: Na, K – или NH_4 -альгинаты, со степенью нейтрализации 10-30 %, в виде 1 % водных растворов, имеющих вязкость 2-10 спуз при 20°C [89].

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ

В последнее десятилетие значительно расширились пути использования природных полиуронидов, их солевых и других аналогов, в качестве вспомога-

тельных веществ при создании различных видов лекарственных форм. Эта разновидность гликанов используется достаточно эффективно при изготовлении пероральных препаратов. В условиях формирования таблеток, гранул полиальдуронаты играют роль безвредных наполнителей, регуляторов распадаемости, защитных покрытий для пролонгации высвобождения лекарства. Важной ролью природных полимерных кислот и их растворимых солей, является повышение гидрофильности слаборастворимых лекарственных начал. Предложены разнообразные методы регулирования высвобождения активных лекарственных компонентов из соответствующих форм, где для депонирования применены твердые пористые, или гелеобразные матрицы на основе полиуронидов. На ряде примеров показана возможность использования метода контролируемого действия лекарства в организме путем получения его солевых форм на основе химически модифицированных полиуронидов. Предложен способ получения быстро распадающихся таблеток, содержащих лекарственные вещества (аспирин, витамин С и др.) и таблеточную матрицу, включающую до 15 % альгиновой кислоты, до 70 % карбонатов щелочных металлов. При контакте таких таблеток с водой выделяется CO_2 , что способствует разрушению таблетки [90]. Проведено исследование по изучению возможности использования гранул, изготовленных на основе альгината кальция для депонирования лекарств с последующим их замедленным высвобождением. В качестве модельного медикамента использовался сульфометоксазол. Установлено, что высвобождение лекарства контролируется за счет дефектов в поверхности гранул и не связано с диффузией [91]. В целях повышения биодоступности, гидрофильности лекарства, предложено изготавливать лекарственную форму, в состав которой входит модифицированный альгинат, выделенный из морских водорослей или микроорганизмов. В качестве матриц, удерживающих лекарство в пероральной форме, предложены липосомальные гели на основе альгиновой кислоты или ее солей. В полученный гель вводят значительные количества гидрофильных (хлорпромазин) или гидрофобных (парацетамол) лекарственных веществ (до 98 %). В состав лекарственной формы могут также входить наполнители или разбавители, соответственно для приготовления твердой или жидкой разновидности пероральной формы [92]. Опубликованы материалы по ряду разработок, связанных с использованием пористых матриц на основе альгинатов для депонирования лекарств. Один из предложенных способов, для повышения плотно-

сти при сохранении высокой водоудерживающей способности матрицы предусматривает предварительное замораживание смеси 1-4 % раствора с 1-4 % раствором соли кальция (3; 1-8; 1). После размораживания и сушки полученного геля, в режиме механического отжима, материал используется в качестве компонента лекарственных форм в пищевой промышленности, химико-технологических процессах. Образцы матриц имеют: плотность – 0,9 г/см³, прочность – 500 кг/см², водопоглощение – 100 % [51]. Предложен способ иммобилизации фермента – террилитина, на полимерной матрице – покрытии пористого типа, изготовленной из альгиновой кислоты или ее модификата. При использовании в процессе водорастворимого карбодиимида наблюдается снижение активности фермента на 50 %. Биоактивное пористое покрытие предназначено для лечения гнойных ран [93].

Проведено исследование кинетики высвобождения ацетанилида из структуры полимерной матрицы, состоящей на 70 % из равных долей Са- и Na-альгината. В состав матрицы входит также лактоза и авицель. Установлено, что процесс подчиняется уравнению нулевого порядка [94]. Изучался способ регулирования скорости, высвобождения лекарственных веществ из матрицы на основе Na-альгината, путем создания на поверхности этих матриц покрытия из пространственно-структурированного Са-альгината. Процесс моделировали с применением, в качестве лекарственных начал: теофиллина и салицилата натрия. Полимерную пленку на поверхности матрицы создавали путем обработки водными или спиртовыми растворами СаСl₂ [52]. Изучались методы депонирования лекарств на полимерном носителе – альгиновой кислоте, путем образования соответствующих солевых структур. Полимерные соли клофелина 2-(2,6-дихлорфениламино)-имидазолина получали путем обменной реакции между функциональными группами полимер (СОО-) и лекарства (NH<). Полученный препарат сохраняет гипотензивные свойства низкомолекулярного лекарства. Методом равновесного диализа изучена зависимость солеобразования от концентрации лекарственного начала и динамика высвобождения его из полимерной соли [50]. Имеются немногочисленные примеры, создания лекарственных форм пролонгированного действия при использовании сложных эфиров альгиновой кислоты с алифатическими или ароматическими спиртами. Полученные полимераналоги используются в качестве компонентов лекарственных форм пролонгированного действия перорального, парентерального, перектального типов: антибиотиков, сульфона-

мидов, алкалоидов, белковых и стероидных гормонов, сердечных гликозидов [47].

Проанализированы данные об особенностях применения альгинатов и их растворов в пищевой промышленности [97]. Приведены исторические данные об использовании альгиновой кислоты, ее Na, K, NH₄, Са-солей в различных отраслях пищевой индустрии. Осуществлена экспериментальная биохимическая оценка *in vitro* и *in vivo*, связанная с влиянием альгинатов на ингибирование панкреатина, трипсина, хитотрипсина, пепсина. Изучены особенности влияния альгинатов на метаболизм липидов и холестерина в животных объектах.

Косметические препараты, промотирующие кровообращение, смягчающие и увлажняющие кожу, получают путем введения в композицию из водного сульфата кальция, порошковой целлюлозы, талька и др. до 5 % водорастворимого альгината [99]. Создана рецептура препарата с массажными и очищающим действием регулирующего удаление стареющего кератинового слоя и смягчающего кожу. В качестве активного компонента косметическое средство содержит Са-альгинат [100].

Разработка способов синтеза и изучение свойств ионогенных аналогов альгиновой кислоты (ПМК) отличительной особенностью структуры которой является сочетание в макроцепях блоков поли-1,4-D-маннурановой и поли-1,4-L-гулурановой кислот является актуальным направлением проводимых исследований. Использование этой разновидности полиуронидов для синтеза биологически активных полимеров медицинского назначения обусловлено благоприятным комплексом биохимических свойств и доступностью сырья.

Изучались возможности получения 3-хлор-2-гидроксипропиловых и 3,2-эпоксипропиловых сложных эфиров ПМК при использовании в качестве алкилирующего агента эпихлоргидрина (ЭПХ). Применяли полимерную кислоту, подготавливаемую непосредственно перед синтезом при использовании промышленного образца Na—ПМК. 2-3 % водные растворы Na—ПМК обрабатывались 5-8 % водным HCl (20-25°C). Процесс алкилирования проводился на начальном этапе в гетерогенной системе. Изучена зависимость степени замещения образующихся аналогов ПМК от избытка алкилирующего реагента, метода его введения в систему и основных физических параметров процесса. Максимальная степень алкилирования соответствовала конверсии карбоксильных групп, 70 % (5-6-кратный избыток ЭПХ). В качестве катализаторов использовались галогенацетаты в условиях применения кон-

центрацией в расчете на исходную ПМК 0,1 % при 60°C. 3-Хлор-2-гидроксипропилальгиновая кислота (ЭПМК) выделена в виде твердого, пленкообразующего материала, хорошо растворимого в воде; выход 80-85 %. Расчет степени замещения производился по данным содержания хлора. Осуществлен синтез на основе аналога ПМК соответствующей солевой формы гидроксэтиламина. Расчет количества неконвертированных в процессе хлоргидроксипропилирования карбоксилатов проводился по содержанию азота. Установлено наличие в ЭПМК 30-40 % свободных карбоксильных групп. Синтезированы соли гидроксэтиламина на основе ПМК для уточнения концентрации карбоксильных групп в структуре исходного материала. В составе спектров ЭПМК отмечен максимум, определяющий наличие значительной концентрации сложноэфирных группировок, 1730 см⁻¹.

С точки зрения утилизации сырьевых материалов экономически целесообразным является использование для синтеза ЭПМК Na-ПМК - стандартного промышленного продукта и ЭПХ. При этом образуется полимераналог со структурой 3,2-эпоксипропилового сложного эфира ПМК. В оптимальном варианте синтеза водная среда достигает степени конверсии карбоксильных групп в солевой форме не выше 7-9 %; выход 85 %.

Катионизация ПМК производилась путем конденсации ЭПМК с гидроксэтиламинами. Учитывалась возможность образования солей использовавшихся алканоламинов на основе неконвертированных карбоксилатов ЭПМК. Для варианта катионизации ЭПМК без предварительного перевода в солевую форму определение степени замещения целевого аналога производилось с учетом протекающего параллельного солеобразования. Максимальная степень катионизации ЭПМК (0,5) достигается в условиях взаимодействия ЭПМК и моноэтаноламина (МЭА) при соотношении 1 : 1,1-1,5. Образуется твердый полимер, растворимый в воде; выход 65 %. Исследование условий конденсации ЭПМК с диэтаноламином (ДЭА) показало возможность получения водорастворимого N-гидроксиэтил-2-гидроксипропиланалога ПМК со степенью замещения 0,3 и выходом 45 %. Соответствующий тригидроксэтиламиноаналог ПМК получен в условиях ее обработки избытком алканоламина. Полимер выделен в виде твердого водорастворимого продукта с выходом 81 %; степень замещения 0,32. Во всех случаях алканоламинирования образуются соответствующие гидрохлориды.

Исследован путь катионизации ПМК методом ее обработки N-глицидиламином (ЭМАЭ). В процес-

сах синтеза использовались соотношения ПМК с ЭМАЭ^о от 1,0 : 2,5 до 1,0 : 0,5. При избытке ЭМАЭ^о 1,5 моля выделено до 65 % нерастворимой части продуктов катионизации и 30-32 % водорастворимых полимераналогов (общий выход до 98 %), степень замещения достигает 0,7. Установлено, что в водных средах с pH менее 4 растворимость образовавшихся полимераналогов возрастает. Предполагается возможность пространственного структурирования образующейся катионизированной ПМК. ИК-спектры характеризуются наличием максимума 1740 см⁻¹, что свидетельствует о наличии в структуре сложноэфирных группировок.

Изучались условия иммобилизации на структуру ПМК 2-амино-2-дезоксид-глюкозы и ее производных, L-глутаминовой кислоты и D-глюконовой кислоты путем образования химических связей карбоксилатов полимера с амино (амидо) группировками аналогов глюкозы или карбоксилатами указанных кислот через 2-гидроксипропиловый спейсер. Аминогликозидирование ЭПМК производилось 2-амино-2-дезоксид-глюкозой и 2-ацетамидо-2-дезоксид-глюкозой при эквивольном соотношении полимер-глюкозный компонент в водной среде; максимальное количество превращенного полимера – 46-50 % - достигнуто после обработки ЭПМК в течение 4,0-4,5 часов; Степень замещения - 0,3. Синтезированные углеводсодержащие производные ПМК, выделявшиеся после обезвоживания смеси и экстракции спиртами, представляют собой растворимые в воде бесцветные материалы. Присутствие в структуре боковых цепей редуцирующих группировок характеризуется заметной восстанавливающей способностью этих полимеров.

Синтез соответствующего D-глюконата ЭПМК осуществлялся взаимодействием полимера с D-глюконовой кислотой в водной среде в присутствии катализатора при 60-75°C; выход полимерного D-глюконата 50 %. Использование в синтезе ЭПМК со степенью замещения 0,5-0,6 приводило к образованию соответствующего аналога с конверсией сложноэфирных групп полимера до 60 %. Выделенный D-глюконат ЭПМК - твердый пленкообразующий материал. Перспективным является осуществление пути синтеза глюконатов ЭПМК, как результата взаимодействия ПМК или натриевой соли этого полимера с 3-хлор-2-гидроксипропиловым эфиром D-глюконовой кислоты.

Изучено взаимодействие ЭПМК и L-глутаминовой кислоты в водной среде в отсутствие и с использованием катализатора. Эффективным было аминокатионирование ЭПМК при соотношении компонентов

1,0 : 0,5 (избыток полимера). Использование для этой цели ЭПМК со степенью замещения 0,7 приводило к образованию соответствующего глутаминоил-аналога с выходом до 50 % и степенью замещения 0,4. Полимерный L-глутаминат – твердый продукт, растворимый в воде.

Потенциальной возможностью синтеза аналогов ПМК, содержащих аминокислотные боковые цепи, является путь взаимодействия полиуроновой кислоты с ди(3-хлор-2-гидроксипропиловым)эфиром глутаминовой кислоты. В этом случае гарантированно образуется конденсат ПМК и аминокислоты со структурой спейсера 2-гидроксипропилового типа.

Изучались условия взаимодействия ЭПМК с гидразин-, амин-, амидсодержащими соединениями, представляющими собой лекарственные средства противотуберкулезного действия.

Установлена целесообразность химической иммобилизации гидразида изоникотиновой кислоты (ГИНК) на полимере. При взаимодействии NH_2 -группы гидразидного функционала ГИНК с хлор-атомом 3-хлор-2-гидроксипропилзаместителя в структуре ЭПМК происходит образование ковалентной C-N связи. При разработке оптимального способа конденсации ГИНК с ЭПМК использовались соответствующие аналоги ПМК со степенью замещения от 0,6 до 0,9, варьировались соотношения компонентов конденсации при избытке ГИНК. Процесс проводили в водной среде с концентрацией полимера 2-3 % при 70°C в течение 3-5 часов. Установлено, что степень изоникотинилгидразидирования ЭПМК в основном зависит от концентрации сложноэфирных группировок в структуре ЭПМК при степени замещения 0,8. Массовая концентрация иммобилизованного на ЭПМК лекарственного соединения достигает 30 %; выход конденсата 70 %. При использовании ЭПМК со степенью замещения 0,6 – концентрация связанного ГИНК в структуре полимераналога около 20 %. Соответствующие полимерные формы ГИНК выделяли из реакционной системы после ее обезвоживания. Полимерные формы ГИНК представляют собой твердые порошкообразные продукты, хорошо растворимые в воде. ИК-спектры новых лекарственных полимераналогов имеют в своем составе полосы поглощения: 1020-1100 см^{-1} – C-O и C-C – связи циклических углеводных структур звеньев ПМК; 1213 см^{-1} – деформационные колебания СН-групп пиридинового цикла ГИНК. 1413-1445 см^{-1} – валентные колебания C-O карбоксиллов ПМК и ГИНК.

Установлена возможность синтеза полимерных форм Na-ПАСК с условием химического связывания

лекарственного вещества при взаимодействии ЭПМК с Na-ПАСК. Достигаемая при этом степень замещения ЭПМК не превышает 0,4. Выход аналогов после очистки от побочных окрашенных продуктов составляет около 35 %. Полимерная форма, содержащая химически связанный Na-ПАСК, представляет собой твердый, хорошо растворимый в воде при 20°C продукт. Аналитические данные определяют структуру полимераналога, который образуется при конвертировании C-Cl функционала полимера и аминогруппы Na-ПАСК с образованием вторичной аминной группировки в солевой форме (гидрохлорид).

Возможность химической иммобилизации амида 2-пиразанкарбоновой кислоты (тизамида) обосновывалась реакционной способностью амидной группировки в условиях взаимодействия с хлорметилоксираном и ЭПМК. Эффективен способ взаимодействия ЭПМК и тизамида в водной среде. При использовании ЭПМК со степенью замещения 0,6 и соотношении реагентов 1 : 0,6 (избыток полимера); выход полимера 75 %; степень замещения 0,2. Полученный препарат растворим в воде. По аналитическим данным фиксация тизамида на полимерной матрице осуществляется в результате взаимодействия C-Cl фрагмента боковой цепи полимера с амидной группой лекарственного вещества [101].

Биологические исследования новых полимерных форм ГИНК, Na-ПАСК и тизамида проводились во Всероссийском НИИ бруцеллеза и туберкулеза животных. Основной целью проведения биологических испытаний было установление противотуберкулезной активности полученных препаратов, их острой токсичности и пролонгации действующего начала в животном организме. Оценка биологической активности производилась в сравнении с низкомолекулярным лекарственным аналогом, с учетом его массовой концентрации в структуре полимера. Испытания бактериостатического действия проводили при использовании в качестве тест-культуры стандартного вирулентного штамма микобактерий туберкулеза H_{37}RV . Применяли микробиологический метод двукратных разведений на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена. Исследуемый препарат – полимерную форму ГИНК вводили в питательную среду в вариантах концентраций: 3,6; 1,8; 0,9; 0,22; 0,11; 0,05; 0,025; 0,012 (мкг/мл). Перечисленные концентрации выражают массовое содержание химически связанного ГИНК в исследуемом полимере. Данные испытаний свидетельствуют, что полученная форма ГИНК сохраняет бактериостатическую активность 0,22 мкг/мл. Конденсат ЭПМК с Na-ПАСК вводили в питательную среду в концентрациях, расчи-

танных на содержание лекарственного начала в вариантах: 1000, 750, 500, 250, 100, 50 (мкг/мл). Полимерная форма Na-ПАСК сохраняет бактериостатическую активность при концентрации 100 мкг/мл. Полимерное производное тизамида на основе ЭПМК испытывали в концентрациях, рассчитанных по содержанию лекарства, химически связанного с полимером: 3,0; 2,0; 1,0; 0,8; 0,5; 0,3; 0,2; 0,1 мкг/мл. Полученная полимерная форма пиразинамида сохраняет бактериостатическую активность при концентрации не ниже 0,5 мкг/мл.

В качестве биологических объектов для определения острой токсичности аналогов ЭПМК на основе ГИНК, Na-ПАСК и тизамида были использованы

белые беспородные мыши, с живым весом 28-32 г. Водные растворы полимеров вводились путем инъекций внутривенно. Обработка результатов эксперимента по определению острой токсичности (LD_{50}) проводилась с использованием метода пробит-анализа Личфильда-Уилкоксона. Данные испытаний представлены в таблице 2.

Подвергнутые испытанию на острую токсичность новые полимерные формы гидразида изоникотиновой кислоты (ГИНК), натриевой соли парааминосалициловой кислоты (Na-ПАСК), амида 2-пиразинкарбоновой кислоты (тизамида) являются малотоксичными веществами противотуберкулезного действия.

Таблица 2. Токсичность полимерных форм противотуберкулезных препаратов

№ п/п	Препарат	Число мышей	LD_{50} (мг/кг) M при $p=0,05$	Максимально переносимая доза	Конверсия, %
1	N-3(2-гидроксипропил)-полиманнурида гидразид изоникотиновой кислоты	60	4400 (4120÷468)	3060	80
2	N-3(2-гидроксипропил)-полиманнурида Na-парааминосалициловая кислота	55	8400 (8190÷8612)	6620	40
3	N-3(2-гидроксипропил)-полиманнурида амид-2-пиразинкарбоновой кислоты	58	4630 (4400÷4920)	3110	20

ЛИТЕРАТУРА

- Kertesz Z.I. / The Pectic Substances, Inter science Publishers. Inc. New York. 1951.
- Whistler R.L. a. o. / Polysaccharide Chemistry. Academic Press. Inc. N. Y. 1953. Chart 7.
- McCready R.M. a. o. / Econ Bot. 1954. V. 8. P. 29.
- Bender W.A. // in "Industrial Gums". R.L. Whistler and J.W. Bemiller. Eds. Academic Press Inc. N. Y. № 4. 1959.
- Методы химии углеводов (под ред. Кочеткова Н.И.) М. 1967.
- O'Neil A.N., Steward D.X.R. // Can. J. Chem. 1956. V. 34. P. 1700. Clingmann A.L., Nunn J.R., Stephen A.M. // J. Chem. Soc. 1957. P. 197.
- Painter T.J. // Can. J. Chem. 1960. V. 38. P. 112.
- Fisher F.G., Dorfel H.Z. // Physiol. Chem. 1955. V. 302. P. 186.
- Haug A. // Acta Chem. Scand. 1959. V. 13. P. 1250.
- Annan W.D. a. o. // J. Chem. Soc. 1965. P. 220, 885. Nelson T.E. a. o. // Can. J. Chem. 1963. V. 41. P. 1671.
- Schweiger R.G. // J. Org. Chem. 1962. V. 27. P. 4270.
- Петров Р.В. и др. / Иммуногенетика и искусственные антигены. М. 1983.

- Лапенко В.Л., Сливкин А.И., Сироткина Г.Г. // Тез. докл. 9 Всесоюзн. научн. симпозиума "Синтетические полимеры медицинского назначения". Звенигород. 1991. С. 51.
- Larsen B., Hang A. / Proc. Intern. Seaweed Sump. 4 th. Biarritz. 1963. P. 1952.
- Заявка 60-1379 Япония, МКИ С07 J 9/00, С08В 37/04 от 24.01.85. / Касахира Фумио а. о.
- Соколова В.М. // Процессы упр. машины и аппараты пищевой технологии. Л. 1985. С. 106-108.
- Заявка 60-186503 Япония, МКИ С08 В 37/4, С08 L 5/04 от 24.09.85. / Асахи Кэйсукэ а. о.
- Василенко Ю.К. и др. / Фармация. 1992. Т. 41. № 6. С. 60-63.
- Шмелькова Л.П. и др. // Промышленные водоросли и их использование. М. 1987. С. 139-145, 166.
- А. с. СССР 135165, МКИ А 23 С 1/04 опубл. в Б. И. 1987. № 42. / Шмелькова Л.П. и др.
- Phillips G.O. // Food. Hydrocolloids. 1987. V. 1. № 3. P. 207-213.
- Заявка 6445401 Япония, МКИ С08 В 37/04, А23 1/04 от 17.02.89. / Ути Осаму.
- Комиссарова Н.Ю. // Обзор информ. сер. обработка рыбы и морепродуктов. Всесоюзн. Н. И. и

- проектно-конструкт. ин. экон. инф. и автоматич. систем упр. рыб. хозяйства. 1989. № 4. С. 145.
24. Srjar – Bracr G. // Gums. and stab. Food Ind. V. 2 / Proc. 2 nd. Int. Cont. Clywd. Juli. 1983. Oxford e. a. 1984. P. 523-528.
25. Siddigni I.R. // Carbohyd. Res. 1978. V. 67. № 1. P. 289-293.
26. Albert James a. o. // Phytochemistry. 1991. V. 30. № 5. P. 1707.
27. Karin Katsuji a. o. // J. Tokyo Univ. Fish. 1992. V. 79. № 2. P. 189.
28. Heyraud A. a. o. // Food Hydrocolloids. 1990. V. 4. № 1. P. 59-68.
29. Wedlock David J. a. o. // Int. Biol. Macromol. 1986. V. 8. № 1. P. 57-61.
30. Bouffar–Roupe C., Heyraud A. // Food Hydrocolloids. 1987. V. 1. № 5-6. P. 559.
31. Brandshaw Jan J. a. o. // Brit. Polym. J. 1984. V. 16. № 2. P. 95.
32. Arahane Tooru a. o. // Polym. Bull. 1990. V. 24. № 4. P. 437. Англ. РЖХ. 4С50. 1991.
33. Peker Ismail. // Chim acta Furc. 1984. V. 12. № 3. P. 499.
34. Sime W.J. // Gums. and stab. Food. Ind. V. 2. Proc. 2 nd. Int. Cont. Clywd. July. 1983. Oxford. e. a. 1984. P. 177.
35. Легонькова О.А. и др. // Водорастворимые полимеры и их применение. 3 Всес. конфер. Тез. докл. Иркутск. 1987. С. 145-153.
36. Casper L.M. a. o. // J. Food. Sei. 1987. V. 52. № 2. P. 445-447.
37. Peker Ismail. // Fen. bilim leri derg Marmara Univ. 1986. № 3. P. 181-183.
38. Peker Ismail. // Eczacilik derg. Marmara Univ. 1986. V. 2. № 1. P. 44-55.
39. Hardolov J. a. o. // Melliand. Textilber. 1988. V. 69. № 12. P. 906-1000.
40. Xonese Masaratsu a. o. // Bull. Chem. Soc. Jap. 1978. V. 61. № 6. P. 1857.
41. Iric Shinyi a. o. // Био индасутори - Bio Industry. 1990. V. 7. № 11. P. 731-741. Япон. Место хранения ГПНТБ РФ
42. Nara K. // Sekyuhun Kore, Food. Ind. 1988. V. 31. № 6. P. 76-85.
43. Oates C.G., Ledward D.A. // Food Hydrocolloids. 1990. V. 4. № 3. P. 215-220.
44. Заявка 2225422, Япония. МКИ А61 К 47/ 36 от 07.09.90. / Одапири Масахи.
45. Батура Л.И. и др. // М. 1979, 22 с. пл. библиогр., 18 назв. (рукопись деп. в ОНИИТЭХим. г. Черкассы 14 дек. 1979. № 3243/79 Деп.).
46. Заявка 60-206 801 Япония, МКИ С08 В 37/04 от 18.10.85. / Касавара Фумис а. о.
47. Пат. 5147861 США, МКИ А61 К 9/70, 31/215 от 15.09.92.
48. Valle Francesco della. // Food Market and Technol. 1991. V. 5. № 2. P. 24-26.
49. Kametani Fujio a. o. // Chem. and Pharm. Bull. 1990. V. 38. № 10. P. 2623-2626.
50. Мусабеков Н.К. и др. / Молод. конф. по синт. и природн. физиол. активн. соедин., 2-6 окт., 1990; Тез. докл. // АН Арм. ССР Ин-т тонк. орган. химии. Ереван. 1990. С. 39.
51. А. с. 1171414 РФ, МКИ С08 09/00. Оpubл. в Б. И. 1985. № 29. // Вайнерман С.С. и др.
52. Forni F. // Boll. chim. farm. 1990. V. 129. № 4. P. 160-165.
53. Удзумаки Мицутака. // Кобанси, High Polym Jap. 1986. V. 35. № 18. P. 774. Яп. РЖХ. 24Ф49. 1986.
54. Пат. 4745098 США, МКИ А61 К 37/00, А 61 К 31/725 от 17.05.88. / Michaeli Pov. The Regents of the University of California.
55. А.с. 1553134 СССР, МКИ А 61 15/16 от 30.03.90. / Илларионова Е.Л. и др. Л.
56. Егорова Н.В. и др. / 6 Межресп. научн. конф. студ. Вузов СССР // Синтез, исслед. св-в, модифик. и перераб. высокомоп. соединений. Тез докл. Казань. 1991. С. 132.
57. Мирошниченко В.А. и др. // Всес. совещ. “Биол. активные вещества гидробионтов нов. лекарств., лечебно-профилактические техн. препараты”, 23-27 сент., 1991 / Тихоокеан. НИИ рыб. хозяйства и океанографии (ТИНРО). Владивосток. 1991. С. 117-118.
58. Папернова Н.Ю. // Всесоюзн. совещ. “Биол. активные вещества гидробионтов нов. лекарств. лечебно-профилакт. и техн. препараты”, 23-27 сент., 1991 / Тихоокеан. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии (ТИНРО). Владивосток. 1991. С. 118.
59. Заявка 222/620 Великобритания, МКИ А 61 15/03 от 14.02.90. / Squalres Leslie J. a. o. Johnson & Johnson Patient Care Ins.
60. Яснинский Б.Г. и др. // Тез. докл. 8 Всес. научн. симпозиум “Синт. полимеры мед. назначения” / Ин-т нефтехимич. синтеза АН СССР, ин-т орг. химии АН УССР. Киев. 1989. С. 23-24.
61. Заявка 58-152820 Япония, МКИ А 61 К 47/00, А 61 К 31/505 от 10.09. 83./ Дайго Кодзи
62. Заявка 58-152821 Япония, МКИ А 61 К 47/00 от 10.09. 83. / Дайго Кодзи
63. Пат. № 1524740 Великобритания, МКИ А 61 К 31/715, 33/00 от 13.09.78./ Withington Roger.
64. Wilson C.G. a. o. // Int. J. Pharm. Washington.

1986. V. 28. № 2-3. P. 139-143.
65. Пат. 4869902 США, МКИ А 61 К 33/12; 33/10 от 26.09.89. / Buehler John D. А. о.
66. Waldron – Edward D. а. о. // *Strontium Metabolism*. London. 1967. P. 329-341.
67. Harrison G.E. а. о. // *Science*. 1966. V. 152. P. 655-657.
68. Sutton A. а. о. // *Britt. J. Radiol*. 1971. V. 44. P. 567.
69. Haug A., Larsen B. // *International Seaweed Symposium 4 th, Proceedings*. Oxford. 1964. P. 331-343.
70. Haug A., Larsen B. // *Acta chem. scand*. 1966. V. 20. P. 183-190.
71. Haug A., Smirdsrod о. // *Acta chem. scand*. 1970. V. 24. P. 843-854.
72. Patrick G. а. о. // *Int. J. Radiat. Biol*. 1967. V. 12. P. 427-434.
73. Paul T.M. а. о. // *Canad. med. Ass. J*. 1964. V. 91. P. 553-557.
74. Ажгихин И.Г. и др. // *Фармация*. 1998. Т. 37. № 1. С. 77-85.
75. Подкорытова А.В. и др. // *Изв. Тихоокеан. НИИ рыб. х-ва и океанограф*. 1992. Т. 114. С. 146-149, 209.
76. Скорицова А.И. и др. / *Техн. ин-т пищ. пром-сти*. Киев. 1993. / Деп. в ГНТБ Украины.
77. Мицык В.Е. и др. // *Оптимизация эксперимента и сохранение качества товаров*. Киев. торг. экон. ин-т. Киев. 1991. С. 56-58.
78. Гагарина В.М. и др. // *Журн. микробиол*. 1990. № 1. С. 92-96. Schmidt K.H. // *Planta med*. 1989. V. 55. P. 455-457.
79. Моисеева Г.Ф., Беликов В.Г. // *Фармация*. 1992. Т. 41. № 3. С. 79-84.
80. Rachmi Srivastavn а. о. // *Phytochemistry*. 1989. V. 28. № 11. P. 2877-2883.
81. Хаитов Р.М. // *Иммунология*. 1989. № 6. С. 5-10.
82. Хаитов Р.М. и др. // I Рос. научн. конгресс “Человек и лекарство”. М., 12-16 апреля 1992. Тез. / Рос. Фонд “Здоровье человека”. М. 1992. С. 108.
83. Заявка 2300136 Япония, МКИ А 61 К 35/78 от 12.12.90. / Вантабэ Кадзухиро.
84. Лоенко Ю.Н. и др. // Всес. совещ. “Биологич. активные в-ва гидробионтов - нов.-лек., лечебно-профилактик. и технич. препараты”, 23-27 сентября 1991 / Тихоокеан. НИИ рыб. х-ва и океанографии (ТИНРО). Владивосток. 1991. С. 115.
85. Shimizn Woriko // *Chem. and Pharm. Bull*. 1991. V. 39. № 8. P. 2089.
86. Пат. 5089481 США, МКИ А 61 К 31/70, СО8 В 37/00 от 18.02.92. / Muto Shigeaki.
87. Пат. 297166 ГДР, МКИ СО7 Н 1/08, А 61 К 31/715 от 02.01.92. / Hoshino Hiroo.
88. Заявка 2262524 Япония, МКИ А 61 К 35/78, СО8 61/00 от 25.10.90. / Тода Седзо.
89. Заявка № 53-75325 Япония от 04.07.78. / Заявка № 53-75326, Япония, МКИ А 01 9/08 от 4.07.78. / Сагемацу Таитиро и др.
90. Пат. 4414198 США, МКИ А 61 К 9/36 от 8.11.83. / Michaelson Josph.
91. Badwan A.A. а. о. // *Drug. Dev. and Ind. Pharm*. 1985. V. 11. № 2-3. P. 239-256.
92. Заявка 2260080 Великобритания, МКИ А 61 К 9/50, 9/22 от 07.04.93. Hannay Michall
93. Комиссарова А.Л. и др. // Тез. докл. 8 Всес. научн. симп. “Синтетич. полимеры мед. назначения”. Киев. 1989. С. 206-208.
94. Nicholson S.J. а. о. // *J. Pharm. and Pharmacol*. 1990. V. 42. Supp. 1. P. 2.
95. Littlecott G.W. // *Food Technol. Austral*. 1982. V. 34. № 9. P. 412, 414-415, 417-418.
96. Wishinari Katsuyoshi // *Кикан кагаку сосэцу*. 1990. № 8. P. 96-107.
97. Erlund T. // *Molkerei – Zg.: Welt Milch*. 1990. V. 44. № 15. P. 408-410.
98. Martin G. // *Sci alim*. 1986. V. 6. № 4. P. 493-544.
99. Заявка 63-54308 Япония, МКИ 61 К 7/00 от 08.03.88. / К.К. Сигэйдэ.
100. Заявка 63-139108 Япония, МКИ А 61 К 7/00 от 10.06.88. / Мори Кэндзи а. о.
101. Сливкин А.И., Лапенко В.Л. Синтез азотсодержащих аналогов полиуронидов. // *Изв. ВУЗов. Химия и хим.технология*. 1998. Т.41. вып.4. с.108-111.