

УДК 615.371.01.1:547.458.61:547.466

ХИТОЗАН И ДЕЗОКСИКРАХМАЛ В КАЧЕСТВЕ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИЦ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ

*В.А. Кузнецов, доцент, *А.И. Сливкин, профессор, *В.Л. Лапенко, доцент,
А.А. Болгов, аспирант*

кафедра Фармацевтической химии и фармацевтической технологии

**кафедра Высокомолекулярных соединений и коллоидов*

Воронежский государственный университет

e-mail: kuznets@comch.ru

Химическая модификация лекарственных веществ углеводами приводит к значительному снижению вредного побочного действия на организм и увеличению биодоступности. Проведена разработка способов иммобилизации изониазида и стрептомицина в структуру гомологов хитозана с образованием соответствующих ковалентных связей. Синтезированы водорастворимые аналоги 1,4-β-2-амино-2-дезоксид-глюкана и 1,4-α-D-глюкана с боковыми цепями, содержащими компоненты α-аминокислот с образованием ковалентных связей через метилен- или гидроксипропилен-спейсеры. В качестве полимерных матриц для иммобилизации глицина, L-лизина гидрохлорида, L-глутаминовой кислоты использовались N-гидроксиметилхитозан, N-хлор-2-гидроксипропилхитозан и гидроксиметил-3-дезоксикрахмал.

Ключевые слова: хитозан, иммобилизация, изониазид, стрептомицин, глицин, лизин, глутаминовая кислота

Полимерные матрицы используются для создания лекарственных средств с пролонгированным действием и контролируемым высвобождением субстанции. Введение в живой организм подобных лекарственных форм возможно пероральным, парентеральными методами, через имплантаты, дозирующие действующее начало, различные суппозитории и т.д. Описаны способы модификации лекарственных средств путем включения в их структуру углеводных компонентов. 1-Изоникотинил-2-D-глюкозил-гидразон, отличаясь высокой гидрофильностью, обладает туберкулостатической активностью соответственно концентрации в его структуре изониазида (ГИНК), но токсичность его в 10-12 раз ниже лекарственной субстанции [1]. Винильные полимеры с углеводными боковыми цепями, несущие свободные полуацетальные гидроксилы – поли-3-акрилоил-D-глюкоза и поли-3-метакрилоил-D-глюкоза – были использованы для создания соответствующих гидразонов на основе ГИНК. Данные аналоги, отличаясь пониженной токсичностью, при сохранении антимикобактериальной активности лекарственной субстанции обладают пролонгацией действия в организме [2, 3]. Показана возможность создания на основе карбоксиметилдекстрана (КМД) полимерных форм ГИНК и стрептомицина с образованием

ковалентных связей лекарство-полимер через 2-гидроксипропил-спейсер и солевых форм. В условиях иммобилизации стрептомицина основания на структуру 3-хлор-2-гидроксипропилового эфира КМД образуются смешанные связи лекарство-полимер. Проведено исследование противотуберкулезной активности полученных веществ *in vitro* на стандартном вирулентном штамме H₃₇Rv. Установлено, что минимальная подавляющая концентрация (МПК) для полимерной формы ГИНК в расчете на связанное лекарство не ниже этого показателя для свободного ГИНК. Аналогичным образом охарактеризована бактерицидная активность полимерной формы стрептомицина. Полимерные формы ГИНК и стрептомицина характеризуются противотуберкулезной активностью, пропорциональной концентрации иммобилизованных лекарственных веществ и снижением в сравнении с ними острой токсичности. При внутрибрюшинном введении полимерных форм препаратов ЛД₅₀ 3600-3700 мг/кг (ГИНК), 1580-1840 мг/кг (стрептомицин) [4]. Углеводсодержащие аналоги на основе стрептомицина были синтезированы с основной целью снижения его побочного действия на организм, в частности, ототоксичности. Осуществлен синтез и предварительные биологические исследования водорастворимого полистрептомицинкарбоксилата, по-

лученного на основе полиметакрилата диметилглюконовой кислоты и стрептомицина – основания с образованием солевых связей лекарство-полимер [5].

Полимеры, несущие в своей структуре компоненты α -аминокислот, используются как материалы медицинского назначения, аффинные сорбенты избирательного характера, лекарственные средства направленного действия и др. Имобилизация *L*-лизина на сополимер *N*-винилпирролидона и малеинового ангидрида приводит к образованию сорбента, используемого для выделения плазминогена из плазмы крови человека [6]. Катионит, полученный на основе хитозана и *L*-глутаминовой кислоты при структурировании глутаровым альдегидом является сорбентом основных аминокислот [7]. Полимеризацией метакрилоилглицина получен винильный полимер с аминокислотными боковыми цепями, способный образовывать хелатные циклы с ионами металлов [8]. Полимер на основе *N*-акрилоилглутаминовой кислоты в форме микрогранул способен к селективному связыванию уранила в виде комплексов [9].

Глутаминат хитозана (ММ 10-200 кДа) в гелевой форме эффективен при лечении жирового панкреонекроза [10]. Конденсат натрия глицината с оксибензальдегидом в качестве лиганда иммобилизован в структуру хитозана посредством координации NH_2 -групп аминогликана с Fe(II), установлена его способность тушить супероксидные анион-радикалы [11]. Полимерная форма глицина на основе хитозана с полувзаимопроникающей структурой, сшитая глутаровым альдегидом, использована для иммобилизации хлорфенрамина в целях коррекции скорости выделения лекарства из гранул [12]. Дендритный наноноситель на основе пэгиллизованного пептида полиэтиленгликоль/лизин использован для иммобилизации жирорастворимого противомалярийного препарата артемэтера в целях повышения его гидрофильности и коррекции скорости высвобождения. Конъюгирование этой системы с хондроитин сульфатом позволяет повысить содержание лекарственного вещества и продлевает процесс его высвобождения [13].

Материалы и методы

I. 2.00 г ацетата хитозана со степенью полимеризации 9-10 и степенью деацетилирования (СДА) 90%, полученного селективным пероксидным гидролизом аминоклюкана с молекулярной массой (ММ) 500-600 кДа обрабатывали 40 мл 1 н спиртового

раствора NaOH, промывали этанолом и вакуумировали. Полученный хитозан – основание, 0.25 г ГИНК и 60 мл воды перемешивали при 70°C 60 минут. Остаток после вакуумирования образовавшегося раствора экстрагировали спиртом в отношении избытка ГИНК. Проведен анализ полученного конъюгата с целью определения содержания в нем фиксированного изониазида. 1.0 г препарата (точная навеска) растворили в 100 мл воды, прибавили 2 г гидрокарбоната натрия, 50 мл 0.1 н раствора йода и оставили на 30 минут при 38-40°C в темном месте, охладили до 5-7°C и прибавили 20 мл соляной кислоты (1:2). Смесь титровали 0.1 н раствором тиосульфата натрия. Израсходовано 22 мл титранта; 1 мл раствора йода соответствует 0.0034 г изониазида; массовое содержание ГИНК в полимерной форме 0.076 г (7.6%). % N: найдено 10.16; вычислено 10.27. ИК-спектр, ν_{max} , см^{-1} : 1668 (валентные колебания C=N); 1240, 840 (деформационные колебания C-H в пиридиновом цикле).

II. 2.00 г олигохитозана, полученного деполимеризацией высокомолекулярного аминоклюкана пероксидным методом со степенью полимеризации 9-10 аминоклидроглюкозных единиц (СДА 90%) в солевой форме (ацетат) в виде раствора в 20 мл воды и 0.97 г эпихлоргидрина перемешивали 30 минут при 25°C и 60 минут при 70°C. Фильтрат раствора, после вакуумирования с уменьшением объема на 10-15%, смешивали с 1.8 г ГИНК и, после введения 0.01 мл ацетилхлорида в качестве катализатора, термостатировали при 70°C в течение 240 минут. Твердый остаток после вакуумирования раствора экстрагировали спиртом (удаление избытка ГИНК). Высушенный в вакууме остаток после экстракции – водорастворимый слабоокрашенный порошкообразный продукт. Выход 1.82 г. % N: найдено 12.39. Концентрация связанного ГИНК в структуре аналога (II), определявшаяся по данным элементного анализа, составляет 23.5%. ИК-спектр, ν_{max} , см^{-1} : 1240, 840 (деформационные колебания C-H в пиридиновом цикле), 1308, 752 (деформационные колебания N-H для вторичных амидов III и V).

III. 1.00 г хитозана, полученного деполимеризацией высокомолекулярного аминоклюкана пероксидным методом (СДА 90%; $[\eta]$ 0.52 дцл/г) в виде раствора в 0.1 н HCl и 0.13 г формальдегида (1.0:0.8 моль) перемешивали при 70-75°C 60 мин. В раствор *N*-гидроксиметил аналога хитозана ввели 0.59

г изониазида (соотношение *N*-гидроксиметил-группировок в структуре хитозана и изониазида 1:1 моль) и термостатировали при перемешивании 90 мин. Фильтрат реакционной смеси дегидратировали, а сухой остаток обработали 50 мл спирта в целях экстракции непрореагировавшего изониазида и других примесей. Выделенный конъюгат *N*-гидроксиметил хитозана с изониазидом (III) представляет собой твердый бесцветный продукт хорошо растворимый в воде. Выход 1.38 г. % N: найдено 12.58. Концентрация связанного ГИНК в структуре аналога (III), определявшаяся по данным элементного анализа, составляет 22.0%. ИК-спектр, $\nu_{\max}$, см⁻¹: 1240, 840 (деформационные колебания C-H в пиридиновом цикле), 1308, 752 (деформационные колебания N-H для вторичных амидов III и V).

IV. 4.00 г хитозана с СДА 90% и степенью полимеризации 9-10 аминокангликозидных единиц в основной форме, 0.49 г стрептомицина сульфата в виде раствора в 60 мл воды перемешивали при 60-70°C 120 минут. Смесь фильтровали, остаток на фильтре промывали водой и высушивали при комнатной температуре. Проведен анализ полученного

конъюгата (IV) с целью определения содержания в нем фиксированного стрептомицин сульфата. Раствор 1.0 г препарата в 10 мл 0.1 н соляной кислоты обрабатывали 10 мл 2% водного раствора хлорида бария. Образовавшийся осадок (BaSO₄) отделяли центрифугированием и сушили при 100°C до постоянной массы. Выделено 0.0325 г сульфата бария, что соответствует содержанию антибиотика в составе полимерной формы 0.067 г (6.7%). % N: найдено 8.69; вычислено 8.61. ИК-спектр, $\nu_{\max}$, см⁻¹: 1673 (C=N).

Для определения противотуберкулезной активности полимерных форм изониазида и стрептомицина в отношении штамма H₃₇Rv применялся метод двукратного разведения на жидкой среде Сотона. МПК регистрировали с использованием питательной среды, содержащей 10% нормальной лошадиной сыворотки при инкубации в течение 1.5 мес.

Острая токсичность синтезированных лекарственных аналогов хитозана определялась при использовании беспородных мышей с массой тела 18-20 г. Полимеры вводили в физиологическом растворе внутривентально, наблюдение осуществляли 10 суток. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1. Противотуберкулезная активность и острая токсичность полимерных форм ГИНК и стрептомицина.

Соединение	Содержание связанного лекарства, %	МПК, мкг/мл	Количество мышей	ЛД ₅₀ , г/кг
I	7.6	2.6	34	13.3
II	23.5	0.85	40	4.3
III	22	0.9	38	4.8
IV	6.7	14.9	40	22.4
ГИНК	100	0.2	40	0.23
Стрептомицин сульфат	100	1.0	40	0.6

V. 1.00 г хитозана (СДА 90-91%, $[\eta]$ 28 дцл/г) растворили в 100 мл 2% уксусной кислоты и перемешивали с 0.6 мл 32% раствора формальдегида в воде (1:1 моль) при 75°C 60 мин. В полученный раствор вводили 0.99 г *L*-лизина гидрохлорида (1:1 моль) и термостатировали при 75°C 180 мин. Остаток после вакуумирования фильтрата реакционной массы – порошкообразный, аморфный водорастворимый продукт (рН 6.5-7). Данные потенциометрического титрования свидетельствуют о степени замещения полимерной матрицы на основе хитозана компонентами *L*-лизина гидрохлорида до 90%. % N: найдено 8.09; вычислено 8.22. ИК-спектры соединений сняты на спектрометре «VERTEX-70» путем формирования пленок из водных растворов на поверхности

кремниевых пластин. ИК-спектр, $\nu_{\max}$, см⁻¹: 2350 (NH₂⁺), 3100 (NH₃⁺).

VI. 1.00 г хитозана (СДА 90-91%, $[\eta]$ 28 дцл/г) растворили в 100 мл 2% водного раствора АсОН и добавили 0.4 мл ЭПХ (1:1 моль). Смесь термостатировали при 50°C 30 мин и далее при 80°C 60 мин. В реакционную массу при перемешивании вводили 0.99 г *L*-лизина гидрохлорида (1:1 моль), термостатируя при 75°C 180 мин. Фильтрат высушивали до образования однородной эластичной пленки, растворимой в воде. Степень аминоконъюгирования макромолекул хитозана достигает 92%; выход 91-92%. % N: найдено 7.29; вычислено 7.64. ИК-спектр, $\nu_{\max}$, см⁻¹: 2350 (NH₂⁺), 3100 (NH₃⁺).

VII. 1.00г хитозана (СДА 90-91%, $[\eta]$ =11.8 дцл/г (2% CH₃COOH)) растворили в

100 мл 2% водного раствора АсОН и добавили 0.6 мл 32% раствора формальдегида в воде (1:1 моль). Полученную смесь термостатировали при 75-80°C 60 мин. В раствор вводили 0.4 г глицина (1:1 моль), продолжая термостатирование 180 мин (75°C). Фильтрат вакуумировали до образования белой непрозрачной хрупкой пленки растворимой в воде (рН 6.5-7). Степень аминоацилирования макромолекул хитозана достигает 91%; выход 96%. % N: найдено 7.45; вычислено 7.18. ИК-спектр, $\nu_{\max}$, см⁻¹: 2350 (NH₂⁺), 1730 (C=O).

VIII. 1.00г хитозана (СДА 90-91%, $[\eta]$ =28 дцл/г (2% СН₃СООН)) растворили в 100 мл 2% водного раствора АсОН и добавляли 0.4 мл ЭПХ (1:1 моль). Смесь термостатировали при 50°C – 30 мин и далее при 80°C – 60 мин. 0.4 г глицина ввели в реакционную массу (1:1 моль) и перемешивали при 70-75°C 180 мин. Фильтрат высушивали до образования эластичной пленки растворимой в воде; выход 85%. % N: найдено 6.66; вычислено 6.27. ИК-спектр, $\nu_{\max}$, см⁻¹: 2350 (NH₂⁺), 1730 (C=O).

Данные потенциометрического титрования свидетельствуют о степени замещения полимерной матрицы на основе хитозана компонентами глицина до 80%. Характерным свойством полученного конъюгата с глицином является появление признаков образования наблюдаемых в микроскоп ассоциатов макромолекул в процессе формирования пленки полимера на стеклянной поверхности из его раствора при медленном испарении растворителя.

IX. 1.00 г хитозана (СДА 90-91%, $[\eta]$ =28 дцл/г в 2% АсОН) растворили в 100 мл 2% раствора АсОН и добавили 0.6 мл 32% раствора формальдегида в воде (1:1 моль). Полученную реакционную массу перемешивали 60 мин (75°C) после чего вводили 0.8 г L-глутаминовой кислоты (1:1 моль) и 0.02 мл ацетилхлорида, перемешивая при 75-80°C в течение 120 мин. Фильтрат вакуумировали до образования эластичной пленки. Степень замещения до 87%; выход 85-87%. % N: найдено 6.61; вычислено 7.07. ИК-спектр, $\nu_{\max}$, см⁻¹: 2350 (NH₂⁺), 1735 (C=O), 3100 (NH₃⁺).

X 1.00 г хитозана (СДА 75%) растворяли в 100 мл 0.1N HCl, добавляли 0.4 мл ЭПХ и проводили термостатирование при 50°C 30 мин. В реакционную массу ввели 0.66 г L-глутаминовой кислоты (1:1:1 моль), перемешивая при 70-75°C 90 мин. Фильтрат высушивали при 20-22°C в открытой системе

до образования прозрачной высокоэластичной пленки растворимой в воде (рН 5-7). Степень замещения до 79%; выход 91-92%. % N: найдено 6.27; вычислено 6.36. ИК-спектр, $\nu_{\max}$, см⁻¹: 2350 (NH₂⁺), 1735 (C=O), 3100 (NH₃⁺).

XI. 3.00 г оксикрахмала суспендировали в 100 мл воды при 70°C. Смесь 3.28 г N-(гидроксиметил)-L-глутаминовой кислоты и 6 мл воды вводили при перемешивании в полученную суспензию; термостатирование продолжали при 70°C 240 мин. 3-N-(гидроксиметилглутамино)-3-дезоксикрахмал осаждали из реакционной смеси избытком изопропилового спирта, экстрагировали 70% водным этанолом и сушили в вакууме. Степень замещения 12%. Выход 65%. % N: найдено 0.92; вычислено 0.94%. T_{разл} 226-243°C. ИК-спектр, $\nu_{\max}$, см⁻¹: 3450 (межмолекулярные Н-связи), 3300 (ОН для полимеров), 1665(C=O), 2680 (ОН карбоксила).

Результаты и их обсуждение

Экспериментально определялась возможность иммобилизации изониазида в структуру низкомолекулярных хитозанов в условиях конвертирования альдегидных групп в концевых звеньях с образованием гидразона и присоединения лекарственной субстанции по C-N связи через 2-гидроксипропил- или метилен-спейсер. Максимальная массовая концентрация ГИНК, присоединенного к хитозану отмечена при использовании в качестве матриц олигомерных гомологов аминоклукана. Взаимодействие лекарственной субстанции с полимером производилось при использовании в качестве матриц N-хлоргидроксипропил- и N-гидроксиметиланалогов олигохитозанов с СДА более 90%, присутствовавших в реакционной системе в виде ацетатов или гидрохлоридов. Реакционный процесс проводился в водной среде. Максимальная эффективность процесса, контролируемая путем определения массового содержания фиксированного ГИНК в структуре образующихся лекарственных полимеров, достигалась при термостатировании (70°C) в течение 240 минут. Принцип выделения и очистки лекарственных полимеров, количественно обеспечивающий также установление аналитических показателей – исчерпывающая экстракция образовавшейся твердой фазы этанолом. Содержание связанного ГИНК определялось идентичными по точности иодометрическими способами – в отношении концентрации остаточного и фиксированного в структуре полимера ГИНК. Максимальная массовая

концентрация связанного ГИНК достигнута при использовании олигомерных матриц хитозана (23.5%).

Механизм возможного присоединения стрептомицина к олигохитозану основан на соответствующей реакционной способности первичных аминогрупп в структуре хитозана и альдегидной группировки в составе углеводной части стрептомицина с образованием основания Шиффа. Химическая иммобилизация стрептомицина сульфата в структуру хитозана проводилась в условиях смешивания раствора олигомера хитозана в основной форме с водным раствором стрептомицина сульфата при 60-65°C в течение 60 минут. Концентрация связанного антибиотика в составе хитозана определялась путем количественной оценки содержания соответствующих анионов в структуре присоединенного лекарственного компонента – сульфата с образованием на его основе бариевой соли.

Проведенные испытания противотуберкулезной активности синтезированных полимерных форм ГИНК и стрептомицина при использовании в качестве тест-культуры штамма микобактерий туберкулеза H₃₇Rv в сравнении с соответствующими лекарственными субстанциями показали практическую идентичность МПК с учетом количественного содержания субстанции в составе полимераналогов. Исследования острой токсичности на животных объектах указывают на снижение показателя ЛД₅₀ для полимерных форм лекарств в сравнении с соответствующими субстанциями в 2.5-4.5 раза.

В процессе иммобилизации α-аминокислот в структуре связей лекарство-полимер в данной работе использованы спейсеры с метилен- или 2-гидроксипропилен-структурой. Проводилась химическая активация аминоглюкана путем введения в его состав по первичноаминным группам при C₂ компонентов, обеспечивающих иммобилизацию α-аминокислот при образовании спейсеров. N-гидроксиметилирование и N-хлоргидроксипропилирование хитозана проводили путем его взаимодействия с формальдегидом и хлорметилоксираном. Оптимальное соотношение полимерного и алкилирующего реагента исключали возможность пространственного структурирования. N-хлор-2-гидроксипропил-аналоги хитозана со степенью замещения до 0.8 в виде солевой формы (ацетаты, гидрохлориды) использовались в качестве матриц для химического присоединения α-

аминокислот в условиях конверсии первичных аминогрупп в составе лизина и глицина. Для интенсификации процесса присоединения глутаминовой кислоты при конверсии γ-карбоксильной группы использовался катализатор – ацетилхлорид. Дегидратацию системы целесообразно осуществлять путем медленного испарения из раствора, распределенного тонким слоем по стеклянной поверхности. Для всех вариантов аминокислотирования аналогов хитозана отмечено образование в этих условиях практически бесцветных эластичных водорастворимых пленок с содержанием остаточной влаги 6-7%. Аналоги хитозана, выделяемые в более жестких температурных условиях имеют тенденцию к ассоциированию макромолекул, следствием чего является их ограниченная гидрофильность. Степень аминокислотирования полученных производных определяли методом потенциометрического титрования раствором щелочи. Для варианта полимерной формы L-глутаминовой кислоты титруемый функционал – солевая структура, образовавшаяся на основе вторичноаминной группировки в структуре гликана. При ацилировании N-гидроксиметил- и N-хлоргидроксипропил-аналогов хитозана лизином конвертируется ε-аминогруппа кислоты с образованием соответствующих солей. В данном случае дополнительным титруемым функционалом является структурный элемент, возникший в процессе фиксации аминокислоты на спейсере. При макромолекулярном алкилировании глицина указанными аналогами хитозана наиболее вероятной является конверсия аминогрупп кислоты и образование двух разновидностей солевых центров.

В качестве полимерной матрицы для иммобилизации α-аминокислот на примере L-глутаминовой кислоты использовался оксикрахмал, который получали окислением D-глюкана системой ДМСО-ацетангидрид. Структура образовавшегося оксикрахмала со степенью окисления до 0.4 отличается наличием кетонных групп в составе звеньев при C₃ (содержание кетонных групп до 0.5). Присоединение L-глутаминовой кислоты на оксикрахмал легко реализуется через метиленовую группировку путем взаимодействия оксикрахмала с N-гидроксиметилглутаминовой кислотой. Степень замещения аминокислотными группами достигает 0.3-0.4. Аминоацилат на основе оксикрахмала выделяли путем дробного осаждения органическими растворителями и экстракцией

водно-спиртовыми смесями. Проведено исследование влияния 3-*N*-(гидроксиметил-глутамино)-3-дезоксикрахмала на образование канцероген-белковых антигенов (КБА) в живых организмах (мышь) при введении полимеров одновременно с бензидином.

Установлено, что введение полимерного *L*-глутамината блокирует взаимодействие канцерогенов с белками ткани-мишени – печени животных и сывороточными белками. Характерно полное ингибирование образования специфических маркеров канцерогенеза КБА.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Пат. 2279438 РФ. Способ получения 1-изоникотинил-2-*D*-глюкозилгидразона, обладающего противотуберкулезной активностью / А.П. Арзамасцев [и др.]. – № 2001402015; заявлено 22.01.04; опубл. 10.07.06, Бюл. 19.
2. А. с. 561377 СССР. Способ получения водорастворимых физиологически активных полимеров / В.Л. Лапенко [и др.]. – опубл. 15.02.77.
3. А. с. 1051899 СССР. Поли-3-акрилоил-*D*-глюкоза в качестве носителя лекарственных препаратов / В.Л. Лапенко [и др.]. – опубл. 17.01.83.
4. Сливкин, А. И. Получение и противотуберкулезная активность полимерных форм изониазида и стрептомицина на основе эфиров карбоксиметилдекстрана / А. И. Сливкин, В. Л. Лапенко, Г. Г. Сироткина // Химико фармацевтический журнал. – 1999. – № 12. – С. 34-37.
5. А. с. 799355 СССР. Полистрептомицинкарбоксилат, обладающий противотуберкулезной активностью / В.Л. Лапенко [и др.]. – опубл. 22.09.80
6. Иммобилизация *L*-лизина на пространственно-сшитый гранулированный сополимер (матрицу) аффинного сорбента / А. Ф. Маслюк [и др.] // Доп. Нац. АН України. – 2004. – № 8. – С. 146-152.
7. Zhou, Xiao-Hua. Получение сшитого катионита на основе хитозана тутового шелкопряда - глутаминовой кислоты / Zhou Xiao-Hua, Li Fen, Xian Xiao-Hong // Chin J. Appl. Chem. – 2005. – Vol. 22, № 2. – P. 152-157.
8. Polymerization and complexation of methacryloylglycine / Masuda Seizo [et al.] // J. Polym. Sci. A. – 1999. – Vol.37, № 9. – P. 1303-1309.
9. Say, Ridvan. Selective separation of uranium containing glutamic acid molecular-imprinted polymeric microbeads / Say Ridvan, Ersoz Arzu, Denizli Adil // Separ. Sci. and Technolog. – 2003 – Vol. 38, № 14. – P.3431-3447.
10. Влияние различных производных гелевых форм хитозана на уровень эндогенной интоксикации при деструктивной форме панкреатита / И.Н. Большаков [и др.] // Новые достижения в исследовании хитина и хитозана: Матер. VII междуна. Конф., С-Пб. – Репино, 15-18 сент. -2003. – М., 2003. – С. 144-148.
11. Синтез и характеристика комплекса *N*-салицилиден-глицинового шиффова основания с Fe(II), иммобилизованного хитозаном / Lang Hui-Yun [et al.] // Gaodeng xuexiao huaxun xuebao. – 2003. – Vol. 24, № 11. – P. 1937-1941.
12. Gupta, K. C. Drug release behavior of beads and microgranules of chitosan / Gupta K. C., Kumar M. N. V. Ravi // J. Appl. Polym. Sci. – 2000. – Vol. 76, № 5. – P. 672-683.
13. Bhadra, D. PEGylated peptide-based dendritic nanoparticulate systems for delivery of artemether / D.Bhadra, S.Bhadra, N. K. Jain // J. Drug Deliv. Sci. and technolog. – 2005. – Vol. 15, № 1. – P. 65-73.