

УДК 661.728 / 677.494-96.017.2/7

Т. Л. ЮРКШТОВИЧ¹, Н. В. ГОЛУБ¹, Н. К. ЮРКШТОВИЧ¹,
А. С. БЕЛЯЕВ², С. О. СОЛОМЕВИЧ¹, В. А. АЛИНОВСКАЯ¹,
Р. И. КОСТЕРОВА¹, П. М. БЫЧКОВСКИЙ¹, М. Ю. РЕВТОВИЧ³

МИКРОГЕЛИ НА ОСНОВЕ ФОСФАТОВ ПОЛИСАХАРИДОВ: ПОЛУЧЕНИЕ, СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

¹НИИ физико-химических проблем Белорусского государственного университета,
Минск, Беларусь

²Национальная антидопинговая лаборатория, аг. Лесной, Беларусь

³Республиканский научно-практический центр онкологии
и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова, аг. Лесной, Беларусь

Исследованы закономерности реакции этерификации декстрана и крахмала в системах ортофосфорная кислота — оксид фосфора(V) — трибутилфосфат — хлороформ и ортофосфорная кислота — расплав мочевины и выявлены основные факторы, влияющие на эффективность гелеобразования фосфорилированных полисахаридов. Определены функциональный состав, размеры частиц микрогелей, параметры полимерной сетки, показатели кажущихся констант ионизации. В опытах *in vitro* и *in vivo* на моделях саркомы М-1, Йенсена и гепатомы Зайдела проведена оценка противоопухолевой активности микрогелей. Сочетание физико-химических свойств и собственной противоопухолевой активности фосфорилированных полисахаридов определяет перспективность использования их для создания пролонгированных форм цитостатиков.

The regularities of the esterification reaction of dextran and starch in the systems of phosphoric acid — tributyl phosphate — phosphorus oxide(V) and phosphoric acid — urea melt were studied and the main factors influencing the gel fraction yield were revealed. The functional composition, the particles size, parameters of the network structure, indices of ionization constants of the microgels were determined. The antitumor activity of microgels *in vitro* and *in vivo* on models of sarcoma M-1, Jensen and Zaidel hepatoma was evaluated. The combination of physicochemical properties and the antitumor activity of polysaccharide phosphates suggests prospects of using them to create prolonged forms of cytostatics.

Ключевые слова: микрогели; фосфат крахмала; фосфат декстрана; физико-химические свойства; противоопухолевая активность.

Keywords: microgels; starch phosphate; dextran phosphate; physicochemical properties; antitumor activity.

Возрастающий интерес к химии и физикохимии гидрогелей обусловлен непрерывным расширением области их практического применения в качестве имплантантов, носителей биологически активных веществ (БАВ), систем,

используемых для клеточной, тканевой и генной инженерии, материалов для сорбционных и мембранных разделительных устройств, биоаналитических систем и др.

Среди разнообразных областей применения гидрогелей особое внимание исследователей привлекает направление, связанное с разработкой систем адресной доставки БАВ. Актуальность создания таких систем заключается в способности доставлять активные молекулы непосредственно в очаг патологического процесса и в пролонгированном выделении БАВ, что приводит к понижению кратности введения лекарства, уменьшению его токсического воздействия, увеличению терапевтической активности и т. д. Создание систем адресной доставки особенно востребованно в случае противоопухолевых препаратов, токсические проявления которых в ряде случаев не позволяют достигнуть статистически значимого улучшения лечения больных за счет проявления серьезных нежелательных реакций вплоть до летальных исходов.

В настоящее время достигнуты успехи в области создания гидрогелей на основе синтетических и природных полимеров, изучения их функционирования в контакте с биологическими средами [1]. Тем не менее к основным недостаткам синтетических полимеров следует отнести пониженную сорбционную емкость по отношению к гидрофильным низко- и высокомолекулярным БАВ, а также некоторые осложнения, связанные с развитием хронической воспалительной тканевой реакции в ответ на имплантацию [2].

Природные высокомолекулярные гидрогелевые носители БАВ по происхождению подразделяются на белковые, полисахаридные и липидные. Недостатки липосом — их неустойчивость в водных системах, способность агрегировать и распадаться в присутствии веществ основного характера, высокая стоимость и нестойкость при хранении [3]. Для гидрогелей на основе белков существенной проблемой является наличие иммуногенности [2]. Гидрогели на основе модифицированных полисахаридов, например декстрана, крахмала, целлюлозы и других, имеют ряд преимуществ, к которым можно отнести высокую сорбционную емкость, стабильность нативной структуры белков в процессах сорбции и десорбции, а также низкую токсичность, биосовместимость, способность рассасываться в тканях организма без воспалительной реакции, стабильность при хранении [4].

Среди многочисленных гидрогелей на основе модифицированных полисахаридов особое место занимают фосфаты, которые наряду с перечисленными свойствами проявляют способность к комплексообразованию, высокую селективность по отношению к низко- и высокомолекулярным БАВ, обладают иммуностимулирующей и противоопухолевой активностью [5–7]. Гидрогели фосфатов целлюлозы, крахмала и декстрана получены в различных этерифицирующих системах: ортофосфорная кислота — мочевины [8], хлорокись фосфора — пиридин [9], ортофосфорная кислота — оксид фосфора(V) — триэтилфосфат — хлороформ [10], хлорокись фосфора в водной щелочной среде, триметафосфат

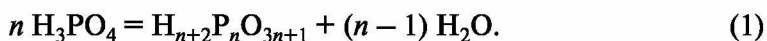
натрия [11; 13]. При этом публикации посвящены в основном исследованию свойств гидрогелей низкозамещенных фосфатов крахмала [11–13], что обусловлено практическим применением их в пищевой промышленности.

Настоящее исследование относится к достаточно новому направлению, связанному с определением возможности использования гидрогелей высокозамещенных фосфатов полисахаридов в качестве систем адресной доставки некоторых противоопухолевых веществ.

В данной работе приводится обзор результатов исследований, проведенных в НИИ ФХП БГУ в лаборатории структурно-химической модификации полисахаридов и лекарственных средств на их основе, посвященных получению микрогелей фосфатов крахмала и декстрана в системах ортофосфорная кислота – оксид фосфора(V) – трибутилфосфат и ортофосфорная кислота – расплав мочевины и изучению их свойств.

ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА МИКРОГЕЛЕЙ ФОСФАТОВ ПОЛИСАХАРИДОВ

Используемые фосфорилирующие смеси многокомпонентны, в них протекают разнообразные процессы, что существенно затрудняет выявление основного компонента, определяющего состав и свойства продукта этерификации. Общей характерной особенностью реакций этерификации полисахаридов в системах ортофосфорная кислота – оксид фосфора(V) – трибутилфосфат (смесь № 1) и ортофосфорная кислота – расплав мочевины (смесь № 2) является образование полифосфорных кислот в соответствии с уравнением реакции



При приготовлении этерифицирующей смеси № 1 необходимо учитывать взаимодействие оксида фосфора(V) с водой, содержащейся в ортофосфорной кислоте ($C = 85,4 \%$), и соответствующее изменение состава фосфорилирующей смеси по сравнению с исходными количествами реагентов. Кроме того, согласно [14; 15] при смешении триалкилфосфатов с оксидом фосфора(V) образуются первичные или вторичные эфиры: $\text{RO}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$, $(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OR})_2$, которые также могут рассматриваться в качестве потенциальных фосфорилирующих агентов.

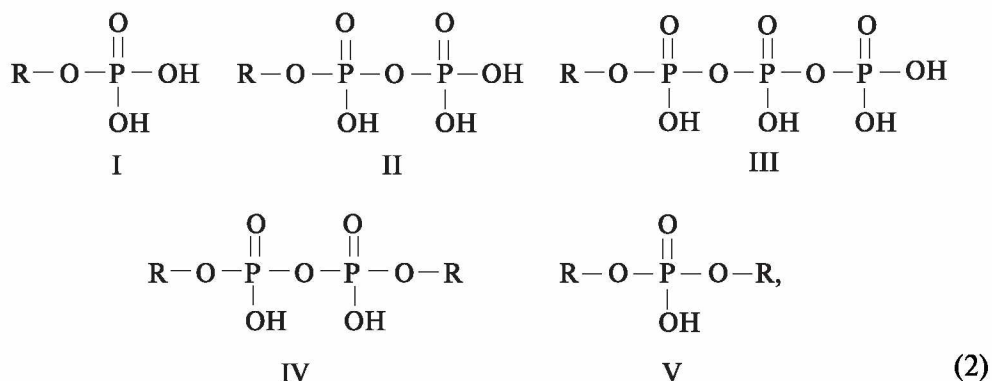
Нами было установлено, что фосфорилирование полисахаридов смесями $(\text{BuO})_3\text{PO}$ и P_2O_5 практически не происходит, т. е. наличие ортофосфорной кислоты в системе является обязательным для протекания реакции этерификации, а предположительно образующиеся эфиры при взаимодействии триалкилфосфатов и оксида фосфора(V) не являются этерифицирующими агентами для полисахаридов.

Изучение методом ЯМР³¹P-спектроскопии фосфорилирующих смесей ортофосфорная кислота – оксид фосфора(V) – трибутилфосфат показало [16],

что основной компонент в них — пирофосфат-ионы, а также присутствует небольшое количество монофосфат-ионов. Химические сдвиги, характерные для полифосфатов со степенью полимеризации больше 2 (–15 м. д. и ниже), в ЯМР³¹P-спектрах фосфорилирующих смесей № 1 отсутствуют.

В отличие от процесса фосфорилирования полисахаридов смесями № 1, осуществляемого при температуре ≤ 40 °С [17], реакцию этерификации смесями ортофосфорной кислоты и мочевины проводят в температурном интервале 110–130 °С [18], при пониженном давлении (4–40 кПа), что, в свою очередь, может влиять на образование поликислот. В ЯМР³¹P-спектре смеси ортофосфорной кислоты и мочевины, предварительно выдержанной при 125 °С, сигналы атомов фосфора проявляются в виде четырех групп: синглеты δ при δ = 3,2 м. д. и δ = – 6,1 м. д. и мультиплеты δ при δ = – (5,0–5,4) м. д. и δ = – (20,1–22,9) м. д. [17], т. е. в состав этерифицирующей смеси входят не только анионы пиро- и трифосфатов, но и соли более высококонденсированных полифосфорных кислот (например, тетрафосфорной кислоты).

Наличие в составе этерифицирующих смесей поликислот или их солей способствует получению фосфатов полисахаридов в виде смеси моно-, ди-, три-, дифосфатов и трифосфатов [19]:



где R — полисахаридный остаток.

Структуры IV и V обуславливают сшивку макромолекул полисахарида, образование пространственной сетки и способность к гелеобразованию.

Влияние условий реакции этерификации полисахаридов в системе ортофосфорная кислота — мочевина на содержание фосфора и выход гель-фракции. В зависимости от условий процесса этерификации полисахаридов смесями ортофосфорной кислоты и мочевины могут быть получены водорастворимые и гелеобразующие, а также малонабухающие твердые продукты, имеющие различный состав и свойства. Основными факторами, определяющими возможность получения гелеобразующих фосфатов полисахаридов при использовании данных смесей для этерификации являются молярные соотношения компонентов, температура и время проведения процесса, а также структура исходного полисахарида.

Таблица 1

Выход гель-фракции и состав смешанных эфиров декстрана (ФКД) и крахмала (ФКК) в зависимости от содержания ортофосфорной кислоты в составе этерифицирующей смеси ($T = 125\text{ }^{\circ}\text{C}$, $t = 4,0\text{ ч}$, $P = 4\text{--}40\text{ кПа}$)

№ п/п	Полисахарид	Молярное соотношение ГПЗ : H_3PO_4 : $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$	Выход гель-фракции, %	C_P , %	C_N , %	CZ_P	CZ_N	Степень набухания, г/г
1	Декстран	1 : 0,3 : 4	0	4,0	1,9	0,25	0,25	в/р
2		1 : 0,4 : 4	68,3	5,2	1,8	0,33	0,26	201,0
3		1 : 0,5 : 4	78,4	6,2	1,9	0,42	0,28	122,0
4		1 : 0,6 : 4	90,1	7,7	1,9	0,54	0,30	80,0
5		1 : 0,8 : 4	94,1	8,7	2,0	0,63	0,32	62,0
6		1 : 1,0 : 4	93,6	9,9	2,0	0,76	0,34	37,0
7		1 : 1,2 : 4	83,7	10,8	3,3	0,91	0,62	48,0
8		1 : 1,5 : 4	61,4	11,4	3,7	1,01	0,71	63,0
9		1 : 2,0 : 4	0	12,2	4,8	1,18	1,02	в/р
10	Крахмал	1 : 0,3 : 4	83,2	5,3	2,0	0,34	0,29	67,0
11		1 : 0,4 : 4	95,8	5,9	1,9	0,39	0,28	46,0
12		1 : 0,6 : 4	97,9	8,2	1,9	0,57	0,30	26,0
13		1 : 0,8 : 4	96,6	10,2	2,0	0,79	0,34	24,0
14		1 : 1,0 : 4	98,5	11,8	2,9	1,02	0,56	15,0

П р и м е ч а н и е. ГПЗ — глюкопиранозное звено полисахарида; C_P , C_N — содержание фосфора и азота в составе продуктов реакции; CZ_P , CZ_N — степень замещения по фосфатным и карбаматным группам; в/р — водорастворимые продукты. Выход продукта реакции этерификации от теоретически возможного составляет 98,7–99,4 %.

При этом равновесие реакции образования полифосфорных кислот в смеси ортофосфорной кислоты и мочевины, определяющее эффективность гелеобразования полисахаридов, можно сместить в ту или иную сторону, изменяя в составе этерифицирующей смеси содержание воды, которое регулируется условиями реакции (давление, температура, продолжительность, влажность исходного полисахарида).

При фиксированных условиях синтеза (температура $125\text{ }^{\circ}\text{C}$, давление 4–40 кПа, время реакции 4 ч) содержание фосфора в модифицированных полисахаридах возрастает с ростом содержания ортофосфорной кислоты в этерифицирующей смеси (табл. 1).

Наличие в ИК-спектрах продуктов реакции полосы поглощения вблизи 1050 см^{-1} (валентные колебания связей C—O—P), плеча с максимумом вбли-

зи 1240 см^{-1} (полоса поглощения группы P=O) непосредственно указывают на присутствие в образцах модифицированных полисахаридов фосфатных групп [8; 20].

Получаемые продукты характеризуются достаточно высоким содержанием связанного азота, а в ИК-спектрах фосфорилированных образцов в отличие от ИК-спектров исходных полисахаридов появляется полоса поглощения в области 1710 см^{-1} , относящаяся к валентным колебаниям карбонильной группы (C=O). Согласно литературным данным этот факт обусловлен тем, что при температуре термообработки, превышающей температуру плавления мочевины, образуется циановая кислота, которая взаимодействует с гидроксильными группами полисахарида с образованием карбаматных групп [20]. По сути, при этерификации полисахаридов смесями ортофосфорной кислоты и мочевины продуктами реакции являются смешанные эфиры декстрана (ФКД) и крахмала (ФКК), содержащие два типа функциональных групп: фосфатные и карбаматные.

Зависимость выхода гель-фракции фосфатов полисахаридов от содержания ортофосфорной кислоты в системе ортофосфорная кислота – мочевина имеет экстремальный характер с максимумом 68,3–98,5 % в интервале мольных соотношений ГПЗ : $\text{H}_3\text{PO}_4 = 1 : (0,4–1,0)$. Снижение выхода гель-фракции при более низкой концентрации ортофосфорной кислоты связано с невысоким содержанием в образцах фосфорсодержащих групп, недостаточным для образования трехмерной сшитой сетки гидрогелей. Напротив, рост количества ортофосфорной кислоты в этерифицирующей смеси приводит к деструкции макромолекул полисахаридов, т. е. выход гель-фракции в данном случае определяется динамическим равновесием между процессами сшивки и деструкции.

В свою очередь, рост содержания мочевины при фиксированной концентрации ортофосфорной кислоты в фосфорилирующей смеси не вызывает существенного изменения функционального состава продуктов реакции, однако достаточно сильно влияет на выход гель-фракции (табл. 2).

Таблица 2

**Выход гель-фракции и свойства смешанных эфиров декстрана (ФКД)
в зависимости от содержания мочевины ($T = 125\text{ }^\circ\text{C}$, $t = 4,0\text{ ч}$, $P = 4–40\text{ кПа}$)**

№ п/п	Молярное соотношение ГПЗ : H_3PO_4 : (NH_2) ₂ CO	Выход гель-фракции, %	C_P , %	C_N , %	C_{3P}	C_{3N}	Степень набухания, г/г
1	1 : 0,6 : 2	69,2	8,3	1,8	0,59	0,29	51,0
2	1 : 0,6 : 3	88,7	7,6	1,9	0,53	0,29	63,0
3	1 : 0,6 : 4	90,1	7,7	1,9	0,54	0,30	80,0
4	1 : 0,6 : 5	90,5	7,6	2,0	0,54	0,32	85,0
5	1 : 0,6 : 6	84,6	8,1	2,1	0,58	0,33	96,0
6	1 : 0,6 : 8	75,8	8,2	2,1	0,59	0,34	108,0

Согласно [14] разложение мочевины на стадии термообработки при синтезе фосфатов полисахаридов приводит к накоплению в объеме полимера аммониевых солей полифосфорных кислот, т. е. мочевины является катализатором процесса фосфорилирования полисахаридов. Следует отметить, что мольное соотношение $\text{H}_3\text{PO}_4 : (\text{NH}_2)_2\text{CO}$, при котором гелеобразование протекает наиболее эффективно, находится в интервале от 1 : 5 до 1 : 8.

Эффективность гелеобразования, а также свойства гидрогелей фосфатов полисахаридов зависят и от структурных особенностей их макромолекул, в частности от типа гликозидных связей, наличия боковых ветвлений, степени полимеризации и т. д. Так, в условиях реакции этерификации, приводящих к формированию трехмерных структур ФКК, образования гидрогелей ФКД не происходит. Для получения гидрогелей ФКД содержание воды в нативном декстране не должно превышать 4–5 %. По-видимому, такое ограничение обусловлено тем, что в случае водорастворимого декстрана процесс кислотного гидролиза в присутствии большого количества воды может превалировать над процессом образования пространственной сетки за счет структур IV и V. Среднемассовая молекулярная масса (M_w) полисахаридов крахмала (амилоза и амилопектин) может достигать нескольких миллионов Да, из-за этого процессы гидролиза не имеют столь критического влияния на формирование гелеобразующих продуктов.

Из табл. 1 видно, что при фиксированных условиях фосфорилирования полисахаридов смесями ортофосфорной кислоты и мочевины реакционная способность декстрана ниже по сравнению с крахмалом. Крахмал представляет собой смесь двух полисахаридов: амилозы и амилопектина, содержание которых зависит от источника сырья для получения крахмала. Содержание амилозы и амилопектина в картофельном крахмале составляет 20–25 и 75–80 % соответственно. Амилоза – линейный полимер, состоящий из 200–1000 звеньев *D*-глюкозы, соединенных между собой аксиальными $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями. Полимерная цепь амилопектина также образована $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями со степенью полимеризации от 6 до 40 тысяч, а разветвление цепи происходит за счет $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидных связей и наблюдается через 20–25 остатков *D*-глюкозы. В отличие от полисахаридов крахмала макромолекулы декстрана построены из остатков *D*-глюкозы, соединенных между собой $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидными связями, а боковые ветви присоединены преимущественно $\alpha(1\rightarrow3)$ -связями и состоят из одного – двух остатков глюкозы, т. е. в макромолекулах декстрана практически отсутствуют первичные гидроксильные группы у C_6 ГПЗ, реакционная способность которых в реакции этерификации выше по сравнению со вторичными гидроксилами у C_2 и C_3 .

Данные по влиянию продолжительности реакции этерификации декстрана ортофосфорной кислотой в расплаве мочевины на образование трехмерной структуры гидрогелей при температуре 125 °С, давлении 4–40 кПа и мольном соотношении ГПЗ : $\text{H}_3\text{PO}_4 : (\text{NH}_2)_2\text{CO} = 1,0 : 0,6 : 4,0$ представлены в табл. 3.

Таблица 3

Зависимость выхода гель-фракции и физико-химических свойств микрогелей на основе смешанных эфиров декстрана (ФКД) от продолжительности синтеза

№ п/п	t , ч	Выход гель-фракции, %	C_p , %	C_N , %	$C_{Зp}$	$C_{ЗN}$	Степень набухания, г/г
1	2,8	0	6,9	1,7	0,47	0,26	в/р
2	3,0	17,9	7,1	1,7	0,49	0,26	196,0
3	3,2	70,3	7,4	1,8	0,51	0,28	152,0
4	3,5	78,4	7,6	1,8	0,53	0,28	111,0
5	3,8	86,1	7,7	1,9	0,54	0,29	96,0
6	4,0	90,1	7,7	1,9	0,54	0,30	80,0
7	4,5	93,5	7,8	1,9	0,55	0,29	62,0
8	5,0	95,9	7,9	1,9	0,56	0,29	43,0
9	6,0	96,7	8,2	1,9	0,59	0,30	38,0
10	8,0	91,2	8,0	2,3	0,58	0,37	20,0

Видно, что рост продолжительности реакции в интервале от 2,8 до 8,0 ч мало влияет на химический состав полученных продуктов, но в значительной степени повышает эффективность гелеобразования. Изучение динамики процесса сшивки свидетельствует о том, что она состоит из двух стадий — быстрого роста выхода гель-фракции до значения 78,4 % в узком интервале изменения времени и медленного увеличения до максимальной от теоретически возможной величины (97 ± 2 %). При этом степень набухания фосфатов полисахаридов монотонно уменьшается, что является косвенным доказательством образования дополнительного количества поперечных связей между макромолекулами.

Температурный режим формирования гидрогелей фосфатов полисахаридов в диапазоне 115–140 °С также оказывает существенное влияние на эффективность гелеобразования (табл. 4).

Таблица 4

Зависимость выхода гель-фракции и свойств микрогелей ФКД от температуры процесса этерификации (ГПЗ : H_3PO_4 : $(NH_2)_2CO = 1,0 : 0,6 : 4,0$; время реакции 4 ч; давление 4–40 кПа)

№ п/п	T , °С	Выход гель-фракции, %	C_p , %	C_N , %	$C_{Зp}$	$C_{ЗN}$	Степень набухания, г/г
1	110	0	5,5	2,1	0,36	0,24	в/р
2	115	11,4	6,4	1,6	0,42	0,23	222,0
3	120	50,6	7,6	1,7	0,52	0,25	187,0

Окончание табл. 4

№ п/п	$T, ^\circ\text{C}$	Выход гель-фракции, %	$C_p, \%$	$C_N, \%$	$C_{Зp}$	$C_{ЗN}$	Степень набухания, г/г
4	125	90,1	7,7	1,9	0,54	0,30	80,0
5	130	95,9	7,4	2,1	0,52	0,33	45,0
6	135	96,7	7,4	2,2	0,53	0,35	22,0
7	140	94,9	7,4	2,4	0,53	0,38	10,0

Выход гель-фракции более 90 % наблюдается в случае проведения процесса этерификации при температуре выше 125°C . Этот факт обусловлен тем, что при повышении температуры реакции равновесие (1) сдвигается в сторону образования полифосфорных кислот, присутствие которых в реакционной смеси способствует росту содержания в составе фосфата полисахарида диэфиров.

Таким образом, в результате исследования закономерностей процесса фосфорилирования в системе $\text{H}_3\text{PO}_4 - (\text{NH}_2)_2\text{CO}$ определены оптимальные условия получения микрогелей на основе смешанных эфиров крахмала и декстрана, содержащих фосфатные ($C_{Зp}$ 0,33–1,01) и карбаматные ($C_{ЗN}$ 0,23–0,71) группы с высоким выходом гель-фракции (до 96,7 %). При фиксированном составе степень набухания гидрогелей можно варьировать путем увеличения содержания мочевины в составе реакционной смеси, продолжительности реакции и температуры обработки.

Влияние условий реакции этерификации декстрана в системе ортофосфорная кислота – оксид фосфора(V) – трибутилфосфат на содержание фосфора и выход гель-фракции. В отличие от смеси ортофосфорной кислоты и мочевины при этерификации полисахаридов в системах ортофосфорная кислота – оксид фосфора(V) – трибутилфосфат происходит образование только фосфорсодержащих групп, количество которых может зависеть от концентрации каждого из компонентов смеси. Как видно из результатов, представленных в табл. 5, с повышением концентрации ортофосфорной кислоты в смеси до соотношения ГПЗ : $\text{H}_3\text{PO}_4 = 1 : 17,1$ (№ 1–5) при фиксированных количествах Bi_3PO_4 и P_2O_5 происходит рост содержания фосфора до 12,5 % ($C_{Зp} = 0,96$) и выхода гель-фракции фосфата декстрана (ФД) до 82,5 %. Совершенно аналогично влияет на данные показатели образующегося ФД рост концентрации трибутилфосфата в смеси (№ 8–10) при фиксированных содержаниях H_3PO_4 и P_2O_5 . Увеличение концентрации оксида фосфора(V) в смеси в исследованном диапазоне почти не влияет на содержание фосфора и выход гель-фракции ФД (№ 5, 11, 12).

Обращает внимание снижение выхода гель-фракции ФД и содержания в ней фосфора при увеличении мольного соотношения ГПЗ : $\text{H}_3\text{PO}_4 > 17,1$ (№ 5–7). Это может быть обусловлено повышением содержания в системе воды, вносимой с 85 % ортофосфорной кислотой. Оксид фосфора(V) в данных

системах выполняет роль агента, связывающего воду, вносимую в систему с кислотой и образующуюся в результате реакции этерификации. При повышении концентрации H_3PO_4 оставшегося количества P_2O_5 может быть недостаточно для эффективного отвода воды из зоны реагирования, что создает условия для протекания процесса гидролиза макромолекул полисахарида. Кроме того, частичное растворение сравнительно низкомолекулярного декстрана в этерифицирующей смеси и большая гомогенизация реакционной системы приводят к неизбежным потерям высокозамещенного тонкодисперсного образца ФД на стадии его выделения.

Таблица 5

Влияние соотношения компонентов в смеси ортофосфорная кислота — оксид фосфора(V) — трибутилфосфат на свойства и выход гель-фракции продуктов реакции (ФД)

№ п/п	Мольное соотношение $\text{ГПЗ} : \text{Bu}_3\text{PO}_4 : \text{H}_3\text{PO}_4 : \text{P}_2\text{O}_5$	C_P %	$\text{C}_\text{ЗР}$	M_w , кДа (золь-фракции)	Выход гель-фракции, %	Выход продукта от теор. возм., %
1	1 : 4,4 : 0,0 : 9,9	0,5	0,03	—	0	88,6
2	1 : 4,4 : 10,2 : 9,9	4,3	0,26	59,7	0	84,3
3	1 : 4,4 : 13,6 : 9,9	6,2	0,39	53,7	15,8	82,3
5	1 : 4,4 : 17,1 : 9,9	12,5	0,96	53,4	82,5	85,6
6	1 : 4,4 : 19,6 : 9,9	9,9	0,70	38,8	76,3	60,2
7	1 : 4,4 : 22,1 : 9,9	9,6	0,67	21,7	75,3	15,5
8	1 : 5,0 : 17,1 : 9,9	11,1	0,82	65,5	82,5	88,3
9	1 : 3,0 : 17,1 : 9,9	8,2	0,55	57,9	65,8	75,6
10	1 : 1,7 : 17,1 : 9,9	6,8	0,43	37,9	21,1	72,6
11	1 : 4,4 : 17,1 : 12,9	10,9	0,80	—	80,0	90,3
12	1 : 4,4 : 17,1 : 11,5	10,7	0,78	—	81,2	91,0

Примечание. Жидкостной модуль трихлорметан : полисахарид составляет $5,0 \text{ см}^3/\text{г}$; температура реакции 30°C ; время 48 ч; M_w — среднемассовая молекулярная масса макромолекул модифицированного декстрана.

Отмеченное увеличение выхода гель-фракции и содержания фосфора в гелеобразующих ФД с ростом количества трибутилфосфата в этерифицирующей смеси может быть обусловлено следующими причинами. Bu_3PO_4 в данных системах выполняет роль разбавителя ортофосфорной кислоты, уменьшая ее гидролизующее действие на макромолекулы полисахаридов. Нельзя исключить и активирующее действие трибутилфосфата, который, благодаря наличию объемных бутильных радикалов, может улучшать условия проник-

новения этерифицирующего агента внутрь зерна декстрана. Вероятно, дальнейший рост концентрации разбавителя приведет к уменьшению степени этерификации полисахарида, однако такие условия в работе не были достигнуты.

Таблица 6

Зависимость выхода гель-фракции и свойств ФД от продолжительности реакции фосфорилирования при температуре 40 °С

Время реакции, ч	СЗ _Р	С _Р , %	Степень набухания, г/г	M_w , кДа (золь-фракции)	Выход гель-фракции, %
3	0,26	4,3	—	94,1	0
6	0,36	6,2	—	107,2	3,2
12	0,48	7,4	—	107,1	14,3
18	0,76	10,5	48,3	81,5	66,9
24	0,85	11,5	40,7	79,8	75,7
50	1,05	13,5	21,0	57,1	91,5

В табл. 6 и на рис. 1 представлены результаты изучения влияния температуры и времени реагирования на содержание фосфора, выход гель-фракции и некоторые физико-химические свойства получаемых продуктов. Видно, что увеличение времени реагирования при прочих равных условиях приводит к росту содержания фосфора и эффективности гелеобразования, однако при этом уменьшается степень набухания в воде, что равнозначно уменьшению

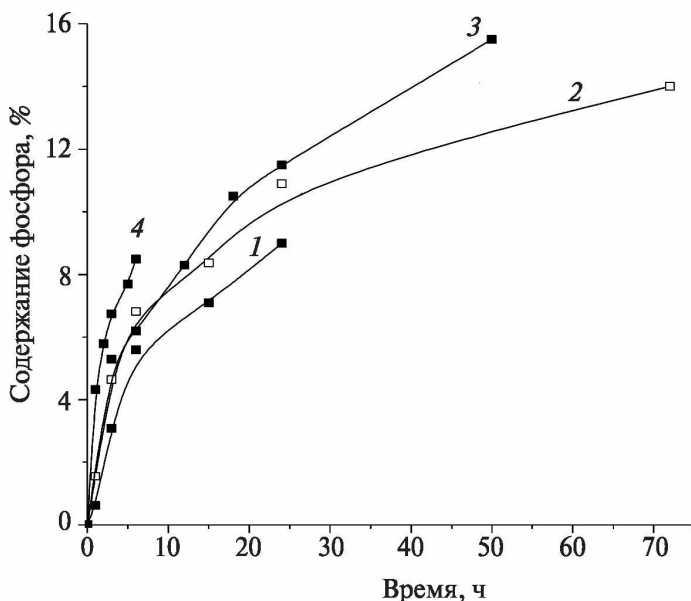


Рис. 1. Кинетические кривые процесса этерификации декстрана фосфорилирующей смесью с мольным соотношением ГПЗ : $(\text{Bu})_3\text{PO}_4$: H_3PO_4 : P_2O_5 = 1,0 : 4,4 : 17,1 : 9,9 при температуре: 1 – 25 °С; 2 – 30 °С; 3 – 40 °С; 4 – 50 °С

водопоглощающей способности. То есть длительное воздействие фосфорилирующей смеси способствует накоплению вторичных фосфорсодержащих групп, обуславливающих сшивку полимерных цепей. Аналогично на свойства образцов ФД влияет увеличение температуры фосфорилирующей смеси, однако проведение процесса этерификации даже при 50 °С нецелесообразно, так как получаемые продукты имеют достаточно интенсивную окраску, свидетельствующую о протекании деструктивных процессов.

Таким образом, в результате исследования закономерностей процесса фосфорилирования в системе $\text{Вu}_3\text{PO}_4 : \text{H}_3\text{PO}_4 : \text{P}_2\text{O}_5$ разработан метод синтеза микрогелей фосфатов декстрана со степенью замещения в интервале 0,75–1,05 с выходом гель-фракции (82,5–91,5 %).

Оценка размеров частиц фосфатов полисахаридов. Получаемые в указанных системах смешанные эфиры ФКК и ФКД, содержащие фосфатные и карбаматные группы, а также ФД представляют собой рентгеноаморфные порошкообразные вещества, быстро набухающие в воде.

Для выявления морфологии и размеров частиц фосфатов полисахаридов использовали методы электронной и оптической микроскопии, лазерной дифракции.

На рис. 2 представлены электронные микрофотографии фосфатов полисахаридов, которые демонстрируют форму и размер частиц. Видно, что в результате обработки крахмала и декстрана гранулы полисахарида разрушаются на неоднородные осколки.

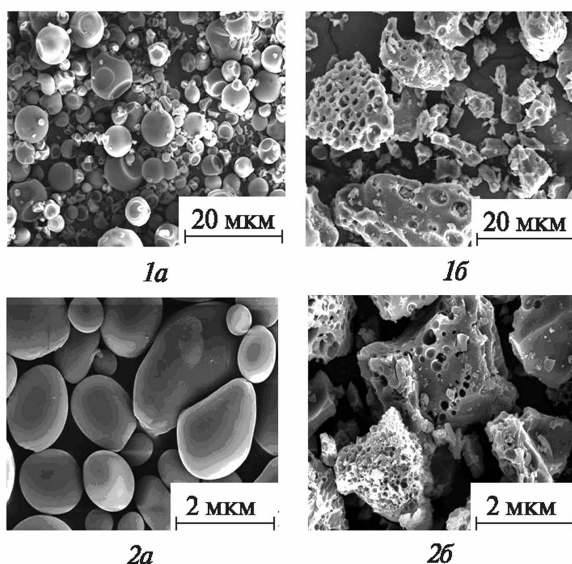


Рис. 2. Электронные микрофотографии исходных декстрана (1а), крахмала (2а) и продуктов их этерификации в смеси ортофосфорная кислота – мочевины:
1б – ФКД ($C_p = 7,7 \%$); 2б – ФКК ($C_p = 8,2 \%$)

Из рис. 3 следует, что после набухания в воде образцы ФКК и ФКД представляют собой прозрачные, не имеющие видимых уплотнений и пустот многогранники неправильной формы и различных размеров.

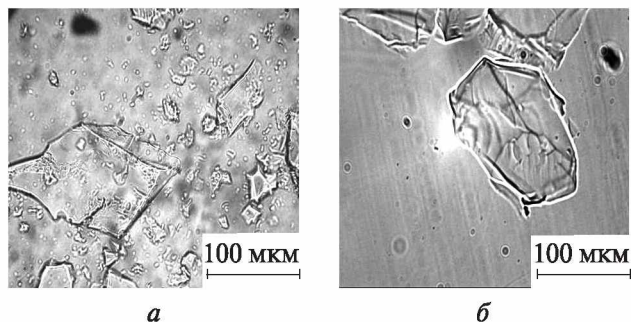


Рис. 3. Оптические микрофотографии микрочастиц после набухания в воде:
а – ФКК ($C_p = 8,2\%$); б – ФКД ($C_p = 7,7\%$)

Это позволяет предположить, что молекулы воды достаточно равномерно распределены по всему объему частиц.

На рис. 4 на примере суспензии фосфата крахмала представлено типичное распределение объемного содержания дисперсной фазы по размерам частиц (эквивалентно массовому распределению). Видно, что все образцы, независимо от условий фосфорилирования, характеризуются асимметричным распределением частиц, при этом объемное содержание микрогелей с размерами > 300 мкм постепенно растет при переходе от ФКК с низкой степенью набухания к гидрогелям с более высокой степенью набухания. Для разруше-

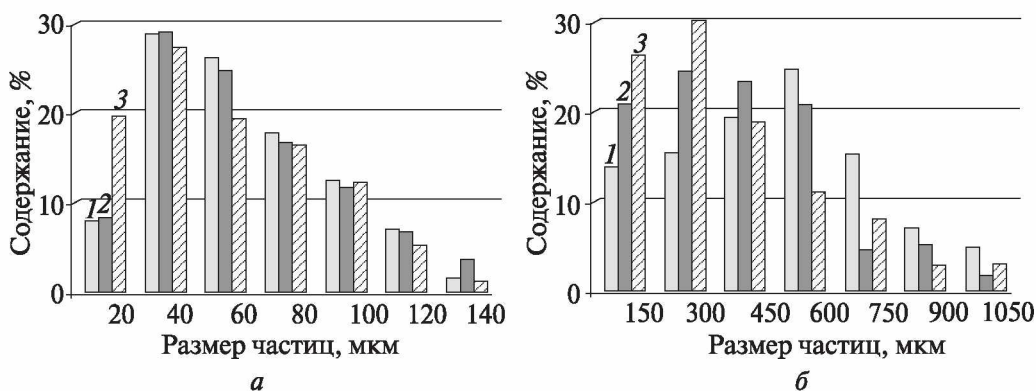


Рис. 4. Профиль распределения микрогелей фосфатов крахмала по размерам частиц:
а – микрогели ФКК после синтеза; б – микрогели ФКК после
УЗ-обработки (мощность 1 Вт/см^2). Концентрация фосфорсодержащих групп
в продуктах этерификации крахмала ортофосфорной кислотой в присутствии
мочевины: 1 – $C_p = 7,4\%$; 2 – $C_p = 10,5\%$; 3 – $C_p = 11,8\%$.

На оси абсцисс указаны верхние границы размеров частиц в каждом классе

ния агрегатов нами была использована УЗ-обработка 0,1 % суспензий микрогелей ФКК при двух режимах мощности ультразвука: 1 и 30 Вт/см². Как показали результаты исследования, средний размер частиц образцов ФКК после УЗ-воздействия значительно уменьшается и составляет для первого режима 50,4–60,1 мкм (рис. 4, б); второго 7,8–13,5 мкм.

Аналогичное распределение содержания дисперсной фазы по размерам частиц получено для образцов ФКД и ФД, отличающихся по составу и степени сшивки полимерной сетки. Найдено, что размеры частиц отмытых от реакционной смеси микрогелей находятся в пределах от 0,05 до 1050 мкм, а максимальное объемное содержание (25–60 %) приходится на долю частиц в интервале 150–450 мкм.

Оценка параметров структуры сетки микрогелей фосфатов полисахаридов. Микрогели представляют собой трехмерную пространственную сетку, образованную из поперечно-сшитых макромолекул (рис. 5).

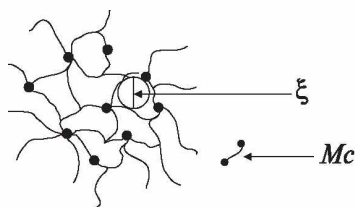


Рис. 5. Схема полимерной сетки микрогелей:
 ξ – средний диаметр пор гидрогелей; M_c – средняя молекулярная масса отрезков макромолекул между узлами сетки

Определение параметров полимерной сетки гидрогелей ФКД и ФКК проведено на основании данных о равновесном набухании их в буферном растворе (ионная сила 0,4), т. е. в условиях, для которых характерно полное исчезновение полиэлектролитных эффектов (рис. 6).

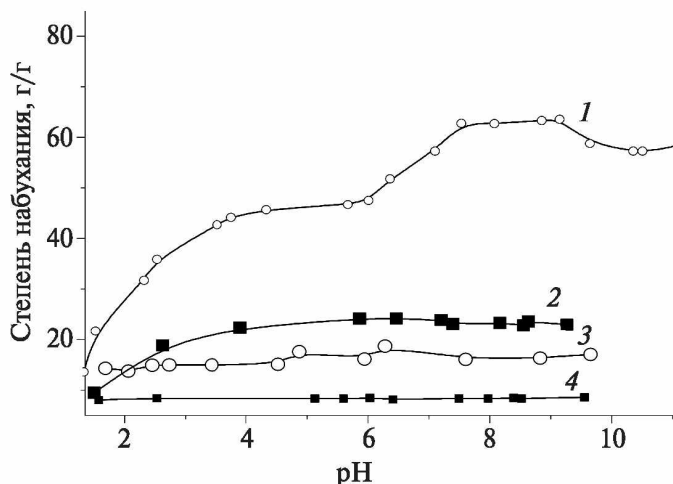


Рис. 6. Зависимость равновесной степени набухания ФКД (1, 3) и ФКК (2, 4) от значений pH в воде (1, 2) и фосфатном буферном растворе (3, 4). Содержание фосфатных групп 10,5 %

Для расчета параметров структуры было использовано уравнение Пеппаса – Меррилла [21]:

$$\frac{1}{M_c} = \frac{2}{M_n} - \frac{(\bar{v}/V_1) [\ln(1 - v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi_1(v_{2,s})^2]}{v_{2,s} [(v_{2,s}/v_{2,r})^{1/3} - 0,5(v_{2,s}/v_{2,r})]}, \quad (3)$$

где M_n – среднечисловая молекулярная масса водорастворимого (несшитого) полимера; $\bar{v}$ – удельный объем полимера; V_1 – мольный объем растворителя; $v_{2,s}$ – объемная доля равновесно набухшего гидрогеля; χ_1 – параметр взаимодействия полимер – растворитель, который для системы декстран – вода равен 0,473 [22]; $v_{2,r}$ – объемная доля гидрогеля в релаксационном состоянии (перед достижением состояния равновесного набухания). Для гидрогелей, синтезированных в безводной среде, $v_{2,r} = 1$ [22].

Величина $v_{2,s}$ определяется из соотношения

$$v_{2,s} = \frac{1}{1 + \frac{\Delta m \rho_2}{\rho_1}}, \quad (4)$$

где ρ_2 и ρ_1 – плотность ненабухшего полимера и растворителя соответственно; Δm – масса поглощенного растворителя на единицу массы полимера.

Размер пор может быть вычислен для гидрогелей на основе модифицированного декстрана согласно уравнению [23]

$$\xi = 0,071 \cdot v_{2,s}^{-1/3} \cdot M_c^{-1/2}. \quad (5)$$

Плотность сшивания (ρ_x) рассчитывается по уравнению [1]

$$\rho_x = \frac{1}{v M_c}. \quad (6)$$

Значения параметров, характеризующих полимерную сетку гидрогелей ФКД и ФКК, приведены в табл. 7.

Таблица 7

Влияние содержания фосфатных групп на параметры трехмерной полимерной сетки микрогелей ФКД и ФКК

№ п/п	Образец	Степень набухания в растворе NaCl, г/г	M_c , г/моль	ξ , нм	$\rho_x \cdot 10^4$, моль/см ³
1	ФКД ($C_p = 4,0\%$)	17,0	25 740	34,2	0,59
2	ФКД ($C_p = 5,2\%$)	14,7	23 900	30,9	0,61
3	ФКД ($C_p = 6,2\%$)	13,6	23 200	30,0	0,64
4	ФКД ($C_p = 7,7\%$)	9,0	19 800	25,0	0,82
5	ФКД ($C_p = 8,7\%$)	8,7	19 710	24,7	0,83
6	ФКК ($C_p = 9,9\%$)	7,8	17 000	—	—

Как следует из приведенных данных, при обработке полисахаридов смесью ортофосфорной кислоты и мочевины в зависимости от условий реакции можно получить как слабосшитые ($M_C = 25\,700\text{--}23\,200$ г/моль), так и более сшитые ($M_C = 10\,210\text{--}17\,000$ г/моль) трехмерные структуры. Величина M_C находится в обратной зависимости от содержания фосфорсодержащих групп в составе декстрана. Это может свидетельствовать о том, что трехмерная сетка стабилизирована в основном за счет химических связей (одноосновных фосфатов).

Поскольку полимерные сетки микрогелей на основе модифицированных полисахаридов неидеальны и содержат большое количество различных дефектов, полученные значения параметров трехмерной сетки имеют относительный характер.

Кислотно-основные свойства микрогелей фосфатов полисахаридов. Микрогели фосфатов полисахаридов можно охарактеризовать как набор фосфорсодержащих групп, удерживаемых вместе трехмерной пространственной сеткой с разной степенью плотности. Расчет кажущихся констант ионизации фосфатных групп микрогелей ФД, ФКД и ФКК проводили по данным потенциометрического титрования (рис. 7).

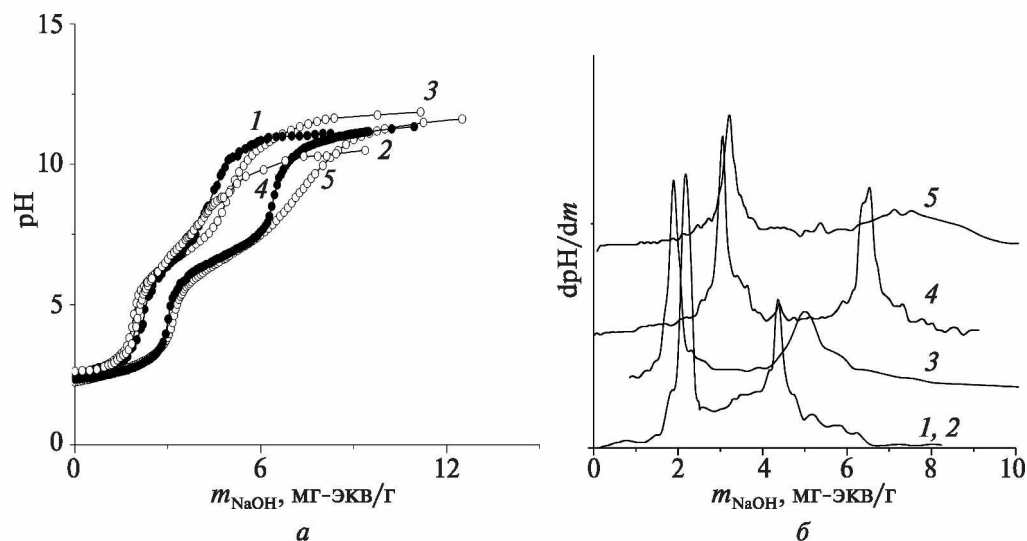


Рис. 7. Интегральные (а) и дифференциальные (б) кривые потенциометрического титрования крахмала (2) и декстрана (1, 3–5), фосфорилированных в различных этерифицирующих смесях: 1, 4 – ортофосфорная кислота – оксид фосфора – трибутилфосфат; 2, 3, 5 – ортофосфорная кислота – мочевины. Содержание фосфатных групп $\sim 1,9\text{--}2,2$ ммоль/г (1–3) и $3,1\text{--}3,2$ ммоль/г (4, 5). Ионная сила 0,05

Сравнение кривых титрования полученных разными способами фосфатов крахмала и декстрана показывают, что в области $\text{pH} < 5,0$, соответствующей полной нейтрализации сильноокислотных групп, они практически иден-

тичны. Это свидетельствует о нечувствительности показателей кислотности по первой ступени к методу синтеза, а также к природе полисахарида, входящего в состав катионитов (табл. 8). Следовательно, главным фактором, определяющим форму кривой титрования начального участка ФКК, ФКД и ФД, является количество фосфатных групп. Резкий скачок на кривых титрования и соответствующий ему рост степени набухания гидрогелей (см. рис. 7) свидетельствует о том, что ионизация функциональных групп сопровождается конформационными превращениями микрочастиц: компактные конформации макромолекул переходят в развернутые. Эффект конформационных превращений макромолекул микрогелей является причиной того, что результаты титрования сильнокислотных групп фосфатов полисахаридов не линейаризуются в координатах $pH = f[\lg(1 - \alpha/\alpha)]$, т. е. расчет кажущихся констант ионизации (pK_1), согласно уравнению Гендерсона – Тассельбаха, некорректен. В данной работе pK_1 принимали равным pH при степени нейтрализации сильнокислотных групп 0,5 (см. табл. 8).

Таблица 8

Физико-химические свойства микрогелей на основе фосфатов полисахаридов

№ п/п	Образец	Система этерификации	C _P , %	C _N , %	ОЕ ₁ , мг-экв/г	ПОЕ, мг-экв/г	pK ₁	pK ₂
1	ФКК	Н ₃ РO ₄ : (NH ₂) ₂ СО	6,5	1,9	2,2	4,4	3,0	7,1
2			10,2	2,0	3,2	—	2,7	—
3			11,8	2,9	—	—	2,7	—
4	ФКД		5,9	1,9	1,9	—	2,8	—
5			11,2	2,0	3,2	—	2,7	—
6			12,4	2,9	1,9	—	2,9	—
7	ФД	Н ₃ РO ₄ : Р ₂ О ₅ : Вu ₃ РO ₄	5,9	—	1,7	3,4	2,9	6,7
8		9,6	—	3,8	7,6	2,7	6,6	
9		15,2	—	4,6	9,7	2,8	—	

Примечание. Значение pK_1 принимали равным pH при степени нейтрализации (α) сильнокислотных групп 0,5.

По мере увеличения степени диссоциации функциональных групп $pH > 5,0$ различия между кривыми $pH = f(m_{NaOH})$ фосфатов полисахаридов, полученных разными способами, возрастают: более четко обозначаются скачки вблизи точек эквивалентности для ФД, полученного в системе ортофосфорная кислота – оксид фосфора(V) – трибутилфосфат. В случае смешанных эфиров ФКК и ФКД зависимость $pH = f(m_{NaOH})$ имеет смазанный вид: для данного участка кривой титрования характерно наличие не только одной, но нескольких неявно выраженных ступеней, аналогичных наблюдаемым на кривых титрования полифосфорных кислот. Это справедливо для катионитов

с разной концентрацией фосфорсодержащих групп и свидетельствует о большей энергетической неравноценности слабокислотных групп смешанных эфиров, возможными причинами которой могут быть различия как в химической природе функциональных групп (фосфаты, полифосфаты), так и в ближайшем окружении (локальная концентрация функциональных групп, локальная прочность системы водородных связей).

Таким образом, данные потенциометрического титрования свидетельствуют о том, что микрогели ФД представляют собой двухосновные катиониты. В отличие от ФД смешанные эфиры ФКД и ФКК с высоким содержанием фосфатных групп относятся к полифункциональным катионитам, полную обменную емкость которых определить невозможно (см. рис. 7, б).

Из представленных дифференциальных кривых титрования (см. рис. 7, б) видно, что для всех ФКД и ФКК с концентрацией фосфорсодержащих групп до 2,5 ммоль/г участки до первой точки эквивалентности, соответствующей обменной емкости по первой ступени (OE_1), и от первой до второй точек эквивалентности, соответствующей обменной емкости слабокислотных групп (OE_2), практически равны между собой. Это может свидетельствовать о том, что в состав гидрогелей входят преимущественно однозамещенные фосфаты (структура I). По мере роста содержания фосфатных групп в составе гидрогелей ($C_p > 3,2$ мг-экв/г), второй участок потенциометрических кривых становится длиннее по сравнению с первым ($OE_2/OE_1 > 1$). Этот факт указывает на частичное перекрывание процессов титрования сильно- и слабокислотных групп, что затрудняет расчет pK_2 катионитов с высокой концентрацией фосфорсодержащих групп.

Результаты, приведенные в табл. 8, показывают, что показатели кажущихся констант ионизации сравнительно мало зависят от содержания фосфатных групп в гидрогелях, степени сшивки их полимерной матрицы. Наличие в смешанных эфирах карбаматных групп также не оказывает влияния на значения pK_1 и pK_2 фосфорсодержащих катионитов.

Значения $pK_1 \geq 2,7$ микрогелей с разным содержанием фосфора свидетельствует о том, что при pH 6,8–7,5 фосфатные группы ионизированы более чем на 75 %. Это определяет высокую селективность сорбции низко- и высокомолекулярных биологически активных веществ микрогелями в данной области pH не только за счет диффузии в трехмерную полимерную сетку, но и путем многоточечного кооперативного взаимодействия с фосфатами и полифосфатами с образованием полиэлектролитных комплексов.

Оценка противоопухолевой активности микрогелей на основе фосфатов полисахаридов. Результаты сравнительного исследования противоопухолевой активности фосфатов полисахаридов в опытах *in vitro*, проведенного в Республиканском научно-практическом центре онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова, свидетельствуют об их способности ингибировать пролиферацию опухолевых клеток, увеличивающейся с ростом содержания фосфатных групп.

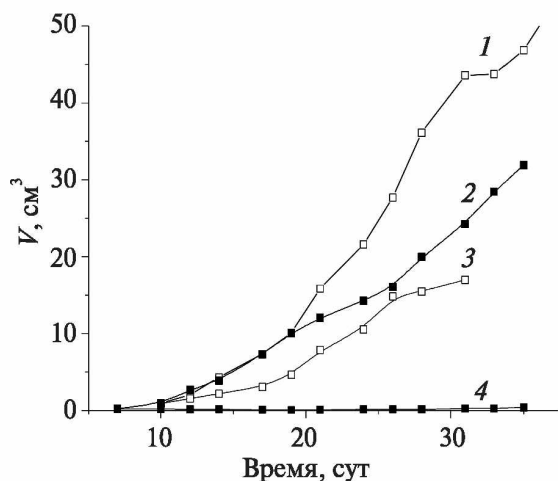


Рис. 8. Динамика роста объема (V) саркомы М-1 (1, 3) и Йенсена (2, 4) крыс в контроле (1, 2) и после внутрибрюшинного введения ФКД ($C_p = 7,0 \%$) в дозе 2000 (3) и 1000 мг/кг (4)

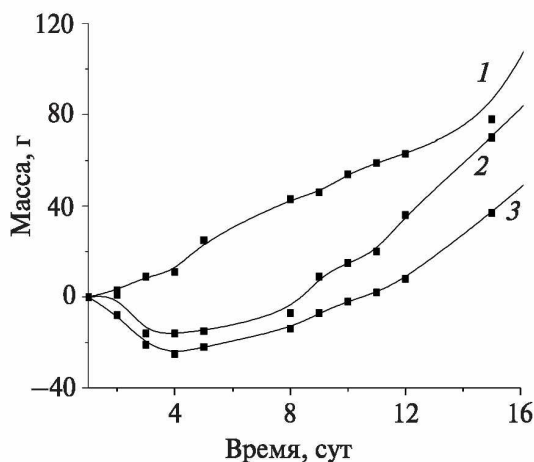


Рис. 9. Изменение массы тела крыс с асцитной гепатомой Зайделя в контроле (1) и после введения гидрогелей ФКД ($C_p = 7,0 \%$) с дозой: 2 – ФКД – 500 мг/кг; 3 – ФКД – 1000 мг/кг

Наличие собственной противоопухолевой активности синтезированных гидрогелей фосфатов полисахаридов подтверждено в условиях *in vivo* на моделях перевиваемых опухолей саркомы М-1, саркомы Йенсена и гепатомы Зайделя. Из рис. 8 и 9 видно, что после введения ФКД объем опухолей (V , см³) крыс с саркомой М-1 и Йенсена, а также потеря массы животных с гепатомой Зайделя уменьшаются по сравнению с контролем, что свидетельствует о торможении опухолевого роста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованы процессы этерификации декстрана и крахмала в системах ортофосфорная кислота – оксид фосфора(V) – трибутилфосфат – хлороформ и ортофосфорная кислота – расплав мочевины и получены фосфаты декстрана в интервале изменения степени замещения по фосфатным группам

(СЗ_р 0,03–1,05), а также смешанные эфиры полисахаридов, содержащих карбаматные (СЗ_н 0,23–0,71) и фосфатные (СЗ_р 0,25–1,01) группы. Установлен характер влияния на процесс гелеобразования фосфорилированных полисахаридов концентрационного, температурного, временного и других факторов, что позволило выявить условия получения гидрогелей с высоким выходом гель-фракции (82,5–96,7 %). Получена серия гидрогелей, представляющих собой частицы с диаметром в интервале 10–1050 мкм, характеризующиеся разным функциональным составом и степенью сшивки трехмерной полимерной сетки. Показано, что гидрогели на основе фосфатов полисахаридов имеют высокие значения равновесной степени набухания (1000–20 000 %), относятся к классу среднекислотных катионитов (рК₁ 2,7–3,0). В опытах *in vivo* и *in vitro* установлено, что введение в состав полисахаридов фосфорсодержащих групп способствует усилению противоопухолевой активности микрогелей на основе фосфатов декстрана и крахмала.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. *Peppas N. A.* Hydrogels in medicine and pharmacy. Vol.1. Boca Raton: CRC Press, 1986.
2. *Oh J. K., Lee D. I., Park J. M.* Biopolymer-based microgels/nanogels for drug delivery applications // *Progress in Polymer Science*. 2009. Vol. 34. P. 1261–1282.
3. *Штильман М. И.* Полимеры медико-биологического назначения // *Высокомолекул. соединения*: А. 2010. Т. 52, № 9. С. 1551–1569.
4. *Kohane D. S.* Microparticles and Nanoparticles for Drug Delivery // *Biotechnology and Bioengineering*. 2007. Vol. 96, № 2. P. 203–209.
5. *Kokol V., Božič M., Vogrinčič R.* [et al.]. Characterisation and properties of homo- and heterogenously phosphorylated nanocellulose // *Carbohydr. Polym.* 2015. Vol. 125. P. 301–307.
6. *Petreus T., Stoica B. A., Petreus O.* [et al.]. Preparation and cytocompatibility evaluation for hydrosoluble phosphorous acid-derivatized cellulose as tissue engineering scaffold material // *J. Materials Science: Materials in Medicine*. 2014. Vol. 25, № 4. P. 1115–1127.
7. *Suflet D. M., Nicolescu A., Popescu I.* [et al.]. Phosphorylated polysaccharides. 3. Synthesis of phosphorylated curdlan and its polyelectrolyte behaviour compared with other phosphorylated polysaccharides // *Carbohydr. Polym.* 2011. Vol. 84, № 3. P. 1176–1187.
8. *Heinze U., Klemm D., Under E.* [et al.]. New starch Phosphate Carbamides of High Swelling Ability: Syntesis and Characterization // *Starch / Stärke*. 2003. Vol. 55. P. 55–60.
9. *Denizli B. K., Kaplan Can H., Rzaev M. O.* [et al.]. Preparation conditions and swelling equilibria of dextran hydrogels prepared by some crosslinking agents // *Polymer*. 2004. Vol. 45. P. 6431–6435.
10. *Granja P. L., Pouysegue L., Petraud M.* [et al.]. Cellulose phosphates as Biomaterials. II. Surface Chemical Modification of Regenerated Cellulose Hydrogels // *J. Appl. Polym. Sci.* 2001. Vol. 82. P. 3341–3353.
11. *Woo K., Seib P. A.* Cross-linking of wheat starch and hydroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate // *Carbohydr. Polym.* 1997. Vol. 33. P. 263–271.
12. *Sang Y., Prakash O., Seib P. A.* Characterization of Phosphorylated cross-linked resistant starch by ³¹P nuclear magnetic resonance (³¹P NMR) spectroscopy // *Carbohydr. Polym.* 2007. Vol. 67. P. 201–212.

13. *Martin-Martinez E. S., Aquilar M. A., Espinoza-Solaries T.* [et al.]. Starch phosphate produced by extrusion: physical properties and influence on uogurt stability // *Starch / Stärke*. 2004. Vol. 56, № 5. P. 199–207.
14. *Corbridge D. E. C.* Phosphorus: Chemistry, Biochemistry and Technology. Boca Raton: CRC Press, 2013.
15. *Пурдела Д., Вылчану Р.* Химия органических соединений фосфора. М. : Химия, 1972.
16. *Юркиштович Н. К., Голуб Н. В., Юркиштович Т. Л.* [и др.]. Исследование кинетики процесса фосфорилирования регенерированной целлюлозы в системе $\text{H}_3\text{PO}_4 + (\text{BuO})_3\text{PO} + \text{P}_2\text{O}_5$ // *Журн. Белорус. гос. ун-та. Сер. Химия*. 2017. № 1. С. 16–24.
17. *Юркиштович Т. Л., Беляев С. А., Юркиштович Н. К.* [и др.]. Способ получения гидрогеля фосфата декстрана: пат. 15136 ВУ, Int. C08B 37/02 / Оpubл. 11.11.2011.
18. *Юркиштович Т. Л., Голуб Н. В., Юркиштович Н. К.* [и др.]. Синтез, структура и физико-химические свойства гелеобразующих фосфатов декстрана // *Журн. прикл. химии*. 2012. Т. 85, № 11. С. 1867–1875.
19. *Sacco D. D., Klett-Zygmunt D. E., Sacco D.* [et al.]. A re-investigation of the phosphorylation of dextran with polyphosphoric acid: evidence for the formation of different types of phosphate moieties // *Carbohydrate Research*. 1988. Vol. 184. P. 193–202.
20. *Ермоленко И. Н., Буглов Е. Д., Люблинер И. П.* [и др.]. Новые волокнистые сорбенты медицинского назначения. Минск : Наука и техника, 1978.
21. *Peppas N. A., Merrill E. W.* Poly(vinyl alcohol) hydrogels: Reinforcement of radiation-crosslinked networks by crystallization. // *J. Polym. Sci. Polym. Chem.* 1976. Vol. 14. P. 441–457.
22. *Jong S. J., van Eerdenbrugh B., van Nostrum C. F.* [et al.]. Physically crosslinked dextran hydrogels by stereocomplex formation of lactic acid oligomers: degradation and protein release behavior // *J. Control. Rel.* 2001. Vol. 71. P. 261–275.
23. *Ferreira L., Gil M. H., Dordick J. S.* Enzymatic synthesis of dextran-containing hydrogels // *Biomaterials*. 2002. Vol. 23. P. 3957–3967.

Поступила в редакцию 14.04.2017