

# У С П Е Х И Х И М И И

Т. XLVI

1977 г.

Вып. 8

УДК 547.99;541.12

## ХИТИН И ЕГО ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ

*Е. А. Плиско, Л. А. Нудьга, С. Н. Данилов*

Освещено современное состояние исследований в области природного полисахарида хитина и хитозана.  
Библиография — 225 ссылок.

### ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение . . . . .	1470
II. Строение и свойства хитина . . . . .	1470
III. Реакции в цепях макромолекулы хитина . . . . .	1473
IV. Получение хитозана и его свойства . . . . .	1476
V. Реакции в цепях хитозана . . . . .	1478
VI. Применение хитина, хитозана и их производных . . . . .	1481

### I. ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что хитин известен давно<sup>1, 2</sup> и широко представлен в природе, он до настоящего времени мало изучен. Интерес к хитину возрастает, что связано с общим развитием химии полисахаридов и синтетических полимеров. В последнее время появился ряд работ, касающихся производных хитина, представляющих практическую ценность. Значительно расширились исследования и по изучению свойств дезацетилированного хитина (хитозана). В связи с этим обобщение литературного материала представляет определенную ценность, тем более, что имеющиеся обзоры<sup>3—7</sup> недостаточно полно отражают достигнутые в этой области успехи.

### II. СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА ХИТИНА

Хитин находится в природе в организмах некоторых низших животных и растений, преимущественно у ракообразных<sup>8—11</sup>, насекомых<sup>12</sup> и в грибах<sup>13—15</sup>. Хитин всегда присутствует в сочетании с другими веществами<sup>16</sup>, такими, как белки, минеральные соли или полисахариды. Поэтому при его выделении в чистом виде хитинсодержащий материал обрабатывают соответствующими реагентами<sup>13, 17—19</sup>, которые разлагают побочные вещества и не затрагивают макромолекулу хитина. Растительный и животный хитин идентичны, что подтверждается данными химического состава<sup>20</sup>, удельным весом<sup>21</sup>, удельным вращением плоскости поляризации<sup>22</sup> и периодом идентичности при рентгеноструктурном анализе<sup>23</sup>.

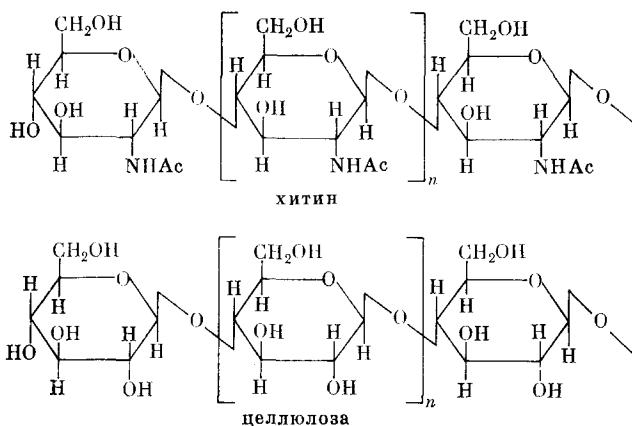
Хитин — один из наиболее распространенных полисахаридов в природе; только морские ракообразные ежегодно дают миллиарды тонн хитина<sup>24</sup>. Однако промышленное использование хитина затруднено из-за его рассредоточенности в природе.

### 1. Гидролиз хитина

При полном кислотном гидролизе хитина образуется глюкозамин и эквимолекулярное количество уксусной кислоты<sup>25</sup>. После гидролиза хитина 70—72%-ной серной кислотой при комнатной температуре в течение 2—3 дней удалось выделитьmonoацетилглюкозамин<sup>26</sup>. Это важное открытие дало возможность установить положение ацетильной группы в monoацетилглюкозамине. Цехмейстер с сотр.<sup>27, 28</sup>, проводя гидролиз хитина сверхконцентрированной соляной кислотой, получили не только конечный продукт гидролиза хитина — ацетилглюкозамин, но и ряд промежуточных фракций, при ацетилировании которых были получены октаацетат биозы и ацетат хитотриозы<sup>29</sup>. Авторы отмечают, что октаацетат биозы идентичен с октаацетатом хитобиозы, выделенным в<sup>30, 31</sup> путем ацетолиза хитина. Позже в работах<sup>32—36</sup> были получены при частичном гидролизе хитина концентрированной соляной кислотой N-ацетилхитоолигосахариды. Для разделения хитоолигосахаридов использовали тонкослойную<sup>37—39</sup>, ионообменную<sup>40</sup> хроматографию и другие методы<sup>41—43</sup>. Ацетолизом растительного и животного хитина получены октаацетат хитобиозы и ундекаацетат хитотриозы, тождественные для растительного и животного хитина<sup>35, 36, 44, 45</sup>.

Хитин очень устойчив к воздействию бактерий<sup>46</sup>, однако существуют микроорганизмы, разрушающие его<sup>47—49</sup>. В работах<sup>50, 51</sup> было показано, что под действием энзима хитиназы происходит гидролиз хитина с образованием до 80% ацетилглюкозамина. Аналогичный выход ацетилглюкозамина получается при расщеплении хитиназой растительного хитина<sup>52</sup>. Упомянутые выше данные позволяют считать, что хитин является однородным линейным полимером.

Сопоставление энергий активации гидролиза хитина азотной кислотой<sup>53</sup> и целлюлозы серной кислотой<sup>54</sup> и их периодов идентичности при рентгеноструктурном анализе<sup>23, 55—57</sup>, а также получение при ацетолизе хитина октаацетата хитобиозы и специфичность действия хитиназы указывают на то, что остатки N-ацетилглюкозамина соединены через кислород с β-глюкозидной 1,4-связью и поочередно повернуты на 180°; т. е. макромолекула хитина построена аналогично целлюлозе, но отличается от нее тем, что у C(2) вместо гидроксила имеется ацетамидная группа:



Окисление хитина периодатом также подтверждает указанную выше структуру<sup>58</sup>.

## 2. Надмолекулярная структура хитина

Многочисленные исследования структуры хитина<sup>59-71</sup> позволили сделать вывод о том, что хитин обладает высокоупорядоченной стереорегулярной структурой. Рентгенограмма его показывает хорошо очерченную орторомбическую решетку<sup>66</sup>. Цепи макромолекул хитина включены в сильные водородные связи, как по группам NH и CO, так и по оксигруппам<sup>68, 69, 72</sup>. Предложенная Карлстремом<sup>68</sup> кристаллическая структура подтверждается полученными в<sup>72</sup> данными по изучению ИК-спектра хитина. Детальный анализ этого спектра подтверждает межмолекулярную C=O...N—H водородную связь вдоль оси волокна и отсутствие в кристалле хитина свободных групп OH, NH и C=O, не включенных в водородную связь. Авторы считают, что OH-группа при C(6), которая имеет свободное вращение, может быть связана внутримолекулярной водородной связью с кислородом мостика и атомом азота в соседней глюкозаминной единице.

Рентгенографические исследования последнего времени<sup>4, 69, 73</sup> указывают на существование хитина в трех кристаллических формах ( $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ ), отличающихся размерами кристаллографической решетки. По данным<sup>74</sup>,  $\alpha$ -хитин является орторомбическим, его элементарная ячейка содержит фрагменты только двух цепей, идущих в противоположных направлениях. Все формы стабильны в кипящем 5%-ном растворе KOH или NaOH<sup>75</sup>, но при обработке их 6 N HCl происходит превращение  $\beta$ - и  $\gamma$ -формы в  $\alpha$ -форму<sup>75</sup>. Аналогичное превращение наблюдали и другие авторы<sup>11, 73</sup>.

## 3. Свойства хитина

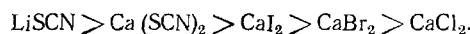
Несмотря на аналогию в строении хитина и целлюлозы, они существенно различаются. В отличие от целлюлозы хитин слабо набухает в растворах щелочей и не растворяется в растворителях, применяемых для целлюлозы (медноаммиачный комплекс, железо-винно-натриевый комплекс, гидроокись триэтилбензиламмония, кадмий-этилендиаминовый комплекс), что, вероятно, обусловлено отсутствием в хитине двух рядом стоящих гидроксильных групп, которые в случае целлюлозы ответственны за образование молекулярных соединений<sup>76, 77</sup>.

В то же время хитин сравнительно легко растворяется в концентрированных соляной и серной кислотах<sup>78, 79</sup>, из которых он может быть выделен почти без изменения<sup>80</sup>. Азотная и фосфорная кислоты также растворяют хитин<sup>81, 82</sup>. При растворении хитина в кислотах происходит постепенный гидролиз, в результате которого образуется соль глюкозамина. Растворы хитина являются левовращающими; в соляной кислоте уд. в. 1,16 начальное удельное вращение составляет —14,7° и конечное +56° (которое соответствует вращению образующегося соляно-кислого глюкозамина<sup>22</sup>). Ввиду того что растворы хитина в кислотах неустойчивы, их вязкость меняется во времени, поэтому невозможно определить истинное значение молекулярного веса методом вискозиметрии, осмометрии, светорассеяния или седиментации. Была сделана попытка оценить молекулярный вес хитина измерением его вязкости в 50%-ной азотной кислоте<sup>81</sup> и экстраполяцией этой вязкости к нулевому времени растворения. Сопоставляя полученные значения с аналогичными величинами вязкости древесной целлюлозы в медноаммиачном растворе, авторы<sup>81</sup> делают вывод о том, что хитин и древесная целлюлоза имеют сходные молекулярные веса; этот метод является приблизительным.

Метод медных чисел (определение содержания концевых альдегидных групп) был применен Итерсоном<sup>83</sup> для оценки степени полимери-

зации (СП) хитина. По его данным, СП хитина соответствует 103 единицам. Однако этот же метод, использованный в другой работе<sup>84</sup>, дал значение СП=66. Этот метод является относительно быстрым и может быть использован для характеристики изменения СП хитина. Однако он не дает однозначных результатов вследствие полидисперсности образцов и возможного окисления концевых альдегидных групп до карбоксильных. По данным других исследователей<sup>85-87</sup>, СП хитина колеблется от нескольких сотен до тысяч N-ацетилглюкозаминных остатков.

Хитин растворяется при нагревании в концентрированных растворах некоторых солей<sup>87, 88</sup>, причем по силе диспергирования соли располагаются в ряд<sup>88</sup>:

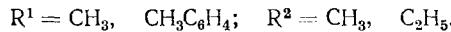
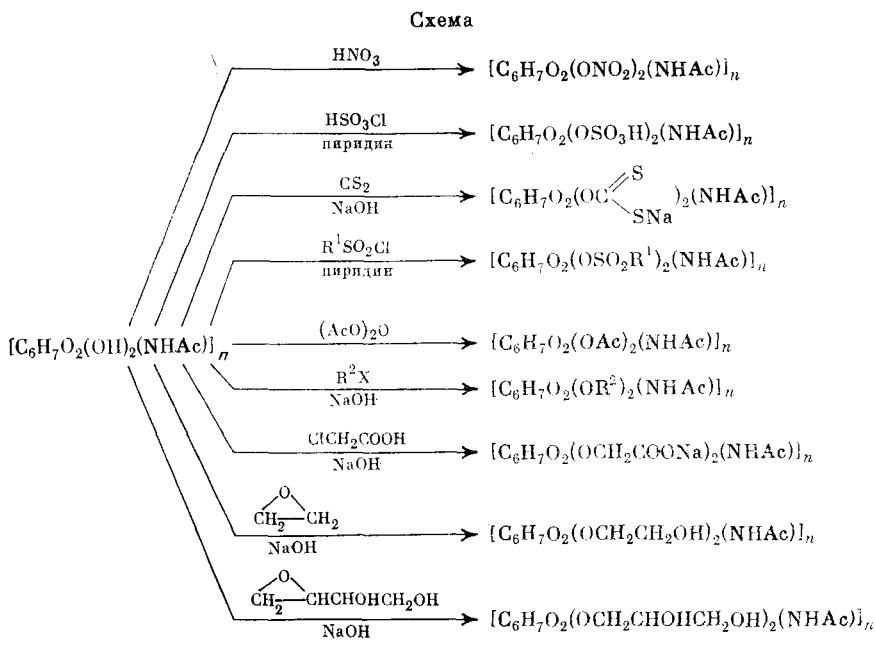


Частичное растворение хитина наблюдается в смесях диметилформамида с двуокисью азота<sup>89</sup>.

### III. РЕАКЦИИ В ЦЕПЯХ МАКРОМОЛЕКУЛЫ ХИТИНА

Хитин обладает меньшей реакционной способностью, чем целлюлоза, при химической его модификации; это связано с особенностями его надмолекулярной структуры — наличием в хитине более сильных водородных связей и меньшей активной поверхностью, что следует из определения количества незамерзающей воды<sup>90</sup> и измерения теплот набухания хитина и целлюлозы<sup>90</sup>.

В отличие от целлюлозы в хитине имеется только две гидроксильные группы, которые могут участвовать в химических превращениях и образовывать дизамещенные производные хитина. Однако вследствие их малой реакционной способности обычно полное замещение не достигается. Ниже приводится схема известных реакций модификации хитина:



## 1. Синтез сложных эфиров

Ацетаты хитина невозможно получить по методу<sup>91</sup> с применением хлорной кислоты в качестве катализатора. В<sup>92</sup> ацетилировали хитин действием уксусного ангидрида и сухого хлористого водорода в течение 120 час при комнатной температуре; была достигнута общая степень замещения 2,99 (с учетом ацетилов в исходном хитине). При такой степени замещения ацетат хитина растворяется в муравьиной кислоте и в 50%-ном водном растворе резорцина. При добавлении к раствору воды выпадает в осадок ацетилхитин. Концентрированные минеральные кислоты (серная, соляная) медленно растворяют ацетилхитин, но его не удается выделить из полученных растворов, так как происходит гидролиз. Концентрированная азотная кислота (уд. в. 1,50) очень быстро растворяет ацетилхитин, и он может быть выделен из раствора добавлением воды, причем происходит выпадение нитроацетилхитина, в котором содержится 2,14% нитроазота.

В<sup>53</sup> хитин ацетилировали в течение трех месяцев смесью уксусной кислоты и уксусного ангидрида в присутствии хлористого цинка; при этом получили ацетат хитина, содержащий 2,5 ацетильных групп. Препарат был сильно деструктирован.

В работе<sup>93</sup> проведено ацетилирование хитина, растворенного в фосфорной кислоте, в присутствии хлорной кислоты как катализатора и без нее. В присутствии 1%  $\text{HClO}_4$  за 4 час при 75° было введено 27,5% ацетильных групп, что соответствовало степени замещения 1,80; без катализатора максимальная степень замещения 1,70 была получена при 80°. Из этих данных видно, что в гомогенных условиях не происходило предельного замещения. Полученные эфиры растворялись в 50%-ном водном растворе резорцина, феноле, частично в *m*-крезоле.

Нитраты хитина впервые были получены в<sup>94</sup> нитрацией хитина дымящей азотной кислотой. Шорыгин и Хайт<sup>95</sup> подробно исследовали этот процесс и установили, что при нитрации одной азотной кислотой (уд. в. 1,50) в течение часа достигается максимальный выход нитрата хитина, содержащего 7,51% нитроазота, что соответствует замещению 1,5 гидроксильных групп. Полученный нитрат хитина воспламеняется при 163°, денитруется сульфидратом натрия в течение трех часов при 16°. Рентгенограмма показывает волокнистую структуру с таким же периодом идентичности, как и у хитина<sup>81</sup>.

Из органических растворителей нитрохитин частично растворяется только в муравьиной кислоте и может быть выделен из раствора добавлением воды. Нитрохитин растворяется также в серной и соляной кислотах, но не осаждается при добавлении воды.

Ксантогенат хитина впервые описан Тором и Хендersonом<sup>96–98</sup>. Авторы пропитывали хитин 43%-ным раствором  $\text{NaOH}$  при 25° в течение 2 час, затем смешивали его с толченым льдом и добавляли сероуглерод; при этом наблюдалась желатинизация, а затем и растворение хитина. Полученный раствор нестабилен, при комнатной температуре происходит дезацетилирование хитина и из раствора выпадает осадок ксантогената хитозана. Во избежание коагуляции растворов необходимо хранить при температуре ниже 0°. Растворы ксантогената хитина пригодны для получения нитей и пленок<sup>98</sup>.

Сернокислые эфиры хитина описаны в работах<sup>99, 100</sup>, авторы которых использовали для сульфирования хитина хлорсульфоновую кислоту и сульфирование проводили в разных средах. В пиридине<sup>99</sup> сульфирование проводили в течение 7 час, при этом было введено 14,4% серы. Проведение реакции в среде дихлорэтана<sup>100</sup> в течение

2 час приводило к получению сульфирированного хитина, содержащего, в зависимости от температуры, 13—15% серы. При таком содержании серы эфиры растворяются в воде. Методом осмометрии был определен молекулярный вес эфиров, который соответствовал величине 14 000—17 000, в зависимости от условий синтеза<sup>100</sup>. Для устранения возможной деградации макромолекулы хитина в качестве растворителя хлорсульфоновой кислоты предложено использовать формамид<sup>101</sup>.

Мезиловые и тозиловые эфиры<sup>102</sup> получены действием хлорангидридов метан- и *n*-толуолсульфокислот на хитин, предварительно активированный путем переосаждения из раствора в фосфорной кислоте, в присутствии сухого пиридина. Оптимальными условиями, при которых достигается максимальное содержание серы (10,22%) при тозилировании, являются соотношение хитин : тозилхлорид : пиридин = 1 : 10 : 50 и проведение реакции при комнатной температуре в течение 10 суток. Монотозиловому эфиру<sup>102</sup> соответствует содержание серы 8,98%. Для получения мономезилового производного хитина лучшими условиями являются соотношение хитин : мезилхлорид : пиридин = 1 : 10 : 40, комнатная температура и проведение синтеза в течение 7 суток<sup>102</sup>; при этом вводится до 12,57% серы (у мономезилового эфира хитина должно быть 11,4% серы).

## 2. Синтез простых эфиров

Метиловые эфиры, содержащие 9,34%  $\text{OCH}_3$ , были получены в<sup>103</sup> при 45-кратном метилировании алкалихитина диметилсульфатом. Предварительная активация хитина соляной кислотой и последующее 15-кратное метилирование в присутствии щелочи позволило повысить содержание метоксильных групп до 16,07%, что соответствует монометилхитину. Монометилхитин растворяется в муравьиной кислоте, сильно набухает и частично растворяется в ледяной уксусной кислоте.

Этиловые эфиры, содержащие 33,83%  $\text{OC}_2\text{H}_5$ -групп, что соответствует степени замещения 1,59, впервые получили<sup>104</sup> при действии на алкилхитин хлористого этила в течение 10 час при ступенчатом нагревании реакционной смеси до 130°. При синтезе эфира наблюдается гидролиз ацетильных групп в хитине. Полученный эфир содержит 2,04% свободных аминных, 2,75% гидроксильных и 4,53% ацетильных групп, что соответствует составу  $[\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_2(\text{OH})_{0,34}(\text{NH}_2)_{0,70} \cdot (\text{NHCOC}_2\text{H}_5)_{0,21}(\text{OC}_2\text{H}_5)_{1,59}]_n$ . Молекулярный вес полученного в<sup>103</sup> эфира, определенный в метилэтилкетоне методом седиментации в ультракардиографе, составляет 66 000. Этилированный хитин дает пленки прочностью 6,8—7,3 кг/мм<sup>2</sup> и с удлинением 15—23%.

Оксиэтиловые эфиры получают обработкой алкалихитина окисью этилена в гетерогенных<sup>104</sup> или гомогенных условиях<sup>16, 105</sup>. В гетерогенных условиях реакция протекает при более жестком режиме, чем в гомогенных. В обоих случаях для получения водорастворимых эфиров требуется значительный избыток окиси этилена. На основе оксиэтилового эфира получен нитрооксиэтиловый эфир хитина<sup>104</sup>, содержащий 5,71% нитроазота.

Глицериновые эфиры<sup>106</sup> синтезированы действием на алкилхитин монохлоргидрина глицерина или глицидола. При обработке хитина монохлоргидрином глицерина не было получено растворимого в воде эфира, несмотря на высокое содержание глицериновых остатков (до 49%). Полученный эфир, в отличие от исходного хитина, не растворялся даже в соляной и фосфорной кислоте, что свидетельствовало ошивке полученного эфира следами дихлоргидрина глицерина, при-

существующего в монохлоргидрине. При использовании для алкилирования хитина глицидного спирта получены эфиры, растворимые в 4- и 8%-ном едком натре.

Карбоксиметиловые эфиры в виде натриевых солей — (Na-KMX) описаны в работах<sup>107—110</sup>. Изучена кинетика карбоксиметилирования хитина, растворенного в щелочи<sup>108</sup>, и показано, что при повышении концентрации едкого натра до 15—20% и температуры до 20—30° скорость реакции резко возрастает. Однако при повышении температуры реакции наблюдается выпадение осадка из щелочного раствора из-за отщепления ацетильной группы и образования хитозана. Поэтому после окончания реакции карбоксиметилирования иногда проводят дополнительное ацетилирование реакционной смеси уксусным ангидридом при pH 10 в течение 2 час при комнатной температуре<sup>116</sup>. Для доказательства строения Na-KMX его подвергли периодатному окислению и кислотному гидролизу<sup>111</sup>. Хроматографический анализ продуктов гидролиза показал, что замещение в основном протекает по C(6); об этом же говорит и восприимчивость Na-KMX к периодатному окислению. При карбоксиметилировании<sup>108</sup> в гетерогенных условиях не происходит гидролиза ацетильных групп. При комнатной температуре реакция протекает наиболее полно и достигается степень замещения 0,8—1,0. Повышение температуры реакции до 40—60° ускоряет гидролиз монохлоруксусной кислоты, так что на основную реакцию приходится меньшее количество алкилирующего реагента.

В работе<sup>110</sup> описан новый способ получения карбоксиметилхитина, предлагающий предварительную активацию хитина диметилсульфоксидом. Таким путем синтезирован карбоксиметилхитин со степенью замещения 0,99, хорошо растворимый в воде. Подкислением Na-KMX разбавленным раствором соляной кислоты<sup>109</sup> получена хитино-гликоловая кислота, которая в отличие от целлюлозо-гликоловой кислоты<sup>112</sup> сильно набухает и частично растворяется в воде. Содержащий 6% Na и выше Na-KMX хорошо растворяется в воде. Водные растворы Na-KMX и H-KMX обладают полиэлектролитными свойствами, т. е. при разбавлении раствора наблюдается повышение приведенной вязкости<sup>113</sup>.

#### IV. ПОЛУЧЕНИЕ ХИТОЗАНА И ЕГО СВОЙСТВА

В многочисленных статьях<sup>34, 84, 114—117</sup> и патентах<sup>118, 119</sup> описано получение хитозана из хитина. Впервые хитозан был получен Гильсоном<sup>114</sup> путем сплавления хитина с едким кали при 180—190°; при такой обработке происходит гидролиз N-ацетильной группы. В патенте<sup>118</sup> предлагается более мягкий режим получения хитозана, заключающийся в нагревании хитина с 40%-ным едким натром при 110° в течение 4 час. Подробное исследование способов получения хитозана проведено в работе<sup>116</sup>. Автор отмечает, что при 135—140° дезацетилирование хитина в 40%-ном едком натре протекает медленно: через 24 час гидролизуется 60% ацетильных групп. В работе<sup>115</sup> описано дезацетилирование хитина при 120° в безводной среде, состоящей из едкого кали (50%), этианола (25%) иmonoэтilenгликоля (25%). Для получения желаемой степени дезацетилирования и соответственно вязкости реакцию проводят в течение определенного времени; при этом получают хорошо воспроизводимые данные<sup>115</sup>. Труднее происходит дезацетилирование хитина смесью едкого кали и гидроксилаамина<sup>120</sup>. При 100° и pH 13 в течение 10—20 час дезацетилируется примерно 70% ацетильных групп.

Дармон и Рудалл<sup>67</sup> проследили за изменением ИК-спектров при дезацетилировании хитина. В процессе образования хитозана умень-

шается интенсивность полос поглощения карбонила ( $1625 \text{ см}^{-1}$ ) и амидной группы ( $3265$  и  $3100 \text{ см}^{-1}$ ) и нарастает интенсивность полос при  $3365$  и  $3445 \text{ см}^{-1}$ , что свидетельствует о появлении  $\text{NH}_2$ -группы. Рентгенографические исследования хитозана показывают, что он имеет ту же кристаллическую решетку, что и хитин, но меньшую упорядоченность макромолекул<sup>64, 67</sup>. Хитозан, регенерированный в виде пленки в солевой или основной форме<sup>121</sup>, имеет рентгенограмму, характерную для аморфных веществ.

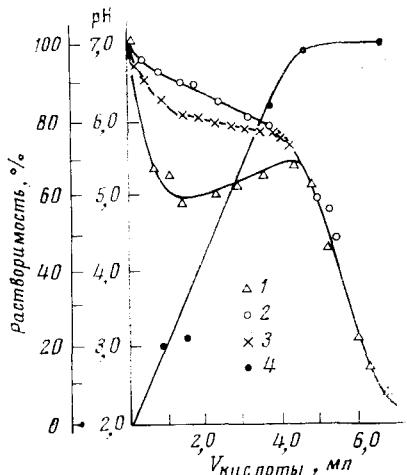


Рис. 1

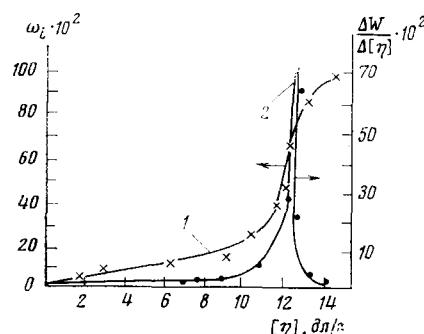


Рис. 2

Рис. 1. Кривые потенциометрического титрования хитозана: 1 — прямое титрование исходного хитозана; 2 — обратное титрование; 3 — прямое титрование переосажденного хитозана; 4 — растворимость

Рис. 2. Интегральная (1) и дифференциальная (2) кривые распределения хитозана по молекулярному весу;  $w_i$  — весовая доля фракции,  $W$  — суммарная весовая доля,  $[\eta]$  — характеристическая вязкость

Мы установили, что за изменением надмолекулярной структуры в процессе растворения хитозана можно проследить при его потенциометрическом титровании. При прямом потенциометрическом титровании исходного хитозана кислотой методом отдельных проб (рис. 1, кривая 1) кривая титрования имеет две экстремальные точки. Точка минимума при  $\text{pH } 4,9$  соответствует нейтрализации доступных аминных групп, после чего при добавлении кислоты происходит постепенное повышение  $\text{pH}$  до  $5,5$  (точка максимума кривой) в результате освобождения аминных групп, ранее связанных водородными связями. Эта точка соответствует полному растворению хитозана (рис. 1, кривая 4); при этом надмолекулярная структура разрушена и все аминные группы становятся доступными для титрования. Кривая обратного титрования (рис. 1, кривая 2) образует с кривой 1 гистерезисную петлю, площадь которой (при нанесении кривых зависимости  $\text{pH} - \lg \alpha / (1-\alpha)$  от  $\alpha$ , где  $\alpha$  — степень диссоциации) можно оценить энергию, затрачиваемую на разрушение структуры. Величина этой энергии, равная  $2,8 \text{ ккал/моль}$ , соответствует энергии разрыва водородных связей. При прямом титровании переосажденного хитозана (рис. 1, кривая 3) площадь гистерезисной петли значительно меньше, что говорит о неполном восстановлении межмолекулярных водородных связей при переосаждении.

На вязкость и, следовательно, молекулярный вес хитозана оказывают значительное влияние условия дезацетилирования хитина: в атмосфере инертного газа (азот, аргон) получается более высокомолекулярный хитозан<sup>122, 123</sup>. Хитозан в отличие от хитина растворяется в разбавленных растворах кислот, из которых он может быть выделен без изменения. Поэтому хитозан может быть легко охарактеризован по вязкости и полидисперсности. Исследование течения водных растворов солянокислого хитозана в капилляре показало<sup>124</sup>, что его растворы не обладают структурной вязкостью.

Аминная группа сообщает хитозану полиэлектролитные свойства, что было показано при изучении вязкости солянокислого хитозана<sup>124, 125</sup>. Найдено, что при достаточной ионной силе раствора приведенная вязкость становится линейной функцией от концентрации. Для полного подавления полиэлектролитного эффекта растворов хитозана в уксусной кислоте необходимо добавление хлористого натрия до концентрации 0,5 M; в соляной кислоте это достигается при концентрации кислоты 0,3 M.

Полидисперсность хитозана качественно показана при экстракции лиофилизированного хитозана спиртом<sup>122</sup>, в результате которой констатировалось уменьшение относительной вязкости. Распределение по молекулярным весам изучено путем фракционного осаждения хитозана из раствора в 2%-ной уксусной кислоте<sup>123</sup> ацетоном. Полученные интегральные и дифференциальные кривые распределения по молекулярному весу (рис. 2) указывают на сравнительную однородность хитозана.

## V. РЕАКЦИИ В ЦЕПЯХ ХИТОЗАНА

Наличие в хитозане двух гидроксильных и первичной аминной групп расширяет возможности его модификации. Особый интерес при синтезе производных хитозана представляет получение направленно замещенных соединений (синтез O- или N-производных). К разработанному ранее способу направленного синтеза сложного эфира хитозана (O- и N-сульфохитозаны)<sup>126</sup> в последнее время присоединился способ направленного синтеза простых эфиров (O-сульфоэтил- и O-карбоксиметилхитозана)<sup>127</sup>. Синтез селективно замещенных производных хитозана обеспечивает получение соединений с определенными свойствами, необходимыми в различных областях применения.

### 1. Синтез сложных эфиров

Сульфирование хитозана впервые осуществлено<sup>128</sup> смесью серного и сернистого ангидридов при температуре кипения смеси. Полученный эфир содержал 14,8% серы и обладал антикоагуляционной активностью *in vivo* и *in vitro*. В дальнейшем для сульфирования хитозана были применены хлорсульфоновая кислота в среде пиридина<sup>129</sup>, комплекс серный ангидрид — пиридин<sup>130</sup>, серная кислота<sup>131, 132</sup>. В последнем случае отмечалось получение полностью N-сульфированного хитозана<sup>132</sup>.

Авторы<sup>126</sup> разработали метод избирательного сульфирования хитозана путем применения реагентов и сред. При сульфировании комплекса пиридин — серный ангидрид в водно-щелочной среде при pH 9—10 они получили N-сульфохитозан, содержащий одну сульфаматную группу на каждую глюкозаминную единицу. При последующей обработке N-сульфохитозана смесью сернистого и серного ангидрида на холода было произведено O-сульфирование (замещалось 75% гидроксильных групп).

Авторы отмечают отсутствие антикоагуляционного действия у N-производного и высокую активность у O, N-производного хитозана.

**Фосфорилирование хитозана** осуществлялось действием хлорокиси фосфора при 40° в течение 5 час<sup>99</sup>. Авторы не указывают ни степени, ни места фосфорилирования.

**Ацетилирование хитозана** уксусным ангидридом при 100—135° в запаянной ампуле дает сильно деструктированный препарат, который по свойствам напоминает хитин<sup>133, 134</sup>.

**Ацилирование хитозана** действием муравьиной кислоты, пропионового и масляного ангидридов при 110—125° приводит к образованию соответствующих N-производных хитозана<sup>135</sup>. Аналогичное направление реакции имеет место при обработке алкалихитозана хлорангидридом бензойной кислоты, о чем свидетельствует нерастворимость образцов в разбавленной соляной кислоте.

**Сульфонирование хитозана** осуществлено реакцией хлорангидридов бензол- и нафталинсульфокислот с алкалихитозаном<sup>135</sup>. Полученные производные содержали около одной группы заместителя на глюкозаминное звено. Бензолсульфохитозан частично растворим в разбавленной соляной кислоте и легко растворим в щелочи, в отличие от нафталинсульфохитозана, трудно растворимого в щелочи.

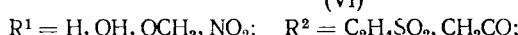
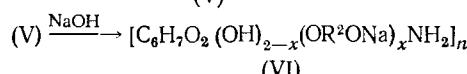
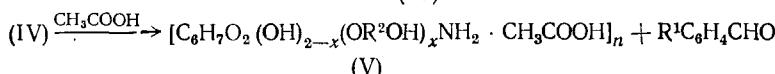
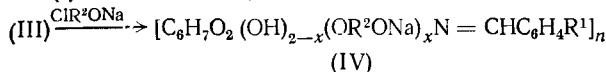
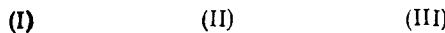
## 2. Синтез простых эфиров

При синтезе простых эфиров хитина в щелочной среде при отсутствии специальных мер в большей или меньшей степени происходит дезацетилирование. Поэтому конечным продуктом иногда являются соответствующие эфиры хитозана. Так, при синтезе этиловых<sup>103</sup>, карбоксиметиловых<sup>107</sup> и глицериновых<sup>108</sup> эфиров хитина степень дезацетилирования составляет 60% и более, вследствие чего в одном случае<sup>107</sup> конечный продукт назван карбоксиметилхитозаном. Одновременность процессов дезацетилирования и алкилирования не дает возможности считать полученные соединения только O-производными.

Получение эфиров хитозана с определенным положением заместителя требует введения N-защитных групп.

**Сульфоэтилирование хитозана**<sup>136</sup> проводилось β-хлорэтансульфонатом натрия в присутствии щелочи в среде изопропилового спирта и смесей о-ксилола с пропиловым и изопропиловым спиртом. Наибольшая степень замещения составляла 0,35. Определение положения заместителя по анализу аминного азота и кондуктометрическим титрованием показало, что имеет место как O-, так и N-сульфоэтилирование.

Для проведения направленного O-алкилирования хитозана аминная группа была защищена реакцией с ароматическим альдегидом, в результате которой образуется основание Шиффа<sup>127, 137</sup>:



$x$  — степень замещения. Хитозан в нейтральной среде обрабатывали соответствующим ароматическим альдегидом при комнатной температуре в течение трех часов. Салициловый альдегид, в отличие от бензойного, анисового и *o*-нитробензальдегида полностью реагирует с аминными группами хитозана. Салицилиденхитозан устойчив в щелочной среде, но разлагается в кислой среде на исходные составляющие. Сульфоэтилирование салицилиденхитозана осуществлялось в тех же условиях, в каких происходит сульфоэтилирование хитозана<sup>136</sup>. Полученный сульфоэтилсалицилиденхитозан разлагали 50%-ной уксусной кислотой и затем обрабатывали 2%-ным едким натром для перевода в основную форму. Конечный продукт являлся О-сульфоэтилхитозаном, что подтверждено анализом аминного азота по Ван-Слайку и кондуктометрическим титрованием; наибольшая степень замещения 0,31. Такой сульфоэтилхитозан растворим в воде и в 2%-ной уксусной кислоте; при меньшей же степени замещения — только в разбавленных кислотах. О-Карбоксилирование хитозана также осуществлялось через салицилиденхитозан<sup>127</sup> обработкой последнего монохлорацетатом натрия; при расходе 9 молей реагента на моль хитозана был получен монозамещенный карбоксиметилхитозан со свободными аминными группами.

Цианэтилхитозан получен реакцией алкалихитозана с акрилонитрилом при различных температурах<sup>138</sup>. Показано, что целесообразно вести реакцию при 20° в течение 24 час, так как при этом почти полностью замещаются обе оксигруппы при отсутствии гидролиза цианэтильных групп. Повышение температуры вызывает гидролиз цианэтильных групп, поэтому получаются производные с меньшей степенью замещения. Цианэтилирование в нейтральной среде не идет, в кислой среде за 24 час при 20° вводится по 0,31 цианэтильной группы на одно глюкозаминное звено.

### 3. N-Алкилирование хитозана

N-Метилирование хитозана проведено в<sup>135</sup> при нагревании порошкообразного хитозана с 10-кратным избытком иодистого метила при 100° в течение 6 час. Одна обработка далаmono-N-метилхитозан; последующие обработки не увеличили степени N-метилирования. Иодистоводородная соль mono-N-метилхитозана получена при обработке дважды метилированного хитозана иодистым метилом при 50° в течение 3 час.

N-Метилоксиэтилхитозан получен реакцией оксиэтилхитозана с иодистым метилом<sup>139</sup>.

N-Триметил- и N-триэтилхитозан синтезированы нагреванием хитозана до температуры кипения соответствующего иодистого алкила в абсолютном этаноле в присутствии органических оснований<sup>140</sup>. При этом действие органического основания тем эффективнее, чем выше его  $pK_a$ . В присутствии триэтиламина за одну обработку удалось получить почти полностью N-триметилированный хитозан, что подтверждается данными ЯМР-спектроскопии<sup>140</sup>. Спектр ЯМР полученного N-триметилхитозана содержит сигнал при 6,80 м. д., подтверждающий наличие азота в четырехзамещенном состоянии. Сигналы, отвечающие протонам при вторичном и третичном азоте, отсутствуют.

N-Триметил- и N-триэтилхитозан в солевой форме легко растворимы в воде, в форме основания — в гидроокиси триэтилбензиламмония. Иодиды четвертичных соединений нестойки, при хранении выделяют иод. N-Производные хитозана являются полиэлектролитами, основность их увеличивается с ростом степени замещения.

## VI. ПРИМЕНЕНИЕ ХИТИНА, ХИТОЗАНА И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Имеются многочисленные сведения о попытках применения хитина, хитозана и их производных в различных областях промышленности и медицины. При этом используются разнообразные свойства указанных соединений: способность к волокно- и пленкообразованию, к ионному обмену, комплексообразованию, а также физиологическая активность при отсутствии токсичности. Такое многообразие свойств соединений хитина и хитозана делает перспективным как синтез новых производных, так и практическое их использование.

### 1. Пленки и волокна на основе хитина и хитозана

Возможность образования пленок и волокон из дисперсии хитина была установлена уже в 1926 г.<sup>140, 141</sup>. Однако более тщательная разработка этого процесса была проведена позже в работе<sup>97</sup>, авторы которой получили пленки путем нанесения дисперсии ксантогената хитина на стеклянную подложку с последующей регенерацией хитина в коагуляционной ванне, содержащей 40% сульфата аммония и 5% серной кислоты в воде. Полученные пленки имели прочность на разрыв 9,49 кг/мм<sup>2</sup> в сухом и 1,75 кг/мм<sup>2</sup> во влажном состоянии. Пленки не набухали в воде, разбавленных кислотах и щелочах и в органических растворителях. Этот способложен в основу получения смешанных хитино-целлюлозных волокон через ксантогенаты хитина и целлюлозы<sup>142</sup>. Волокна обладают повышенной накрашиваемостью и по свойствам подобны рами. Волокно из частично гидролизованного хитина, полученное по способу<sup>97</sup>, имеет ионообменные свойства и может быть использовано для регенерации и очистки антибиотиков, аминокислот, и других органических кислот<sup>116</sup>.

Пленки из хитозана и его солей получают из кислотных или водных растворов<sup>143–145</sup>. Пленки отличаются высокой прочностью, стойкостью по отношению к щелочам и хорошими электротехническими свойствами<sup>121, 146</sup>. При ацетилировании таких пленок действием уксусной кислоты и дициклогексилкарбодиимида в щелочи или в воде, содержащей органическое основание, получены хитиновые пленки с высокой механической прочностью, жесткостью и прозрачностью<sup>147</sup>. Пленки из регенерированного хитина сохраняют свои свойства в течение 30 лет<sup>148</sup>.

Для получения волокон из хитозана Бао Чи Мин использовал раствор хитозана в уксусной кислоте с добавкой ацетата свинца, глицерина и спирта и осадительную ванну, содержащую щелочь, глицерин и сульфат натрия<sup>116, 149</sup>. Прочность такого волокна — 9—10,8 разрывных км, разрывное удлинение 30 %. Известен также способ получения волокна из смеси водных растворов хитозана и поливинилового спирта<sup>150</sup>. Полученное волокно окрашивается прямыми кислотными красителями и обладает малой электризуемостью. На пленкообразующих свойствах хитозана основано его применение в текстильной промышленности в качестве аппретирующего<sup>151</sup>, шлихтующего<sup>152</sup> и противоусадочного средства<sup>153</sup>, одновременно улучшающего накрашиваемость тканей<sup>154</sup>. Хитозан также может быть использован как загуститель в пастах для пигментного печатания тканей<sup>155–157</sup>. В бумажной промышленности хитозан используется как проклеивающий реагент<sup>158–160</sup>. Крафт-сополимер хитозана с 2-акриламидо-2-метилпропансульфоновой кислотой, с акриламидом или с акриловой кислотой добавляют в бумажную массу для улучшения печатных и механических свойств бумаги<sup>161, 162</sup>. При нанесении покрытия из хитозана на поверхность литографических бумаг<sup>163</sup> и фотобумаг<sup>164, 165</sup> улучшается восприимчивость бумаги к изображению и

стабильность последнего. При добавления хитозана в бумажную массу и при поверхностной обработке бумаги растворами хитозана наблюдается улучшение многих свойств бумаги: разрывной прочности, излома, сопротивления излому и продавливанию, а также прочности во влажном состоянии<sup>166</sup>. Такой же эффект достигается при введении в бумагу циан-этилхитозана или при поверхностной обработке бумаги растворами циан-этилхитозана; такие сорта бумаги обладают и улучшенными диэлектрическими свойствами<sup>167</sup>.

## 2. Анионообменники на основе хитозана

Анионообменные свойства хитозана, обусловленные наличием первичной аминной группы, вызвали интерес к нему как основе для получения анионообменных смол. Такие смолы получены при обработке хитозана формальдегидом<sup>168</sup> и эпихлоргидрином<sup>169, 170</sup> или при обработке хитина эпихлоргидрином с последующим дезацетилированием<sup>171, 172</sup>. Смолы на основе хитозана устойчивы к щелочам, имеют обменную емкость около 4 ммоль/г (по нейтральной соли). Эти смолы были применены для разделения на оптические изомеры DL-миндалевой кислоты<sup>171</sup>. Целлюлоза, импрегнированная формиатом хитозана<sup>173</sup>, и бумага, импрегнированная хитозаном<sup>174</sup>, используются для ионообменной хроматографии нуклеиновых кислот. Разделение на таких ионообменниках проходит лучше, чем на бумаге, пропитанной диэтиламиноэтилцеллюлозой.

## 3. Аналитическое применение хитина и хитозана

В последнее время хитин и хитозан получили применение в различных видах хроматографии для разделения производных нуклеиновых кислот<sup>175, 176</sup>, выделения лизоцима яичного белка<sup>177, 178</sup>, для разделения вируса табачной мозаики<sup>179</sup>. С помощью хитина или хитозана осуществляется фракционирование агара по степени сульфирования<sup>180</sup> за счет образования комплекса с высокосульфированной частью агара.

Коллоидное титрование хитозана<sup>139</sup> и гликольхитозана<sup>181</sup> используется для определения пектина и пектиновой кислоты, оксиэтил- и метилоксиэтилхитозана — для определения лигносульфоновой кислоты<sup>182</sup>.

На способности хитозана образовывать полимерные комплексы с ионами тяжелых металлов основано его применение для анализа их содержания в сточных водах, морской воде и водных рассолах<sup>183—185</sup>. В качестве хроматографического твердого носителя хитозан был использован для селективного извлечения и накопления ионов Hg, Co, Au, Sb, Ag, Cr, Fe, Zn, Ir, Pd, Cu, Cd, Ni, Pb<sup>183, 184, 187—189, 192</sup>. Радиационная устойчивость хитозана при сохранении хелатообразующих свойств позволила предложить его для концентрирования отходов ядерного топлива<sup>185, 190, 191</sup>. Подробный обзор этих работ приведен в монографии<sup>7</sup>.

## 4. Применение хитозана и его производных в медицине

Имеются немногочисленные сведения о перспективности использования хитозана для лечения и диагностики различных заболеваний. Этому способствует низкая токсичность хитозана и его производных даже в больших дозах<sup>196</sup>.

Начало работам в этом направлении было положено исследователями по использованию сульфохитина и сульфохитозана в качестве антикоагулянта крови. По активности указанные соединения сравнимы с природным антикоагулянтом гепарином<sup>197—200</sup>. При изучении влияния строе-

ния сульфохитозана (O- и N-сульфопроизводные) на антикоагуляционную активность было отмечено, что она проявляется только при сульфировании всех аминогрупп и быстро возрастает при увеличении степени O-сульфирования<sup>201</sup>. Введение карбоксильных групп путем окисления сульфата хитозана способствует повышению его активности. При внутривенном введении хитозана существенен его молекулярный вес: снижение последнего уменьшает токсичность препарата<sup>129</sup>. Сульфированием пленок из хитозана получены антитромбогенные поверхности, задерживающие коагуляцию крови<sup>202</sup>. Антикоагуляционной активностью обладают также комплексы хитозана с гепарином и сульфатом декстрана<sup>203, 204</sup>.

Другое направление исследований — применение хитозана для залечивания язвы желудка, основанное на его антацидном действии<sup>205</sup> и способности подавлять активность пепсина<sup>206</sup>. Предложен состав, содержащий хитозан, который рекомендуется при повышенной кислотности<sup>207</sup>. Композиции на основе хитина ускоряют заживление ран при нанесении на пораженную поверхность<sup>208, 209</sup>. В одной из работ<sup>210</sup> отмечено антисклеротическое действие сульфата хитозана, обусловленное активацией липопротеинлипазы<sup>211</sup>. В ряде работ отмечается влияние хитозана на активность некоторых ферментов: ингибиование дезоксирибонуклеазы<sup>212</sup>, активация гиалуронидазы<sup>213</sup> и β-глюкуронидазы<sup>214</sup>. Физиологической активностью обладает и комплексная соль хитозана с 1,4-лактоном D-глюкаровой кислоты<sup>215</sup>.

В последнее время появились сообщения об исследованиях по применению хитозана для ингибирования роста<sup>212</sup> и для разрушения клеток<sup>216</sup> некоторых видов злокачественных опухолей. Комплекс хитозана с иод-дезоксицитидиловой кислотой избирательно проникает в раковые клетки, что облегчает диагностику раковых заболеваний<sup>217</sup>. Хитозан селективно агрегирует клетки L 1210 лейкемии *in vitro*<sup>218</sup>.

## 5. Другие области применения хитина и хитозана

Отдельные сообщения свидетельствуют о полезности хитина, хитозана и их производных в самых различных областях хозяйства. В добывающей промышленности сульфат хитина, карбоксиметилхитин и карбоксиэтилхитин применяют для приготовления бурильных масс<sup>219</sup>, водорастворимые соли этих производных пригодны для образования цементирующих материалов<sup>220</sup>. В красильной промышленности частично дезацетилированный хитин используется для улучшения накрашиваемости стеклянных<sup>221</sup> и синтетических<sup>222</sup> волокон. В косметической промышленности тонко измельченный хитин добавляют в кремы, желе и другие косметические средства<sup>223</sup>. В пищевой промышленности хитозан используется для осветления растительных соков и экстрактов<sup>224</sup>. Хитозан предложен также для коагуляции муты в различных водных средах<sup>225</sup>.

## ЛИТЕРАТУРА

1. H. Bracconot, Ann. Chim., 79, 265 (1811).
2. A. Odier, Mem. Soc. Hist. Nat. (Paris), 1, 29 (1823).
3. К. Гесс, Химия целлюлозы и ее спутников, Госхимтехиздат, Л., 1934, стр. 67.
4. J. Conrad, Encycl. Polym. Sci. Technol., 3, 695 (1964).
5. J. Teng, W. L. Wistler, Phytochemistry, 1, 249 (1973).
6. A. B. Foster, J. M. Webber, Adv. Carbohyd. Chem., 15, 371 (1960).
7. R. A. A. Muzzarelli, in: Intern. Series of Monographs in Anal. Chem., v. 55, p. 83, 1973.
8. C. M. Jonge, Sci. Progress, 32, 644 (1938).
9. C. M. Jonge, Proc. Roy. Soc., B8, 769, 298 (1932).
10. E. Knecht, E. Hibbert, J. Soc. Dyers and Colour, 42, 343 (1926).
11. K. M. Rudall, Symposia Soc. Exptl. Biol., 9, 49 (1955).
12. A. Odier, Berz. Jahress., 4, 247 (1832).

13. E. Scholl, Monatsh., 29, 1023 (1908).
14. J. W. Foster, The Chemical Activities of Fungi, Acad. Press, N. Y., 1949, p. 90.
15. J. Karkocka, Roczn. Panstw. Zakl. Iwigo., 19, 307 (1968).
16. T. Okujama, Protein Nucleic Acid Enzyme, 15, 47 (1970).
17. R. H. Hackman, Austral. J. Biol. Sci., 7, 168 (1954).
18. A. B. Foster, M. Stacey, J. M. Webber, J. Chem. Soc., 1958, 2218.
19. G. Richards, Science, 109, 591 (1949).
20. H. Brach, Biochem. Ztschr., 38, 462 (1912).
21. B. J. Sollas, Proc. Roy. Soc., 79, 474 (1907).
22. J. C. Irvine, J. Chem. Soc., 95, 564 (1909).
23. H. W. Conell, Z. Physiol. Chem., 152, 18 (1926).
24. M. V. Tracey, Rev. Pure Appl. Chem., 7, 1 (1957).
25. Синтезы органических препаратов, сб. IV, ИЛ, 1953, стр. 140.
26. S. Fränkel, A. Kelly, Monatsh., 23, 123 (1902).
27. L. Zechmeister, G. Toth, Ber., 64, 2028 (1931).
28. L. Zechmeister, W. Grossmann, Ber., 65, 1706 (1932).
29. L. Zechmeister, G. Toth, Там же, 65, 161 (1932).
30. M. Bergmann, L. Zervas, E. Silberkweit, Naturwiss., 19, 40 (1931).
31. M. Bergmann, L. Zervas, E. Silberkweit, Ber., 64, 2436 (1931).
32. J. A. Rupley, Biochem. Biophys. Acta, 83, 245 (1964).
33. J. A. Rupley, V. Gates, Proc. Nat. Acad. Sci., 57, 496 (1967).
34. S. T. Horovitz, S. Rosemann, H. J. Blumenthal, J. Am. Chem. Soc., 79, 5046 (1957).
35. L. Zechmeister, G. Toth, Z. Physiol. Chem., 223, 53 (1934).
36. L. Zechmeister, G. Toth, Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe, 2, 212 (1939).
37. B. Capon, R. L. Foster, J. Chem. Soc., C, 1970, 1654.
38. U. Zchavi, R. W. Jenloz, Biochem. Prepr., 13, 14 (1971).
39. M. Takeda, T. Tomida, Suisan Daigakko Kenkyu Hokoku, 17, 143 (1969); РЖБиол., 1970, 4Ф96.
40. Б. И. Максимов, В. А. Мосин, Изв. АН СССР, сер. хим., 1969, 2579.
41. M. A. Raftery, T. Rand-Meir, F. W. Dahlquist, S. M. Parsons, C. L. Borders, jr., R. G. Welcott, W. Beranek, jr., L. Jao, Anal. Biochem., 30, 427 (1969).
42. R. C. W. Berkeley, S. J. Brewer, J. M. Ortiz, Там же, 46, 687 (1972).
43. Б. И. Максимов, В. А. Мосин, Авт. свид. СССР № 319607 (1963); Бюлл. изобр., 1971, № 33, 78.
44. L. Zechmeister, J. Pinczesi, Z. Physiol. Chem., 242, 97 (1936).
45. G. Toth, Там же, 263, 224 (1940).
46. E. Abderhalden, K. Heins, Biol. Z., 259, 320 (1933).
47. Ф. И. Конн, Е. М. Маркианович, ДАН СССР, 72, 859 (1950).
48. Б. Л. Исаченко, Природа, 1939, № 2, 97.
49. Б. И. Алешина, Микробиология, 8, 7 (1938).
50. P. Karrer, G. von Francois, Helv. Chim. Acta, 12, 986 (1929).
51. P. Karrer, Koll. Z., 52, 304 (1930).
52. L. Zechmeister, G. Toth, F. Vayda, Enzymologia., 7, 170 (1939).
53. K. H. Meyer, H. Wehrly, Helv. Chim. Acta, 20, 353 (1937).
54. K. Freidenberg, G. Blomqvist, Ber., 68, 2070 (1935).
55. R. O. Herzog, Naturwiss., 12, 955 (1924).
56. K. H. Meyer, H. Mark, Ber., 61, 1936 (1928).
57. G. Iterson, K. H. Meyer, W. Lotmar, Rec. trav. chim., 55, 61 (1936).
58. R. Jeanloz, E. Forchielli, Helv. Chim. Acta, 33, 1690 (1950).
59. A. Möhring, Wiss. und Ind., 1, 50 (1922).
60. A. Möhring, Kolloidchem. Beih., 23, 162 (1926); Chem. Zbl. 2, 2532, 1926.
61. J. M. Diehl, G. Iterson, Koll. Z., 73, 142 (1935).
62. E. S. Castle, J. General Physiol., 19, 797 (1936).
63. K. H. Gardner, J. Blackwell, J. Polym. Sci., C, 36, 327 (1971).
64. G. L. Glark, A. K. Smith, J. Phys. Chem. 40, 863 (1936).
65. E. Winterstein, Ber., 27, 3113 (1894).
66. K. H. Meyer, G. W. Pankov, Helv. Chim. Acta, 18, 589 (1935).
67. S. E. Darmon, K. M. Rudall, Disc. Faraday Soc., 9, 251 (1950).
68. D. Carlström, J. Biophys. Biochem. Cytol., 3, 669 (1957).
69. N. E. Dweltz, Biochim. Biophys. Acta, 44, 416 (1960).
70. N. E. Dweltz, Там же, 51, 238 (1961).
71. D. Carlström, Там же, 59, 361 (1962).
72. F. G. Pearson, R. H. Marchessault, C. G. Liang, J. Polymer Sci., 43, 101 (1960).
73. W. Lotmar, L. E. R. Picken, Experientia, 6, 58 (1950).
74. D. Carlström, Funct. Organ. Compound. and Dye, Proc. Int. Symp., Stockholm 1965, p. 15.
75. K. M. Rudall, J. Polym. Sci., C, 28, 83 (1969).
76. С. Н. Данилов, М. Г. Окунь, Ж. общ. химии, 24, 2153 (1954).

77. С. Н. Данилов, М. Г. Окунь, Там же, 26, 3005 (1956).
78. В. Толленс, К. Эльснер, Краткий справочник по химии углеводов, 1938, ГОНТИ, Л.—М., стр. 650.
79. K. H. Meyer, Natural and Synthetic High Polymers, Intersci. N. Y., 1950, p. 11.
80. G. Ledderhose, Z. Physiol. Chem., 2, 213 (1878).
81. K. H. Meyer, H. Wehrly, Helv. Chim. Acta, 20, 15 (1937).
82. С. Н. Данилов, Е. А. Плиско, Ж. общ. химии, 24, 1761 (1954).
83. G. Iterson, Koll. Z., 73, 142 (1935).
84. G. K. Curata, K. Sano, J. Japan. Biochem. Soc., 31, 153 (1959).
85. B. Irgensons, Natural Organic Macromolecules, Pergamon Press, Oxford — London — New York — Paris, 1962, p. 171.
86. G. M. Haynes, Chitin as Chemical Raw Material in Encycl. of Chem. Technology, ed. A. Standen, Suppl. 2, John Wiley N. Y.—London, p. 222, 1960.
87. R. H. Hackman, Austral. J. Biol. Sci., 13, 568 (1960).
88. P. P. Weimarn, Koll. Z., 40, 120 (1926).
89. G. G. Allan, P. G. Johnson, V.-Z. Lai, K. V. Sarkanen, Ind. and Chem., 1971, 127.
90. Н. И. Кленкова, Е. А. Плиско, Ж. общ. химии, 27, 399 (1957).
91. D. Krüger, E. Tschirch, Ber., 64, 1877 (1931).
92. P. P. Schorigin, E. W. Hait, Там же, 68, 971 (1935).
93. Е. А. Плиско, С. Н. Данилов, Химия и обмен углеводов, «Наука», М., 1965, стр. 142.
94. O. Führt, B. J. Soltas, Chem. Zbl., 2, 910 (1907).
95. P. P. Schorigin, E. W. Hait, Ber., 67B, 1712 (1934).
96. Пат. США 2168374 (1939); С. А., 33, 9671 (1939).
97. C. J. B. Thor, W. F. Henderson, Amer. Dyestuff Report., 29, 461 (1940).
98. C. J. B. Thor, W. F. Henderson, Там же, 29, 489 (1940).
99. P. Karrer, H. Koenig, E. Usteri, Helv. Chim. Acta, 26, 1296 (1943).
100. J. B. Cushing, R. V. Davis, E. J. Kratovil, D. W. Mac Corquodale, J. Am. Chem. Soc., 76, 4590 (1954).
101. Пат. США 2612499 (1952); С. А., 47, 3528 (1953).
102. С. Н. Данилов, Е. А. Плиско, Э. А. Плявинен, Изв. АН СССР, ОХН, 1961, 1500.
103. P. P. Schorigin, N. N. Makarova-Semljanskaja, Ber., 68, 969 (1935).
104. С. Н. Данилов, Е. А. Плиско, Ж. общ. химии, 28, 2217 (1958).
105. S. Okimatsu, J. Agr. Chem. Soc. Japan, 30, 36 (1956).
106. С. Н. Данилов, Е. А. Плиско, Ж. общ. химии, 24, 2071 (1954).
107. Швейц. пат. 136717 (1952); С. А., 47, 12420 (1953).
108. S. Okimatsu, J. Agr. Chem. Soc. Japan, 32, 303 (1958).
109. С. Н. Данилов, Е. А. Плиско, Ж. общ. химии, 31, 469 (1961).
110. R. Trujillo, Carbohyd. Res., 7, 483 (1968).
111. T. Miyazaki, Y. Matsushima, Bull. Chem. Soc. Japan, 41, 2723 (1968).
112. S. F. Dickman, J. G. Jarrel, R. S. Voris, Ind. Eng. Chem., 45, 2287 (1953).
113. R. L. Darskus, D. O. Jordan, T. Kurucsev, M. L. Martin, J. Polym. Sci., A3, 1941 (1965).
114. E. Gilson, Ber., 28, 821 (1895).
115. P. Broussignac, Chim. et Ind. génie Chim., 99, 1241 (1968).
116. Бао Чи-Мин, Химические волокна, 1960, № 3, 39.
117. E. Löwy, Biochem. Z., 23, N 2, 47 (1910).
118. Пат. США 2040879 (1936); С. А., 30, 4598 (1936).
119. Англ. пат. 458839 (1936); С. А., 31, 3600 (1937).
120. M. Takeda, J. Schimonoseki, Univ. Fisch., 14, № 3, 173 (1966); РЖБиол., 1967, 8Ф57.
121. Е. А. Плиско, Л. А. Нуђига, Н. С. Шабанова, Ю. Г. Баклагина, Т. Н. Торопцева, С. Н. Канаева, Электротехнич. пром-сть. сер. хим. и физ. источников тока, вып. 7, 13 (1971).
122. C. V. Lusena, R. C. Rose, J. Fisheries Research Board of Canada, 10, 521 (1953).
123. Л. А. Нуђига, Е. А. Плиско, С. Н. Данилов, Ж. общ. химии, 41, 2555 (1971).
124. P. J. Van Duin, J. J. Hermans, J. Polym. Sci., 36, 295 (1959).
125. J. Nagata, T. Komatsu, T. Nakagawa, Repts. Progr. Polym. Phys. Japan., 11, 51 (1968).
126. D. T. Warner, L. L. Coleman, J. Org. Chem., 23, 1133 (1958).
127. Л. А. Нуђига, Е. А. Плиско, С. Н. Данилов, Ж. общ. химии, 43, 2752 (1973).
128. Англ. пат. 746870 (1956); С. А., 51, Р1258 (1957).
129. M. L. Wolfrom, T. M. Shen Han, J. Am. Chem. Soc., 81, 1764 (1959).
130. Швейц. пат. 326792 (1958); С. А., 52, 18245 (1959).
131. K. Nagasawa, Y. Tohira, Y. Juone, N. Tanoura, Carbohyd. Res., 18, 95 (1971).
132. K. Nagasawa, N. Tanoura, Chem. Pharm. Bull., 20, 157 (1972).
133. F. Hoppe-Seyler, Ber., 27, 3329 (1894).
134. O. von Furth, M. Russo, Beitr. Chem. Physiol. Pathol., 8, 163 (1906).
135. P. Karrer, S. M. White, Helv. Chim. Acta, 13, 1105 (1930).
136. Л. А. Нуђига, Е. А. Плиско, С. Н. Данилов, Ж. прикл. химии, 47, 872 (1974).

137. Е. А. Плиско, Л. А. Нудьга, С. Н. Данилов, Авт. свид. СССР № 325234 (1970); Бюлл. изобр., 1972, № 3, 72.
138. Л. А. Нудьга, Е. А. Плиско, С. Н. Данилов, Ж. общ. химии, 45, 1145 (1975).
139. S. Okimasu, J. Agric. Chem. Soc., Japan, 20, 29 (1956).
140. Л. А. Нудьга, Е. А. Плиско, С. Н. Данилов, Ж. общ. химии, 43, 2756 (1973).
141. G. Kunike, J. Soc. Dyers and Colorists, 42, 318 (1926).
142. J. Noguchi, O. Wada, S. Hirochi, S. Tokura, N. Norio, Kobunshi Kagaku, 30, 320 (1973).
143. Пат. США 2040880 (1936); С. А., 30, 4598 (1936).
144. Пат. США 2047220 (1936); С. А., 30, 6094 (1936).
145. Пат. США 2047218 (1936); С. А., 30, 6097 (1936).
146. Е. А. Плиско, С. Н. Данилов, С. С. Карпова, Н. С. Шабанова, Т. Н. Торопцева, С. Н. Каева, Авт. свид. СССР № 246811 (1965); Бюлл. изобр., 1969, № 21, 87.
147. Япон. пат. 7319213 (1973); С. А., 80, 72291 (1974).
148. J. Joffe, H. R. Hepburn, J. Mater. Sci., 8, 1751 (1973).
149. Bao Chi Ming, Faserforsch. und Textiltechn., 11, 320 (1960).
150. J. Minory, Polym. Appl., 15, 128 (1966).
151. R. Hillary, Modern Text. Mag., 38, 50 (1957).
152. Ф. И. Садов, Г. Б. Маркова, Текст. пром-сть, 14, № 10, 36 (1954).
153. Пат. США 2669529 (1954); С. А., 48, 6110 (1954).
154. Г. Е. Кричевский, Ф. И. Садов, Изв. ВУЗов, технол. текст. пром., 3, 102 (1961).
155. Ф. И. Садов, Текст. пром-сть, 1941, № 2, 52.
156. Ф. И. Садов, Е. О. Вильдт, Там же, 18, № 4, 38 (1958).
157. Япон. пат. 7002799 (1970); С. А., 73, 16203 (1970).
158. Пат. США 2047226 (1936); С. А., 30, 6097 (1936).
159. Пат. СССР 125127 (1959); С. А., 54, 11479 (1960).
160. G. G. Allan, G. D. Grosly, J. H. Lee, M. L. Miller, W. M. Reif, Proc. Symp. Man-Made Polym. Papermaking, 1972, 85; С. А., 79, 93664 (1974).
161. Пат. США 3709780 (1973); С. А., 78, 73868 (1973).
162. Пат. США 3770673 (1974); С. А., 80, 49534 (1974).
163. Англ. пат. 930765 (1963); С. А., 59, 11758 (1963).
164. Пат. США 3003875 (1958); С. А., 56, Р6827 (1962).
165. С. А. Бонгард, Н. В. Пругло, Ж. научн. и прикл. фотогр. и кинематogr., 18, № 2, 132 (1973).
166. Е. А. Плиско, В. Н. Баранова, Л. А. Нудьга, Авт. свид. СССР № 428053 (1972), Бюлл. изобр., 1974, № 18, 78.
167. Е. А. Плиско, В. Н. Баранова, Л. А. Нудьга, Авт. свид. СССР № 424933 (1979); Бюлл. изобр., 1974, № 15, 99.
168. А. А. Никольский, Ж. прикл. химии, 9, 1308 (1936).
169. J. Noguchi, S. Tokura, M. Ipotata, T. Asano, J. Chem. Soc. Japan, Ind. Chem. Soc., 68, 904 (1965).
170. Япон. пат. 24400 65 (1965); С. А., 64, Р6856 (1966).
171. J. Noguchi, J. Chem. Soc. Japan, Ind. Chem. Sec., 72, 796 (1969).
172. Япон. пат. 7139322 (1971); С. А., 76, 100682 (1972).
173. K. Nagasawa, H. Watanabe, A. Ogamo, J. Chromatogr., 47, 408 (1970).
174. K. Nagasawa, T. Kaneko, A. Ogamo, Seikagaku, 42, 255 (1970); С. А., 74, 38997 (1971).
175. M. Takeda, T. Tamida, Suisan Daigakko Kenkyo Hokoku, 20, 241 (1972); С. А., 77, 44968 (1973).
176. M. Takeda, T. Tomida, J. Shimonoseki Univ. Fish., 18, 36 (1969); РЖБиол., 1970, 21Ф45.
177. И. А. Черкасов, Н. А. Кравченко, Биохимия, 34, 1089 (1969).
178. И. А. Черкасов, Н. А. Кравченко, Там же, 35, 182 (1970).
179. P. M. Townsley, Nature, 191, 626 (1961).
180. G. G. Allan, P. G. Johnson, Y-Z. Lai, K. V. Sarkannen, Carbohydr. Res., 17, 234 (1971);
181. J. Hirota, J. Chem. Soc. Japan, Ind. Chem. Soc., 65, 1367 (1962); РЖХим., 1963, 23C74.
182. R. Senju, Bull. Chem. Soc. Japan, 26, 143 (1953).
183. R. A. A. Muzzarelli, O. Tubertini, Talanta, 16, 1571 (1969).
184. R. A. A. Muzzarelli, G. Reith, O. Tubertini, J. Chromatogr., 47, 414 (1970).
185. R. A. A. Muzzarelli, Water Res., 4, 451 (1970).
186. R. A. A. Muzzarelli, O. Tubertini, Mikrochim. Acta, 5, 892 (1970).
187. R. A. A. Muzzarelli, Anal. Chim. Acta, 54, 133 (1971).
188. R. A. A. Muzzarelli, L. Sipos, Talanta, 18, 853 (1971).
189. R. A. A. Muzzarelli, R. Rocchetti, G. Marangio, J. Radioanal. Chem., 10, 17 (1972).
190. R. A. A. Muzzarelli, B. Spalla, Там же, 10, 27 (1972).
191. R. A. A. Muzzarelli, O. Tubertini, Там же, 12, 431 (1972).
192. R. A. A. Muzzarelli, M. Marinelli, Inquinamento, 14, № 4, 27 (1972); С. А., 77, 117953 (1972).

193. Япон. пат. 7316683 (1973); С. А., 79, 45514 (1973).
194. M. S. Masri, M. Friechman, Environ. Sci. Technol., 6, 745 (1972); С. А., 77, 127209 (1972).
195. T. Koshijima, R. Tanaka, E. Muraki, A. Jamada, T. Jaku, Cellul. Chem. Technol., 2, № 2, 197 (1973).
196. K. Arai, F. Fujita, T. Kinumaki, Tokaiku Suisan Kenkyasho Kenkyu Hokoku, 1968, № 56, 89, С. А., 73, 86001 (1970).
197. T. Astrup, M. Volkert, Acta Physiol. Scand., 8, 215 (1944); С. А., 39, 4976 (1945).
198. J. Piper, Acta Pharmacol. et Toxicol., 2, 138 (1946); С. А., 40, 7415 (1946).
199. O. C. Barste, Acta Pharmacol. et Toxicol., 2, 367 (1946); С. А., 41, 3207 (1947).
200. R. Reber, Acta Haematol., 21, 31 (1959).
201. R. L. Wistler, M. Kosik, Arch. Biochim. Biophys., 142, 106 (1971).
202. И. Г. Кочнев, В. М. Молодкин, Б. В. Миедлишвили, Е. А. Плиско, Ж. прикл. химии, 46, 1141 (1973).
203. Y. Kikuchi, Makromol. Chem., 175, 2209 (1974).
204. Y. Kikuchi, H. Fukuda, Там же, 175, 3593 (1974).
205. J. W. Hilbardi, J. Doczi, P. B. Kierman, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 115, 1108 (1964).
206. Пат. США 3155575 (1964); РЖХим., 1966, 12Н379.
207. Пат. США 3257275 (1966); С. А., 65, 5311 (1966).
208. Англ. пат. 1252373 (1971); С. А., 76, 17797 (1972).
209. Пат. США 3632754 (1972); С. А., 76, 103743 (1972).
210. H. Fujita, Sogo Igaku, 13, 740 (1956); С. А., 54, 22997 (1960).
211. P. Bernfeld, T. F. Kelley, J. Biol. Chem., 238, 1236 (1963).
212. O. W. Regelson, M. Tunis, S. Kuhar, Acta Unio. Intern. contra Cancrum, 16, 729 (1960); С. А., 54, 23051 (1960).
213. M. Acino, Japan. J. Zool., 12, 527 (1960).
214. P. Bernfeld, H. C. Bernfeld, J. S. Nesselbaum, J. Am. Chem. Soc., 76, 4872 (1954).
215. А. Н. Аникеева, Е. А. Плиско, Л. А. Нудьга, Н. Н. Власов, Г. Б. Плисс, Авт. свид. СССР № 419529 (1971); Бюлл. изобр. 1974, № 10, 72.
216. M. Turlan, H. Moroson, Radiat. Prot. Sensitisation, Proc. II Int. Symp., 1969, 233; С. А., 73, 95157 (1970).
217. R. J. Woodman, Cancer Res., 28, 2007 (1968).
218. A. E. Sirika, R. J. Woodman, J. Natl. Cancer Inst., 47, 377 (1971); С. А. 75, 138825 (1971).
219. Пат. США 2670329 (1954); С. А., 49, 3520 (1955).
220. Пат. США 2782858 (1957); С. А., 51, 7698 (1957).
221. Пат. США 2961344 (1960); С. А., 55, 5900 (1961).
222. Франц. пат. 1284636 (1962); С. А., 58, 3546 (1963).
223. Франц. пат. 1552076 (1969); С. А., 71, 94692 (1969).
224. Пат. ГДР 1015764 (1957); С. А., 54, 15759 (1960).
225. Пат. США 3533940 (1970); С. А., 74, 15666 (1971).

Институт высокомолекулярных соединений  
АН СССР, Ленинград