

Фукоиданы — сульфатированные полисахариды бурых водорослей

А.И.Усов, М.И.Билан

*Институт органической химии им. Н.Д.Зелинского Российской академии наук
119991 Москва, Ленинский просп., 47, факс (499) 135–5328*

Описаны методы выделения и установления химического строения фукоиданов — сульфатированных полисахаридов бурых водорослей, — состав которых варьирует от простых фукансульфатов до сложных гетерополисахаридов. Представлены известные на сегодняшний день структуры таких биополимеров. Кратко рассмотрены разнообразные виды биологической активности фукоиданов. Библиография — 263 ссылки.

Оглавление

I. Введение: фукоиданы водорослей и фукансульфаты иглокожих	846
II. Методы структурного анализа фукоиданов	847
III. Отдельные представители фукоиданов водорослей	852
IV. Биологическая активность фукоиданов	855
V. Заключение	857

I. Введение: фукоиданы водорослей и фукансульфаты иглокожих

Бурые водоросли (Phaeophyceae) — крупный таксон (отдел) низших морских растений, насчитывающий свыше 1000 видов.^{1,2} Эти водоросли широко распространены в морях Мирового океана. Несколько видов бурых водорослей добывают из природных популяций в промышленных масштабах или выращивают на морских плантациях. Их употребляют в пищу либо подвергают химической переработке для выделения альгиновых кислот и их солей. Альгиновые кислоты представляют собой уникальные полисахариды, линейные молекулы которых построены из остатков β -D-маннурановой и α -L-гулурановой кислот.³ Они находят широкое применение в медицине, пищевой, биотехнологической и ряде других отраслей промышленности.⁴

Кроме альгиновых кислот все известные бурые водоросли содержат сульфатированные полисахариды, называемые фукоиданами.^{5,6} Главным компонентом молекул большинства из них служат остатки α -L-фукозы, этерифицированные серной кислотой. В состав фукоиданов часто входят и другие моносахариды — галактоза, манноза, ксилоза,

уроновые кислоты, — а также ацетильные группы. Подобные полисахариды не встречаются в других отделах водорослей и в наземных растениях, однако родственные биополимеры найдены в морских беспозвоночных (морских ежах и голотуриях), принадлежащих к типу иглокожих.⁷ Полисахариды животного происхождения содержат только фукозу и сульфатные группы, и в соответствии с принятой номенклатурой углеводов эти полисахариды называют фукансульфатами, в то время как термином «фукоиданы» обозначают более сложные по составу полисахариды, получаемые из водорослей.

Фукоиданы водорослей присутствуют в природных источниках в больших количествах и известны как весьма перспективные биологически активные биополимеры, практически лишенные токсических свойств.^{8,9} Наиболее подробно изучено их гепариноподобное (антикоагулянтное и антитромботическое) действие,^{10,11} однако не меньший интерес представляют и другие виды активности, такие как противовирусная, противовоспалительная, противоопухолевая, антиангиогенная, антиадгезивная и др. В последние годы наблюдается стремительный рост числа публикаций, посвященных биологическим свойствам фукоиданов. В то же время химические исследования этих полисахаридов развиваются заметно более медленными темпами. Как следует из опубликованных недавно обзорных статей^{12–17}, детальный структурный анализ фукоиданов водорослей все еще представляет значительные трудности. По этой причине структурное разнообразие фукоиданов до сих пор полностью не исследовано, а надежных корреляций между их химическим строением и биологическим действием установить не удается.

Первое упоминание о фукоиданах в литературе относится к 1913 г.,¹⁸ а первые сведения об их химическом строении

А.И.Усов. Доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией растительных полисахаридов ИОХ РАН. Телефон: (499) 137–6791; e-mail: usov@ioc.ac.ru

М.И.Билан. Кандидат химических наук, старший научный сотрудник той же лаборатории. Телефон: (499) 137–6791. Область научных интересов авторов: химия растительных полисахаридов.

Дата поступления 10 апреля 2009 г.

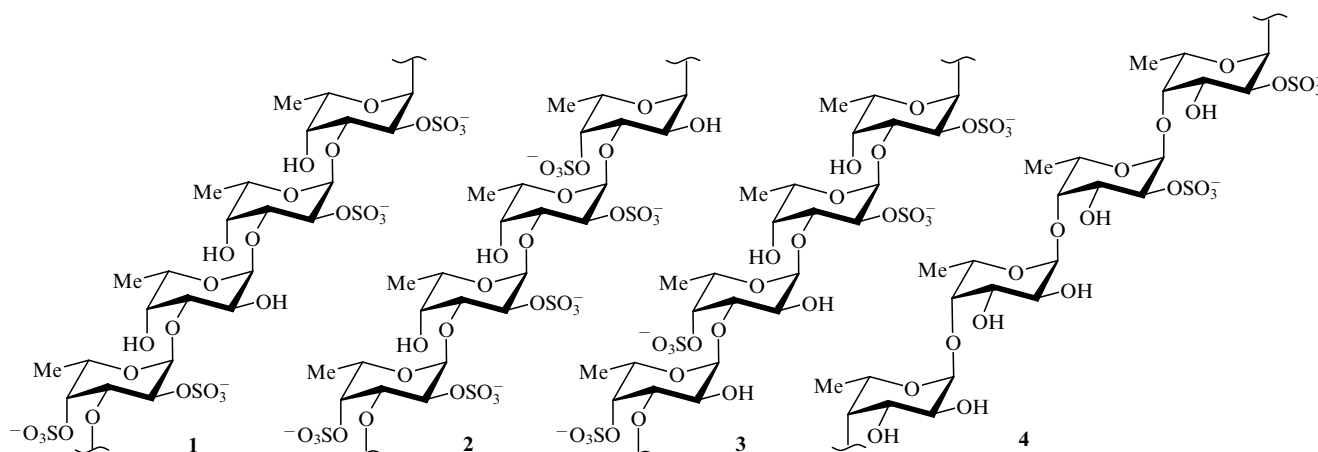


Рис. 1. Тетрасахаридные повторяющиеся звенья фукансульфатов иглокожих: голотурии *Ludwigothurea grisea* (1)⁷ и морских ежей *Lytechinus variegatus* (2),⁷ *Strongylocentrotus pallidus* (3),³⁰ *Arbacia lixula* (4).²⁷ Звенья различаются числом и расположением сульфатных групп, а также положением межмономерной связи: (1→3) в соединениях 1–3 и (1→4) в полисахариде 4.

появились около 60 лет тому назад.^{19, 20} Объектом исследования этих пионерских работ был фукоидан из *Fucus vesiculosus*, который в дальнейшем чаще всего использовали в биологических тестах. Методы структурного анализа, существовавшие в то время, позволили предложить несколько альтернативных структур (линейные и разветвленные, с разными типами связей между остатками фукозы и с различным расположением сульфатных групп),²⁰ выбор между которыми оказался затруднительным. Впоследствии строение этого фукоидана неоднократно пересматривалось по мере развития методов исследования структуры полисахаридов.^{21, 22} Однако даже в наши дни, несмотря на применение новейших мощных физико-химических методов, таких как спектроскопия ЯМР, установление химического строения фукоиданов продолжает оставаться трудной задачей. Это объясняется, с одной стороны, тем, что водоросли часто содержат сложные смеси различных по химической природе сульфатированных полисахаридов, которые не так просто разделить.^{23, 24} С другой стороны, это связано с особенностями структуры молекул фукоиданов, такими как высокая степень сульфатирования, разветвленность, и с отсутствием удобных способов их частичного расщепления на олигосахариды. Однако главные трудности возникают благодаря нерегулярному распределению отдельных структурных элементов вдоль цепи биополимера.

Особые свойства фукоиданов водорослей можно проиллюстрировать при их сравнении с фукансульфатами иглокожих. Фукансульфаты были выделены из стенки тела голотурий,^{7, 25, 26} где они, по-видимому, выполняют функцию, аналогичную сульфатированным гликозаминогликанам соединительной ткани позвоночных, а также из икры морских ежей,^{7, 27–30} где они образуют внешнюю студенистую оболочку (jelly coat) вокруг каждой яйцеклетки. В последнем случае фукансульфаты играют важную роль в процессе оплодотворения, обеспечивая узнавание яйцеклетки сперматозоидом и индуцируя развитие акросомной реакции.³¹ Неудивительно, что структуры фукансульфатов морских ежей обладают видовой специфичностью.

С химической точки зрения, известные фукансульфаты являются линейными полимерами α -L-фукозы, содержащими между моносахаридами только связи 1→3 (3-связанные) или 1→4 (4-связанные). Дальнейшие структурные

различия между ними обусловлены положением сульфатных групп. В простейших случаях все остатки фукозы сульфатированы одинаковым образом. Так, из морского ежа *Strongylocentrotus franciscanus* выделен полимер 3-связанного 2-сульфата α -L-фукозы,²⁹ а из *S. droebachiensis* — полимер 4-связанного 2-сульфата α -L-фукозы.³⁰ В более сложных случаях сульфатные группы расположены вдоль цепи таким образом, что образуются трисахаридные или тетрасахаридные повторяющиеся звенья, различные по структуре для разных видов морских ежей (рис. 1).^{7, 27–30}

Как и подобные полисахариды других классов, нативные фукансульфаты дают хорошо разрешенные спектры ЯМР, сложность которых обусловлена составом и строением олигосахаридных повторяющихся звеньев. Эти спектры могут быть полностью интерпретированы и служат главным инструментом для структурного анализа фукансульфатов иглокожих. Напротив, спектры ЯМР нативных фукоиданов водорослей, как правило, не поддаются непосредственной расшифровке и содержат либо плохо разрешенные уширенные сигналы, либо множество близких по химическим сдвигам узких сигналов, которые трудно отнести к определенным атомам.⁷ Такие спектры характерны для нерегулярных полимеров.

Целью данного обзора является обсуждение способов преодоления трудностей, связанных с установлением строения фукоиданов. Кроме того, представлены литературные данные о структурах и биологической активности фукоиданов, опубликованные в последние годы.

II. Методы структурного анализа фукоиданов

1. Обнаружение фукоиданов и определение их содержания

L-Фукоза — практически единственная 6-дезоксигексоза, присутствующая в бурых водорослях. Поэтому наличие фукоидана может быть обнаружено, а количественное содержание оценено по данным определения этого моносахарида в экстрактах с помощью специфической цветной реакции на 6-дезоксисахар (концентрированная серная кислота + гидрохлорид L-цистеина³²) или методом хроматографии после кислотного гидролиза образцов биомассы. Спектро-

фотометрическая методика, рекомендованная в популярном фикологическом руководстве³³, во многих случаях неприменима из-за наличия окрашенных веществ, экстрагируемых вместе с фукоиданами из биомассы водорослей. В соответствии с модифицированной методикой,^{34,35} такие примеси разрушают мягким окислением под действием хлорита натрия в слабнокислом растворе. Колориметрические измерения проводят после удаления из раствора продуктов окисления и реагентов диализом. В этом случае имеется опасность потерять часть фукоидана за счет неполной экстракции или в процессе диализа, поэтому спектрофотометрический метод часто дает заниженные значения содержания полисахарида по сравнению с хроматографическим определением фукозы после гидролиза биомассы. Тем не менее спектрофотометрическую методику можно успешно использовать в тех случаях, когда нужно получить сравнительные результаты для большой серии образцов.³⁴ Содержание фукозы в фукоиданах в среднем составляет ~50%, поэтому значения, полученные для фукозы и умноженные на 2, в первом приближении соответствуют содержанию фукоиданов.³³

В биологических экспериментах часто необходимо следить за поведением фукоиданов без их деструкции. С этой целью в молекулы полисахаридов вводят флуоресцирующие или радиоактивные метки (считается, что такая модификация при низких степенях замещения существенно не изменяет биологические свойства полимеров³⁶). Примером может служить конъюгат фукоидана из *Fucus vesiculosus* с флуоресцеинамином,³⁷ который иодировали радиоактивным ¹²⁵I. Полученный радиоактивный препарат успешно использовали для исследования специфического связывания фукоидана с проакрозином — основным белком, участвующим в процессе прикрепления сперматозоидов к яйцеклеткам млекопитающих.³⁸

Фукоиданы можно непосредственно обнаруживать и количественно определять с помощью иммунологических методов. Так, с использованием специфических антител было показано присутствие фукоидана из *Undaria pinnatifida* в плазме крови добровольцев, получавших с пищей исходную водоросль или обогащенные препараты этого полисахарида.³⁹ В работе⁴⁰ моноклональное антитело предложено в качестве реагента для количественного определения фукоидана из *Laminaria japonica* и для изучения его локализации в тканях водоросли. Авторы обнаружили, что полученное ими антитело реагировало с фукоиданом, выделенным не только из *Laminaria japonica*, но и из *Kjellmaniella gyrate*, однако не взаимодействовало с фукоиданом из *Undaria pinnatifida*.

2. Выделение фукоиданов

Фукоиданы хорошо растворяются в воде, поэтому их можно экстрагировать из водорослей водой⁴¹ или разбавленными кислотами^{42,43} при комнатной либо чуть повышенной температуре. В популярной методике^{44,45} используют 2%-ный водный раствор хлорида кальция, который превращает содержащийся в биомассе альгинат в нерастворимую кальциевую соль. Для облегчения экстракции предложено использовать протеолитические ферменты.^{46,47} Низкомолекулярные компоненты можно предварительно удалить обработкой биомассы органическими растворителями, например гомогенной смесью метанола, хлороформа и воды (4:2:1), которая эффективно растворяет как полярные, так и неполярные вещества, но оставляет нерастворенными био-

полимеры.⁴⁸ В качестве предварительной обработки описано²³ также выделение клеточных стенок.

Кроме фукоиданов, которые обычно представляют собой сложные смеси полианионных молекул, различающихся по составу и заряду, водные экстракты водорослей содержат ламинаран, водорастворимые альгинаты, белки, полифенолы и др. Фукоидан можно осадить из экстракта в виде нерастворимой соли с катионным детергентом, таким как бромид триметилцетиламмония (цетавлон, цетримид).^{44,45} В ряде случаев ступенчатое растворение осадка позволяет затем получить фракции, различающиеся по химической структуре,⁴⁵ но чаще всего осадок переводят в водорастворимую натриевую или кальциевую соль, а последующие процедуры очистки и фракционирования фукоидана выполняют с помощью анионообменной хроматографии. Наиболее популярными анионитами для этих целей служат ДЭАЭ-сефадекс,⁴⁹ ДЭАЭ-сефацель⁴⁴ и ДЭАЭ-сефароза,^{23,41,42} реже применяют ионообменные смолы;²⁴ в качестве элюентов используют солевые растворы возрастающей концентрации. Процесс разделения можно контролировать электрофорезом в тонком слое агарозного геля^{24,46,47} или на пластинках из ацетата целлюлозы.⁴² Более или менее гомогенные по заряду фракции иногда дополнительно очищают с помощью гель-проникающей хроматографии,⁴⁷ а затем используют для структурного анализа.

3. Определение состава

Для определения состава фукоиданов применяют те же методы, что и для других полисахаридов. Нейтральные моносахариды в кислотных гидролизатах идентифицируют и количественно определяют в виде ацетатов полиолов методом ГЖХ, используя в качестве внутреннего стандарта миоинозит.⁵⁰ Абсолютные конфигурации моносахаридов также можно установить с помощью ГЖХ. Для этой цели служат ацетилированные или триметилсилилированные гликозиды, получаемые по реакции моносахаридов с оптически активными спиртами (*втор*-бутанолом или *втор*-октанолом).^{51,52} В некоторых случаях более удобной представляется альтернативная методика восстановительного аминирования моносахаридов оптически активными аминами.⁵³

Уроновые кислоты идентифицируют с помощью анионообменной хроматографии⁵⁴ или электрофореза на бумаге^{46,47} и определяют количественно по цветной реакции с *m*-гидроксибифенилом⁵⁵ или 3,5-диметилфенолом.⁵⁶ Колориметрию используют также для определения ацетата,⁵⁷ тогда как сульфат определяют турбидиметрическим методом после кислотного гидролиза.⁵⁸

4. Предварительная характеристика

Для предварительной характеристики выделенного фукоидана можно использовать два физико-химических метода — ИК-спектроскопию и спектроскопию ЯМР.

ИК-Спектр дает информацию о присутствии сульфата (интенсивная широкая полоса поглощения при 1240–1260 см⁻¹). По аналогии со спектрами сульфатированных галактанов красных водорослей,^{59,60} менее интенсивные полосы поглощения при 850 и 830 см⁻¹ приписывают соответственно аксиальному и экваториальному вторичным сульфатам. Следовательно, ИК-спектр позволяет отличить сульфат при атоме О(4) от сульфатов при атомах О(2) и О(3) в остатке фукопиранозы.

Как уже упоминалось выше, спектры ЯМР нативных фукоиданов обычно слишком сложны⁶¹ и малоинформативны для анализа структуры. Тем не менее в таких спектрах можно надежно интерпретировать сигналы атомов углерода СН₃-групп фукопиранозы (в области $\delta \sim 16$ м.д.), фукофуранозы ($\delta \sim 18$ м.д.) и ацетата ($\delta \sim 21$ м.д.), СН₂ОН-групп гексоз ($\delta \sim 62$ м.д.) и СО-групп уроновых кислот и ацетатов ($\delta \sim 175$ м.д.).^{54,62} Описан⁶² единственный случай, когда спектр ЯМР ¹³С фукоидана (речь идет о высокосульфатированной фракции, выделенной из *Fucus distichus*) выглядит как спектр регулярного полимера, построенного из чередующихся остатков 3-связанного 2,4-дисульфата α -фукопиранозы и 4-связанного 2-сульфата α -фукопиранозы:[†] $[\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-2,4-di-S-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-Fucp-2-S-(1}\rightarrow)]_n$ (рис. 2,а).

При исследовании всех других фукоиданов водорослей для интерпретации спектров ЯМР требуются химические модификации, которые приводят к упрощению структуры, — например, отщепление неуглеводных заместителей и удаление боковых цепей из разветвленных молекул.⁶³

5. Дезацетилирование и десульфатирование

Фукоиданы можно дезацетилировать, не внося других изменений в структуру молекулы, обработкой водным гидроксидом аммония при комнатной или немного повышенной температуре.⁴⁹ Гораздо более сложную задачу представляет собой полное десульфатирование полисахарида.⁶⁴ Условия кислотного метанолиза, рекомендованные для сульфатированных гликозаминогликанов соединительной ткани животных, гликозидные связи которых довольно устойчивы к действию кислот,⁶⁵ для фукоиданов являются слишком жесткими.⁵⁴ Наиболее часто используют так называемое сольволитическое десульфатирование,⁶⁶ когда полисахарид в виде пиридиниевой соли нагревают в диметилсульфоксиде, иногда с добавками небольшого количества воды, метанола или пиридина.⁶⁷ К сожалению, при десульфатировании обычно теряется значительное количество исходного материала, а значит, недоступной становится информация о структуре деградированной части полимера. Другие методики десульфатирования, такие как сольволиз в условиях микроволнового облучения⁶⁸ или в присутствии органической кислоты и реагента, дающего прочные комплексы с SO₃,⁶⁹ обработка триметилхлорсиланом в пиридине⁷⁰ и частичный гидролиз в кислой среде,^{71,72} были предложены главным образом для других полисахаридов. В настоящее время трудно оценить, насколько они применимы для фукоиданов водорослей. Однако необходимо отметить, что авторам работы⁴⁵ удалось десульфатировать нагреванием с триметилхлорсиланом в пиридине полисахарид из *Adenocystis utricularis*, устойчивый к сольволитическому десульфатированию и даже к кислотному метанолизу.

Чрезвычайно привлекательным для получения информации о структуре является ферментативное десульфатирование полисахаридов. К сожалению, сульфатазы, действующие на фукоиданы, практически малодоступны. В качестве возможных источников ферментов, расщепляющих фукоиданы, в том числе сульфатаз, обычно рассматриваются морские

бактерии или морские беспозвоночные. С использованием специальной методики, основанной на определении освобождающегося сульфат-аниона методом капиллярного электрофореза,⁷³ было найдено, что пищеварительные железы морского моллюска *Pecten maximus* содержат сульфатазу, действующую на фукоидан из *Ascophyllum nodosum* и региоселективно удаляющую сульфат из положения 2 фукопиранозных остатков.⁷⁴ Действие этого фермента на другие фукоиданы не исследовалось. Другие моллюски, как двустворчатые, так и брюхоногие, а также многие представители других типов морских беспозвоночных часто содержат высокоактивные арилсульфатазы,^{75,76} однако последние обычно не способны десульфатировать фукоиданы. Морские бактерии более известны как источник фукоидаз (см. ниже).

6. Метод метилирования

В случае десульфатированных полисахаридов метилирование используют для определения положения связей между моносахаридами, тогда как сравнение продуктов метилирования десульфатированного и нативного фукоиданов дает сведения о положении сульфатных групп. Для метилирования полисахарида предпочтительной является простая методика⁷⁷, согласно которой полисахарид, растворенный в диметилсульфоксиде, обрабатывают измельченным гидроксидом натрия и метилиодидом. В этих условиях в метиловые эфиры превращаются как свободные, так и ацетилированные гидроксильные группы, тогда как сульфатные группы сохраняются. К сожалению, устойчивость сульфатов обычно не контролируют, хотя в литературе можно найти примеры непредсказуемой потери части сульфатных групп при метилировании.⁷⁸ Следует отметить, что часто полное метилирование высокосульфатированных полисахаридов достигается с большим трудом, поэтому данный метод для нативных фукоиданов, как правило, дает лишь приближенные количественные результаты. Для идентификации продуктов метилирования используют стандартные методики хромато-масс-спектрометрии.⁷⁹

7. Периодатное окисление

Большинство фукоиданов практически не окисляется периодатом из-за преобладания связей 1 $\rightarrow$ 3 между остатками фукозы и высокой степени замещения гидроксильных групп. В то же время для удаления разветвлений из десульфатированных молекул эффективно используют расщепление по Смиту.^{54,63} Полисахарид, который был получен в результате расщепления по Смиту десульфатированного фукоидана из *Analipus japonicus*, содержал линейные молекулы, построенные из (1 $\rightarrow$ 3)-связанных остатков α -L-фукопиранозы (см. рис. 2,с). Интересно отметить, что он практически не растворялся в воде, несмотря на невысокую молекулярную массу, вероятно, вследствие ярко выраженной склонности таких молекул к межмолекулярной ассоциации.⁶³

8. Получение олигомерных фрагментов фукоиданов

Отщепление сульфатных групп и гидролиз гликозидных связей под действием кислот происходят одновременно и с близкими скоростями, поэтому частичный кислотный гидролиз фукоиданов приводит к образованию сульфатированных производных фукозы и олигосахаридов, но с невысокими выходами. Предложены⁸⁰ методы разделения смесей изо-

[†] Здесь и далее для записи формул полисахаридов использованы стандартные трехбуквенные сокращения моносахаридных остатков, буквами *p* и *f* обозначены пиранозный и фуранозный циклы соответственно, буквой S — сульфатные группы, знаком Δ — двойная связь.

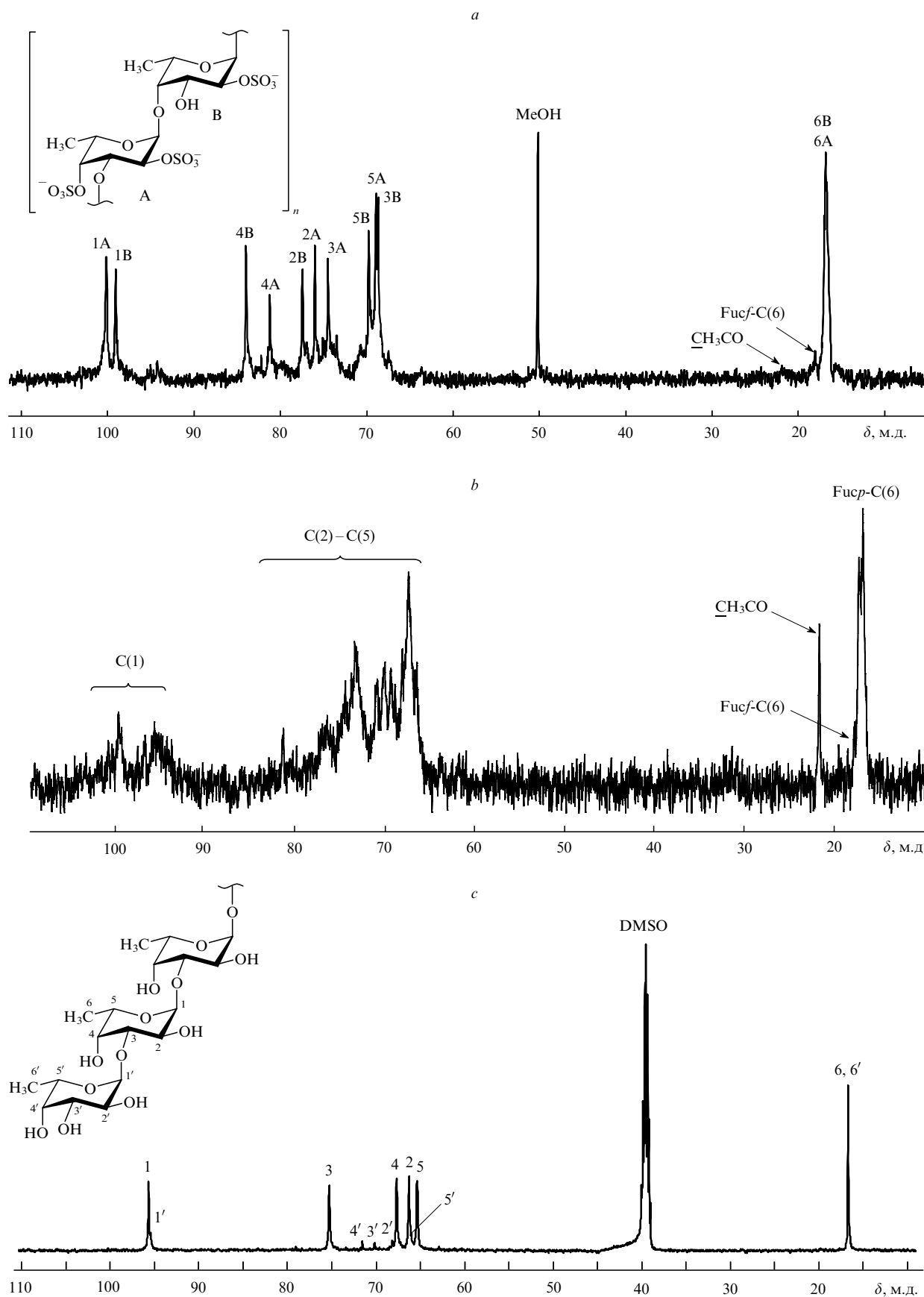


Рис. 2. Спектр ЯМР ^{13}C фукоидана из *Fucus distichus*,⁶² имеющего регулярную структуру (сигналы, соответствующие возможным незначительным отклонениям от регулярной структуры, показаны стрелками) (a), типичный спектр ЯМР ^{13}C нативного фукоидана водорослей (полисахарид из *Analipus japonicus*)⁶³ (b) и спектр ЯМР ^{13}C полисахаридного препарата, полученного в результате десульфатирования и последующего расщепления по Смитсу полисахарида из *Analipus japonicus* (c).⁶³

мерных моносulfатов фукозы с помощью капиллярного электрофореза с последующей масс-спектрометрической идентификацией. Для выделения сульфатированных олигофуканов применяли центрифужную распределительную хроматографию,⁸¹ а для их характеристики — масс-спектрометрию с ионизацией электрораспылением.⁸² Однако при этом не были оптимизированы условия с целью повышения выхода олигосахаридов.

Частичный кислотный гидролиз фукоидана из *Ascophyllum nodosum* позволил получить низкомолекулярные фракции, которые были проанализированы методами масс-спектрометрии, спектроскопии ЯМР и использованы для биологических тестов.^{82–84} Однако из гидролизата не были выделены индивидуальные олигосахариды. Недавно было найдено, что гидролиз под действием разбавленной кислоты регулярных фукансульфатов из двух видов морских ежей, *Lytechinus variegatus* и *Strongylocentrotus pallidus*, протекает в две стадии. Вначале отщепляются сульфатные группы из положения 2 тех остатков 2-сульфата фукозы, которые связаны с остатком 4-сульфата фукозы или к которым присоединен такой остаток. Затем расщепляются гликозидные связи десульфатированных остатков фукозы и образуются олигосахариды определенного размера.^{71, 72} Возможность применения такого подхода для специфического десульфатирования с последующей фрагментацией молекул фукоиданов водорослей предстоит выяснить в будущем.

Радикальную деполимеризацию под действием пероксида водорода в присутствии ионов двухвалентной меди использовали для частичного расщепления фукоиданов из *Ascophyllum nodosum*⁸⁵ и *Lessonia vadosa*.⁸⁶ В отличие от частичного кислотного гидролиза эта методика позволила получить фракции со средней молекулярной массой и довольно узким молекулярно-массовым распределением практически без десульфатирования или изменения состава, а также с более высоким выходом. Продукты реакции использовали при изучении биологической активности деполимеризованного фукоидана,⁸⁶ но индивидуальных олигосахаридов, важных для структурного анализа исходного полисахарида, выделить также не удалось.

Ферментативный гидролиз фукоиданов является наиболее многообещающим подходом, который приводит к олигосахаридам. В качестве возможных источников соответствующих ферментов выступают морские беспозвоночные и морские бактерии.^{14, 87, 88} Так, фукоиданаза, расщепляющая фукоидан с образованием сульфатированных олигосахаридов, была выделена из гепатопанкреаса морского двусторчатого моллюска *Patinopecten yessoensis*.⁸⁹ Фукоиданазная активность была найдена также в пищеварительных железах близкородственного моллюска *Pecten maximus*,⁹⁰ однако оказалось, что очищенный фермент является экзо- α -L-фукозидазой, которая способна отщеплять от полисахаридов только терминальные остатки α -L-фукопиранозы. Используя этот фермент, удалось снизить молекулярную массу фукоидана из *Ascophyllum nodosum* и проанализировать расщепленный полисахарид методом спектроскопии ЯМР.⁹¹

При исследовании большого числа морских беспозвоночных фукоиданазная активность была обнаружена в брюхономом моллюске *Littorina kurila*.⁷⁵ Частично очищенный фермент гидролизовал полисахариды из *Laminaria cichorioides* и *Fucus evanescens*⁹² с образованием нескольких олигосахаридов и фукозы. Однако когда в качестве субстрата был использован высокорегулярный фукоидан из *Fucus distichus*, в продуктах реакции не было найдено ни фукозы, ни низкомолекулярных олигосахаридов. Кроме фракции, кото-

рая выглядела как неизмененный исходный материал, была получена с небольшим выходом полимерная фракция с меньшей молекулярной массой. В составе этой фракции было обнаружено повышенное содержание звеньев, отклоняющихся от регулярной структуры (ацетилованных и неполностью сульфатированных).⁹³

Для структурного анализа фукоиданов бактериальные ферменты считаются более перспективными, чем ферменты моллюсков. Многие морские бактерии обладают фукоиданазной активностью,^{87, 94} например *Pseudoalteromonas citrea* (см.^{88, 95}). Как правило, чтобы использовать бактериальный фермент для частичного расщепления конкретного фукоидана, приходится начинать с поиска подходящего штамма бактерий. Далее этот штамм выращивают на выбранном фукоидане как субстрате, после чего фермент можно выделить из бактериальных клеток или культуральной жидкости.

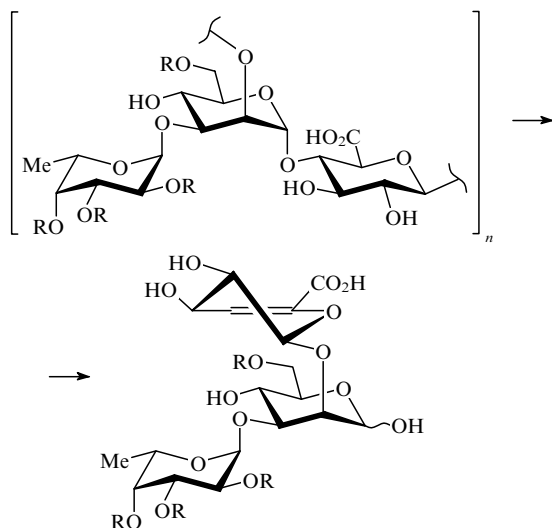
Так, бактерия из семейства Flavobacteriaceae, секретирующая эндо-фукоидангидролазу, была найдена в осадках сооружения для очистки сточных вод при производстве альгината. Препарат внеклеточного фермента использовали для расщепления фукоидана из бурой водоросли *Pelvetia canaliculata*.⁹⁶ В результате были получены тетрасахарид и гексасахарид, содержащие повторяющиеся дисахаридные единицы $\rightarrow 3$)- α -L-Fucp-2-S-(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-Fucp-2,3-di-S-(1 $\rightarrow$). Далее фермент был очищен до электрофоретически гомогенного состояния, удалось клонировать и секвенировать соответствующий ген и наработать белок с помощью *Escherichia coli*. Установлено,⁹⁷ что фуканаза расщепляет только связи 1 $\rightarrow$ 4 в регулярной полисахаридной молекуле [$\rightarrow$ 4)- α -L-Fucp-2,3-di-S-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-Fucp-2-S-(1 $\rightarrow$)]_n.

Еще две морские бактерии, утилизирующие фукоидан, были успешно использованы для структурного анализа полисахаридов. Одна из них, *Fucophilus fucoidanolyticus*, была выделена из пищеварительных органов трепанга *Stichopus japonicus* и выращена в среде, содержащей фукоидан из *Cladosiphon okamuranus*.⁹⁸ Затем этот фукоидан расщепляли под действием внутриклеточного бактериального фермента и получили серию олигосахаридов с общей структурной формулой { $\rightarrow$ 3)- α -L-Fucp-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-Fucp-4-S-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-Fucp-4-S-(1 $\rightarrow$ 3)-[α -D-GlcpA-(1 $\rightarrow$ 2)]- α -L-Fucp-(1 $\rightarrow$)}_m-3)- α -L-Fucp-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-Fucp-4-S-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-Fucp-4-S-(1 $\rightarrow$ 3)-L-Fuc (m = 0, 1, 2, 3), установленной с помощью спектроскопии ЯМР. Основываясь на этих данных, для фукоидана из *Cladosiphon okamuranus* была предложена⁹⁹ регулярная структура с разветвленным пентасахаридным повторяющимся звеном $\rightarrow 3$)- α -L-Fucp-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-Fucp-4-S-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-Fucp-4-S-(1 $\rightarrow$ 3)-[α -D-GlcpA-(1 $\rightarrow$ 2)]- α -L-Fucp-(1 $\rightarrow$).

Фермент с другим типом активности, фукоглюкурономаннанлиаза, был найден в бактерии *Fucobacter marina*.¹⁰⁰ Когда внеклеточными ферментами этой бактерии обрабатывали фукоидан из бурой водоросли *Kjellmaniella crassifolia*, образовалось три трисахарида: $\Delta^{4,5}$ GlcpA-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-Fucp-3-S-(1 $\rightarrow$ 3)]-D-Man, $\Delta^{4,5}$ GlcpA-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-Fucp-3-S-(1 $\rightarrow$ 3)]-D-Man-6-S и $\Delta^{4,5}$ GlcpA-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-Fucp-2,4-di-S-(1 $\rightarrow$ 3)]-D-Man-6-S. Они содержали на невосстанавливаемом конце остаток 4,5-ненасыщенного производного глюкуроновой кислоты и отличались только числом и положением сульфатных групп. Таким образом, в семействе фукоиданов был обнаружен новый тип полисахаридов, а среди внеклеточных бактериальных ферментов — катализатор нового типа. Фермент представлял собой эндо-лиазу и катализировал расщепление α -D-маннозидных связей между α -D-Man и 4-связанной β -D-GlcA в главной полисахаридной цепи по реакции β -элиминирования. Эти данные вместе с результа-

тами химических анализов позволили установить,¹⁰¹ что главным структурным элементом в полисахариде является трисахаридное повторяющееся звено $\{\rightarrow 4\}\text{-}\beta\text{-D-GlcpA}\text{-}(1\rightarrow 2)\text{-}[\alpha\text{-L-Fucp-3-S-(1}\rightarrow 3)]\text{-}\alpha\text{-D-Manp}\text{-}(1\rightarrow)_n$. Ферментативное расщепление сульфатированного фукоглюкурономаннана из *Kjellmaniella crassifolia* под действием бактериальной эндолиазы представлено на схеме 1.¹⁰¹

Схема 1



R = H или SO_3Na .

Фермент, связанный с клеточной поверхностью и способный расщеплять фукоидан из спорофиллов *Undaria pinnatifida*, был найден в морской бактерии *Sphingomonas paucimobilis*.¹⁰² Фермент не действовал на *n*-нитрофенил- $\alpha\text{-L}$ -фукопиранозид, а в продуктах ферментативного гидролиза фукоидана было обнаружено несколько олигосахаридов различной молекулярной массы и состава, но свободная фукоза отсутствовала. Эти данные свидетельствуют о том, что бактерия продуцирует эндо-фукоиданазу, которая может найти успешное применение в структурном анализе фукоиданов.

Недавно был описан новый вид бактерий, *Mariniflexile fucanivorans*, принадлежащий к семейству Flavobacteriaceae и способный расщеплять фукоиданы из бурых водорослей.¹⁰³ Авторы выполнили тщательное таксономическое исследование этой бактерии, но не привели сведений о структуре продуктов расщепления.

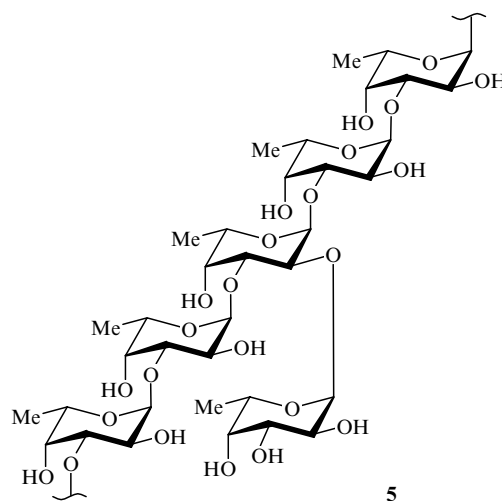
Отсутствие эффективных методов частичного расщепления фукоиданов привело к появлению работ, целью которых стал встречный синтез предполагаемых олигосахаридных фрагментов их молекул. Олигосахариды надежно установленного строения планировалось использовать в качестве модельных соединений для интерпретации спектров ЯМР, для изучения особенностей конформационного поведения фукоиданов и для идентификации участков их молекул, ответственных за проявление той или иной биологической активности. В ряде предварительных исследований были решены проблемы стереоспецифического α -фукозилирования^{104–106} и сульфатирования полигидроксильных соединений.¹⁰⁷ Это позволило синтезировать большой набор линейных и разветвленных олигосахаридов,^{108–112} содержащих все возможные связи между остатками $\alpha\text{-L}$ -фукопиранозы, с различным положением сульфатных групп и даже с остатком $\alpha\text{-D}$ -глюкуроновой кислоты в качестве единичного ответвления от $(1\rightarrow 3)$ -связанной фукановой цепи.¹¹³ Для всех

синтезированных олигосахаридов были полностью интерпретированы спектры ЯМР ^1H и ^{13}C . Для определения предпочтительных конформаций этих соединений в растворе были привлечены теоретическое молекулярное моделирование и экспериментальное определение транс-гликозидных вицинальных констант спин-спинового взаимодействия ($^3J_{\text{C,H}}$). Оказалось,¹¹⁴ что конформации гликозидных связей в $(1\rightarrow 3)$ -связанной фукановой цепи, сульфатированной или гликозилированной по атомам O(2), зависят от удаленности этих связей от концов молекулы, от длины цепи и от наличия разветвления в положении 2. Однако в такой же цепи, сульфатированной по атомам O(4), конформации гликозидных связей зависят только от наличия или отсутствия разветвления в положении 2. Спектральные данные, полученные для синтетических олигосахаридов, были использованы для отнесения сигналов в сложных спектрах ЯМР фукоиданов из некоторых бурых водорослей.^{44, 62, 63, 115} Конформационные исследования позволили авторам сформулировать обоснованные представления о необходимом минимальном размере олигосахаридных молекул, используемых в качестве моделей для оценки поведения соответствующих полисахаридов.¹¹⁶

III. Отдельные представители фукоиданов водорослей

1. Фукоиданы с главной цепью, состоящей из 3-связанных остатков $\alpha\text{-L}$ -фукопиранозы

Из бурой водоросли *Chorda filum* был выделен фукоидан довольно простого состава, содержащий практически только фукозу, сульфатные и ацетильные группы.⁴⁹ Авторам удалось полностью расшифровать спектр ЯМР ^1H его десульфатированного и дезацетилированного производного **5**.

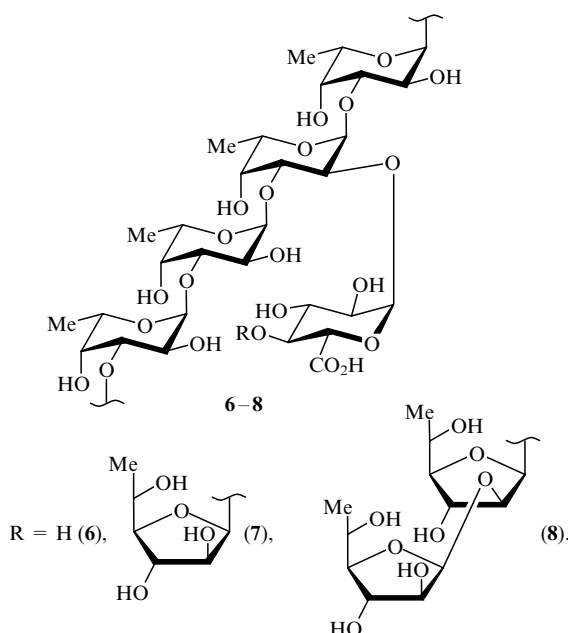


Аномерная область спектра содержала пять сигналов (один из них имел двойную интенсивность), отвечающих гекса-сахаридному повторяющемуся звену, в котором на пять 3-связанных остатков $\alpha\text{-L}$ -фукопиранозы главной цепи приходился один незамещенный остаток $\alpha\text{-L}$ -фукопиранозы в качестве бокового ответвления в положении 2. Не исключено, что в полимерных молекулах могут присутствовать небольшие отклонения от регулярности, которые не проявляются в спектре ЯМР. В нативном полисахариде сульфатные группы занимают главным образом положения 4 и в меньшей сте-

пени положения 2, тогда как некоторые 3-связанные остатки α -L-фукопиранозы ацетилированы по положению 2.

Подобные фукоиданы, строение которых исследовано менее подробно, были выделены из *Laminaria saccharina*⁵⁴ и *Lessonia vadosa*.^{86, 117} Фукоидан из *Analipus japonicus*⁶³ содержит такую же (1→3)-связанную главную цепь, но более разветвлен (см. рис. 2, b, c). В нем имеются три ответвления в виде единичных остатков α -L-фукопиранозы в положении 4 и одно такое ответвление в положении 2 в среднем на каждые десять остатков главной цепи. Сульфатные группы в этом полисахариде занимают положения 2 (преимущественно) и 4 (большинство терминальных невосстанавливающих остатков фукозы сульфатировано дважды), тогда как ацетильные группы локализованы главным образом в положении 4.

Из водоросли *Cladosiphon okamuranus* выделен ацетилированный фукоидан, содержащий такую же 3-связанную главную цепь, но с боковыми остатками α -D-глюкопиранозилурановой кислоты, присоединенными в положения 2 главной цепи.^{118, 119} Углеводную часть макромолекулы можно представить структурой 6 (здесь и в формулах 7, 8 сульфатные группы не показаны).^{99, 118}



По данным химических методов анализа, в качестве главного повторяющегося структурного звена полисахарида был предложен остаток гептасахарида, содержащий одно разветвление.¹¹⁸ Однако в соответствии с результатами ферментативного гидролиза (см. выше), более вероятным является пентасахаридное повторяющееся звено.⁹⁹

Еще один фукоидан с высоким содержанием глюкуроновой кислоты был найден в бурой водоросли *Chordaria flagelliformis*.¹²⁰ Для структурного анализа использовали фракцию этого фукоидана, содержащую L-фукозу, сульфат и D-глюкуроновую кислоту (молярное соотношение 1:1:0.25) и небольшое количество ацетильных групп. Чтобы установить строение данного полисахарида, пришлось провести несколько химических модификаций его молекул, а именно, сольволитическое десульфатирование, восстановление карбоксильных групп и частичный кислотный гидролиз. Нативный фукоидан и продукты его модификации исследовали методом метилирования и с помощью 1D- и 2D-спектроскопии ЯМР. Установлено,¹²⁰ что фукоидан содержит главную цепь из 3-связанных остатков α -L-фукопиранозы, примерно

треть которых гликозилирована по атомам O(2) остатками α -D-глюкопиранозилурановой кислоты. Около половины последних гликозилированы по атомам O(4) единичными остатками α -L-фукофуранозы (см. формулу 7) или дисахарида α -L-Fucf-(1→2)- α -L-Fucf-(1→ (см. формулу 8). Фукофуранозные остатки моно- и дисульфатированы в различных положениях, и некоторое дополнительное количество сульфатных групп занимает положения 4 главной цепи. Таким образом, отличительной особенностью этого фукоидана является наличие фукофуранозных остатков, в том числе сульфатированных и образующих короткие боковые цепи. Ранее отмечалось^{21, 45, 62, 121} присутствие небольшого количества несulfатированных терминальных фукофуранозных остатков в некоторых фукоиданах, но их положение в молекулах полисахаридов оставалось неизвестным.

2. Фукоиданы с главной цепью из чередующихся 3- и 4-связанных остатков α -L-фукопиранозы

Водоросль *Ascopyllum nodosum* содержит несколько сульфатированных полисахаридов.^{6, 122} Наиболее сульфатированную фракцию изучали с помощью частичного кислотного гидролиза и спектроскопии ЯМР. Для полисахарида была предложена²² регулярная структура из повторяющихся дисахаридных звеньев $[\rightarrow 3)-\alpha$ -L-Fucp-2-S-(1→4)- α -L-Fucp-2,3-di-S-(1→)]_n. Те же структурные элементы были обнаружены авторами в фукоидане из *Fucus vesiculosus*, вопреки прежним данным²¹ о его строении. Аналогичная структура была установлена⁹⁶ и для фукоидана из *Pelvetia canaliculata* по результатам его ферментативного гидролиза (см. выше).

Фракция фукоидана с такой же углеводной цепью, но с другим расположением сульфатных групп была выделена из *Fucus evanescens*.⁴⁴ Строение этого полисахарида было установлено при помощи 1D- и 2D-спектров ЯМР ¹H и ¹³C продуктов его десульфатирования и дезацетилирования (эти спектры удалось полностью интерпретировать). Кроме того, спектральные данные были подтверждены методом метилирования. Показано, что главным структурным элементом полисахарида является повторяющаяся последовательность $[\rightarrow 3)-\alpha$ -L-Fucp-2-S-(1→4)- α -L-Fucp-2-S-(1→)]_n с некоторым количеством дополнительных сульфатных групп в положении 4 (1→3)-связанных остатков, тогда как оставшиеся гидроксильные группы проацетилированы случайным образом.

Следует отметить, что другие авторы⁸⁸ выделили из того же вида водорослей полисахарид, в котором количество (1→3)-связей между остатками фукозы превышало в 3.5 раза содержание (1→4)-связей. В недавней работе¹²³ при сольволитическом десульфатировании этого полисахарида был получен большой набор нейтральных и сульфатированных низших олигосахаридов, содержащих помимо фукозы остатки галактозы, ксилозы и глюкуроновой кислоты. Несмотря на весьма низкие выходы этих фрагментов, удалось получить ценную информацию об их строении, используя масс-спектрометрию MALDI-TOF и tandemную масс-спектрометрию с ионизацией электрораспылением. К сожалению, в статье не указано содержания минорных моносахаридов в исходном полисахариде. Неизвестен также механизм, по которому расщепляются гликозидные связи в условиях сольволитического десульфатирования (вполне возможно, что небольшие количества олигосахаридов образуются в результате реверсии). Поэтому пока трудно оценить, какое значение имеют найденные структуры олигосахаридов для уточнения строения исходного фукоидана.

Выше уже упоминалось, что из *Fucus distichus* удалось выделить фракцию фукоидана с необычно высокой степенью регулярности (см. рис. 2,а).⁶² Ее спектр ЯМР ¹³С выглядел как спектр полимера, построенного из одинаковых дисахаридных повторяющихся звеньев. Согласно химическим данным, регулярная структура полимера может быть в незначительной степени замаскирована частичным ацелированием и неполным сульфатированием отдельных повторяющихся звеньев.

В фукоидане из *Fucus serratus*,¹¹⁵ содержащем фукозу, сульфат и ацетат в молярном соотношении 1 : 1 : 0.1, главная цепь построена аналогично. Однако в отличие от предыдущих примеров молекулы оказались разветвленными — примерно половина 3-связанных остатков главной цепи замещены по атомам О(4) трифукозидными звеньями α -L-Fucp-(1→4)- α -L-Fucp-(1→3)- α -L-Fucp-(1→). Полисахарид сульфатирован главным образом по атомам О(2) и в меньшей степени по атомам О(4), хотя 3,4-дигликозилированные и некоторые терминальные остатки фукозы могут не содержать сульфатных групп. Ацетаты присутствуют при атомах О(4) в 3-связанных остатках фукозы и при атомах О(3) — в 4-связанных, их соотношение составляет приблизительно 7 : 3.

Главная цепь, содержащая связи (1→3) и (1→4) между фрагментами α -L-фукопиранозы, была обнаружена также в фукоидане из *Stoechospermum marginatum*, но авторы не привели данных в пользу строгого чередования этих двух типов связей.⁴¹

3. Сульфатированные галактофулканы

Многие фукоиданы содержат помимо фукозы небольшие количества других моносахаридов, но структура этих минорных компонентов, как правило, остается неизвестной. В то же время описаны полисахариды, содержащие фукозу и галактозу в сравнимых количествах. Примерами могут служить фукоиданы, экстрагированные из спорифиллов *Alaria fistulosa*,¹²⁴ и *Undaria pinnatifida*,^{42, 125} из целых талломов *Laminaria japonica*,¹²⁶ *Laminaria cichorioides*,⁴³ *Laminaria gurjanovae*¹²⁷ и *Sargassum patens*.¹²⁸ Фракции фукоидана с высоким содержанием галактозы и сульфатных групп были получены также из сложных смесей полисахаридов, содержащихся в *Sargassum stenophyllum*¹²⁹ и *Adenocystis utricularis*.⁴⁵

Тщательное фракционирование суммарного фукоидана из *Laminaria angustata* var. *longissima* привело к выделению небольшого количества сульфатированного галактана, содержащего лишь следы фукозы и глюкуроновой кислоты.¹³⁰ Структурный анализ показал, что этот полисахарид имеет линейную главную цепь →3)- β -D-Galp-(1→6)- β -D-Galp-(1→. Большинство сульфатных групп занимает положения 6 в 3-связанных остатках галактозы, прочие сульфатные группы могут находиться при атомах О(3) в 6-связанных остатках, а галактозные ответвления присоединены по положениям 4 моносахаридов. Тем самым показано, что бурые водоросли могут содержать отдельные сульфатированные галактаны, отличающиеся от хорошо известных сульфатированных галактанов красных водорослей и асцидий.

Большинство полисахаридных образцов с высоким содержанием галактозы считаются галактофулканы без специальных доказательств. Надежные сведения о наличии связи между остатками галактозы и фукозы были получены в ранней работе,¹²¹ посвященной галактофулканульфату из *Ecklonia kurome*, благодаря выделению нескольких олигосахаридов, содержащих оба моносахарида. Присутствие ана-

логичных олигосахаридов в продуктах деградации фукоидана из *Laminaria gurjanovae* было подтверждено недавно с помощью масс-спектрометрии MALDI-TOF.¹²⁷

Структуры галактофулканы изучались главным образом методом метилирования и установлены только частично. Так, 2,3-дисульфатированные остатки 4-связанной α -L-фукозы были идентифицированы в качестве главных структурных элементов фукоидана из *Laminaria cichorioides*.⁴³ В продуктах метилирования этого полисахарида обнаружили большой набор метилированных производных галактозы, но не было получено данных об их взаимном расположении.

Галактофулкансульфаты, экстрагированные из *Undaria pinnatifida*, изучались несколькими группами авторов.^{42, 125} Их результаты не совсем совпадают, однако ясно, что картина замещения как фукопиранозных, так и галактопиранозных остатков в главной полисахаридной фракции очень сложная. Преобладание 3-связанных остатков указывает на то, что оба моносахарида включены в (1→3)-связанные цепи. В процессе тщательного исследования галактофулкана из *Adenocystis utricularis* показано,⁴⁵ что фуконовый компонент представляет собой в основном цепь из 3-связанных остатков α -L-фукопиранозы, обычно сульфатированных по атомам О(4) и содержащих разветвления при атомах О(2). В качестве боковых ответвлений присутствуют несulfатированные фукофуранозные и частично сульфатированные по атомам О(2) фукопиранозные остатки. Выше уже отмечалось, что терминальные фукофуранозные остатки обнаруживали ранее в некоторых других фукоиданах.^{21, 62, 121} Галактановая часть полисахарида — более гетерогенная, в ней преобладают остатки D-галактопиранозы, связанные по положениям 3 и 6 и содержащие сульфатные группы при атомах О(4) (в том числе и в концевых невосстанавливающих остатках). Как следует из данных ЯМР ¹³С, по крайней мере часть остатков галактозы имеет α -конфигурацию.

4. Фукоиданы более сложного состава

Из бурой водоросли *Dictyota menstrualis* было выделено несколько полисахаридных фракций, содержащих фукозу, ксилоту, уоновую кислоту, галактозу и сульфат в различных соотношениях.¹³¹ Для двух из них была отмечена высокая антикоагулянтная активность, но в работе не было представлено структурной информации.

Для аналогичного полисахарида из *Padina gymnospora*, исследованного той же группой авторов,⁴⁶ предложена структура с центральной цепью, состоящей преимущественно из 3- и 4-связанных остатков β -D-глюкуроновой кислоты, замещенных по атомам О(2) остатками α -L-фукозы и β -D-ксилозы. Сульфатные группы были найдены только при атомах О(3) в 4-связанных остатках α -L-фукозы. Показано, что именно такой тип сульфатирования обеспечивает антикоагулянтную активность полимера.

Два сложных сульфатированных полисахарида выделены также из водоросли *Spatoglossum schroederi*.¹³² Один из них, содержащий фукозу, ксилоту, глюкуроновую кислоту и сульфат, был изучен с помощью метилирования, расщепления гликозидазами и сульфатазами из моллюска *Tagelus gibbus*, частичного кислотного гидролиза и спектроскопии ЯМР. Установлено, что полимер имеет кор из 3-связанных остатков β -D-глюкуроновой кислоты, содержащих ответвления при атомах О(4) в виде цепей из 3-связанных остатков α -L-фукозы. Эти остатки по большей части замещены сульфатом по атомам О(4), а в положении 2 имеют цепи из 4-связанных остатков β -D-ксилозы, которые также частично

сульфатированы. Второй полисахарид практически не содержал урановых кислот и состоял из фукозы, ксилозы, галактозы и сульфата в молярном соотношении 1:0.5:2:2. Его кор был образован в основном 4-связанными остатками β -галактозы, частично сульфатированными по атомам О(3). Примерно 25% этих звеньев имело при атомах О(2) ответвления в виде олигосахаридов (преимущественно тетрасахаридов), состоящих из 3-сульфатированных 4-связанных остатков α -L-фукозы и терминальных нессульфатированных остатков β -ксилозы или 4-связанной β -ксилобиозы.⁴⁷

Очень сложный фукоидан, не содержащий фукозы в составе кора, был выделен из бурой водоросли *Hizikia fusiforme* (правильное название этого вида *Sargassum fusiforme*).¹³³ Его главная цепь состояла из чередующихся остатков 2-связанной α -D-маннопиранозы и 4-связанной β -D-глюкуроновой кислоты с небольшим количеством 4-связанной β -D-галактозы. Две трети остатков маннозы имели ответвления в положении 3, остатки галактозы были преимущественно связаны по положению 6, причем как 4-, так и 6-связанные остатки галактозы имели ответвления при атомах О(2). Примерно две трети остатков α -L-фукозы представляли собой невосстанавливающие концевые звенья, а прочие остатки фукозы были связаны по положениям 4, 3 и 2. Примерно две трети остатков α -D-ксилозы также представляли собой невосстанавливающие концевые звенья, а остальные были 4-связанными. Сульфатные группы находились при атомах О(6) 2,3-связанной маннозы, при атомах О(4) и О(6) 2-связанной маннозы, при атомах О(3) 6-связанной галактозы и во всех возможных положениях фукозы (некоторые остатки фукозы имели по две сульфатные группы), тогда как в остатках глюкуроновой кислоты и ксилозы сульфаты отсутствовали.

Полисахарид с аналогичным глюкурономаннанным кором был найден ранее в *Kjellmaniella crassifolia*.¹⁰¹ Его строение было изучено главным образом с помощью ферментативного расщепления (см. схему 1).

IV. Биологическая активность фукоиданов

1. Антикоагулянтные свойства

Активность фукоиданов, препятствующая свертыванию крови, была обнаружена в 1957 г.¹³⁴ С тех пор это свойство наиболее подробно изучено в надежде найти удобный аналог или заменитель природного антикоагулянта гепарина. Последний в настоящее время широко применяется в медицине,¹³⁵ хотя и обладает рядом недостатков. Исследованиям этого вида активности во многом способствовало то обстоятельство, что ее можно измерять количественно с помощью сравнительно простых методик, в которых эталоном служит доступный гепарин. Многочисленные работы, посвященные антикоагулянтным свойствам фукоиданов и опубликованные до 1995 г., подробно обсуждены Нагумо и Нишино.¹⁰ Ссылки на более поздние работы можно найти в недавних обзорах^{13–16, 136}.

Гепарин, выделяемый из животных тканей, является сульфатированным полисахаридом, однако его углеводные цепи отличаются от фукоидановых.¹³⁷ Поэтому естественно было предположить, что для проявления антикоагулянтных свойств первостепенное значение имеет высокая степень сульфатирования.^{138, 139} Действительно, в ряде работ было показано, что дополнительное химическое сульфатирование фукоиданов приводит к повышению антикоагулянтной

активности,^{140, 141} тогда как десульфатирование полностью инактивирует полисахариды. В то же время в некоторых работах, посвященных сравнению антикоагулянтной активности фукоиданов, выделенных из разных видов бурых водорослей,^{142–146} установлено, что полисахариды, близкие по содержанию сульфата, но разные по происхождению, могут сильно различаться по биологическому действию. Отсюда следует, что высокая степень сульфатирования является необходимым, но недостаточным структурным элементом, обеспечивающим антикоагулянтные свойства фукоиданов.

Сложный процесс свертывания крови контролируется многими факторами, среди которых важную роль играют антитромбин III (АТ-III) и гепариновый кофактор II (НС-II), — ингибиторы тромбина, препятствующие превращению фибриногена в фибрин. Антитромбин III ингибирует и другие сериновые протеазы коагуляционного каскада. Его активность увеличивается приблизительно на 3 порядка за счет образования комплекса с гепарином, в молекулах которого имеются специфические активные центры взаимодействия с АТ-III. Центры представляют собой пентасахаридные участки цепей с уникальной последовательностью моносахаридных остатков и уникальным расположением сульфатных групп.¹³⁷ Маловероятно, что сходные с этими активными центрами фрагменты молекул можно найти в фукоиданах водорослей. Поэтому, хотя в работах^{147, 148} показано взаимодействие фукоиданов с АТ-III, для большинства этих полисахаридов предполагается взаимодействие с НС-II, также приводящее к его активации.^{43, 149, 150}

Не исключено и прямое взаимодействие фукоиданов с тромбином и другими протеазами, приводящее к инактивации ферментов. В этом случае решающим фактором может быть молекулярная масса полисахарида, поскольку деполимеризация ослабляет антикоагулянтные свойства.⁸⁶ Интересные наблюдения о том, какие особенности структуры важны для проявления антикоагулянтных свойств, были сделаны на фукансульфатах иглокожих,^{11, 61, 151, 152} но эти данные нельзя непосредственно переносить на фукоиданы. Тем не менее можно отметить, что для проявления антикоагулянтного действия важно присутствие в полисахаридах 2,3-дисульфатированных остатков фукозы,⁸⁴ а наличие ответвлений от главной цепи в виде остатков α -D-глюкуроновой кислоты существенно снижает активность.^{145, 146}

Отличный от действия гепарина механизм действия фукоиданов представляет большой практический интерес, поскольку их можно будет использовать в случаях, когда применение самого гепарина по тем или иным причинам неэффективно. Антикоагулянтное действие фукоиданов (как и гепарина) можно быстро отменить с помощью внутривенного введения биосовместимых катионных полимеров, таких как протаминсульфат и ВИМ-ДЭМК (синтетический сополимер 1-винилимидазола с диэтилмалеинатом).¹⁵³

Фукоиданы часто проявляют антитромботическое действие, которое непосредственно не связано с антикоагулянтной активностью.^{11, 154, 155} Так, сульфатированный галактофукан из *Spatoglossum schroederi*, практически лишенный антикоагулянтных свойств в опытах *in vitro*, оказался эффективным антитромботическим агентом в опытах *in vivo*.⁴⁷ Кроме собственно антитромботического действия, этот полисахарид вдвое эффективнее гепарина стимулировал синтез антитромботического гепарансульфата эндотелиальными клетками. После десульфатирования происходила потеря обоих видов активности.

2. Противовоспалительные свойства

Известно, что лейкоциты выходят из кровяного русла и накапливаются в очаге воспаления под действием специфических рецепторов, называемых селектинами.¹⁵⁶ Существуют три типа селектинов (P-, E- и L-селектины), которые различаются локализацией и скоростью появления после индукции воспаления. В частности, P-селектин экспрессируется на поверхности тромбоцитов и эндотелиальных клеток в самом начале развития воспалительного процесса. Его природными лигандами^{157, 158} служат фрагменты биогликанов, содержащие тетрасахаридные звенья типа Sialyl-Lewis^x в сочетании с остатками сульфата тирозина.¹⁵⁹ Взаимодействие P-селектина с этими лигандами эффективно ингибируется сульфатированными полисахаридами,¹⁶⁰ в том числе гепарином¹⁶¹ и фукоиданами.^{162–165} Считают, что именно это свойство лежит в основе противовоспалительного действия фукоиданов в опытах *in vivo* на модели экспериментального перитонита у крыс.^{163–165} Важно отметить, что фукоиданы, выделенные из разных видов водорослей, обладают различной противовоспалительной активностью, которая не коррелирует с их антикоагулянтным действием.¹⁴⁵ Поэтому, в отличие от гепарина, медицинское применение которого в качестве противовоспалительного средства затруднено из-за неизбежных нарушений свертываемости крови, есть надежда найти среди фукоиданов противовоспалительные агенты, практически лишенные антикоагулянтной активности.

3. Противоопухолевая активность

Вслед за антикоагулянтными свойствами внимание исследователей привлекло противоопухолевое действие фукоиданов. Большая серия работ (см., например,^{166–174}) на эту тему была выполнена в конце прошлого столетия, причем японские авторы уделяли особое внимание фукоиданам из бурых водорослей, традиционно употребляемых в пищу в Японии.^{175–183} В более поздних работах противоопухолевая активность отмечена у фукоиданов из водорослей, собранных в прибрежных водах Вьетнама,¹⁸⁴ Кореи¹⁸⁵ и Китая.¹⁸⁶

Поскольку фукоиданы не обладают цитотоксической активностью, их влияние на развитие опухолей объясняется главным образом иммуномодулирующим действием, позволяющим мобилизовать собственные защитные силы организма.^{187–198} При этом фукоиданы могут стимулировать апоптоз опухолевых клеток^{199–202} и препятствовать появлению метастазов путем изменения адгезионных свойств клеток^{145, 203–206} (возможно, в результате блокады селектинов, как при противовоспалительном действии).

Еще одним механизмом, обеспечивающим противоопухолевую активность фукоиданов, служит антиангиогенный эффект, поскольку фукоиданы подавляют интенсивное образование сосудов и тем самым уменьшают активное кровоснабжение опухолевых тканей.^{207–211} Антиангиогенный эффект усиливается после дополнительного химического сульфатирования полисахаридных молекул. «Сверхсульфатированные» фукоиданы проявляют повышенную активность и в других противоопухолевых тестах,^{212, 213} однако сравнение антиадгезивных и антиангиогенных свойств фукоиданов различного происхождения показывает, что существенное влияние на активность оказывает тонкая структура полисахаридных молекул.¹⁴⁵

4. Противовирусное действие

Как природные, так и синтетические сульфатированные полисахариды способны ингибировать патогенные для человека оболочечные вирусы.²¹⁴ Легкодоступные и биосовместимые полисахариды морских водорослей подробно исследовали в качестве потенциальных противовирусных агентов.^{215–217} Считают, что фукоиданы могут эффективно препятствовать проникновению вирусов в клетки за счет модификации свойств клеточной поверхности, хотя возможно и непосредственное взаимодействие полисахаридов с белками вирусной оболочки или с вирусными ферментами.

Наибольшей популярностью пользовался поиск фукоиданов, способных блокировать вирус герпеса. Активные полисахариды были выделены из *Undaria pinnatifida* (см.^{42, 125, 218, 219}), *Sargassum horneri*,^{220, 221} *Sargassum patens*,¹²⁸ *Stoechospermum marginatum*⁴¹ и *Cystoseira indica*.²²² Известно также, что фукоиданы активны против вируса иммунодефицита человека.^{223, 224} Для фукоидана из *Fucus evanescens* отмечено ингибирующее действие на растительный вирус табачной мозаики.²²⁵ Ранее было показано, что сульфатированные олигосахариды с чередующимися связями (1→3) и (1→4) между остатками фукозы, которые образуются из подобных фукоиданов при ферментативном расщеплении, служат эффективными элиситорами защитных реакций и могут обеспечить как местную, так и системную защиту растений табака от вирусной инфекции.²²⁶ В ряде работ установлено,^{41, 222} что высокой противовирусной активностью могут обладать фукоиданы, практически лишенные антикоагулянтных свойств.

Интересные наблюдения о связи строения полисахарида с его активностью были сделаны при исследовании взаимодействия фукоидана с углеводным скелетом **6**, выделенного из *Cladosiphon okamuranus* (см.^{99, 118}), с вирусом тропической лихорадки денге.²²⁷ Оказалось, что полисахарид лишается активности не только после десульфатирования, но и после восстановления карбоксильных групп уроновых кислот. Таким образом, боковые ответвления от главной цепи фукоидана, представляющие собой остатки α-D-глюкопиранозилуроновой кислоты, наличие которых явно снижает антикоагулянтные свойства,¹⁴⁵ необходимы для проявления противовирусного действия. Из четырех известных серотипов вируса денге фукоидан ингибирует только один, прочно связываясь с гликопротеином его оболочки, но слабо взаимодействует с двумя другими серотипами и не реагирует с четвертым. Этим различиям соответствует разница в составе и расположении аминокислот в молекулах гликопротеинов. Так, в положении 323 гликопротеина чувствительного к фукоидану штамма находится остаток аргинина, который в двух других серотипах заменен на менее основной остаток лизина. В то же время гликопротеин серотипа, инертного к фукоидану, имеет в этом положении остаток глутамина, лишенный основных свойств. Авторы полагают,²²⁷ что именно этот фрагмент молекулы гликопротеина взаимодействует с карбоксильными группами остатков глюкуроновой кислоты в фукоидане. Подробное изложение современных представлений о механизмах противовирусного действия сульфатированных полисахаридов и перспективах их клинического применения можно найти в недавних обзорах^{228, 229}.

5. Фукоиданы и оплодотворение

Процесс оплодотворения представляет собой каскад многочисленных реакций, в котором важную роль играют специфические углевод-белковые взаимодействия.^{230, 231} Выше уже упоминалось о том, что фукансульфаты наружной студенистой оболочки яйцеклеток морских ежей обеспечивают прикрепление и индуцируют акросомную реакцию сперматозоидов своего вида.^{31, 232} Участником специфического взаимодействия сперматозоидов с яйцеклетками является также байндин, адгезивный белок сперматозоидов, обладающий свойствами лектина и наделенный высоким сродством к сульфатированным фукозосодержащим полисахаридам.²³³ Фукоиданы водорослей прочно связываются с этим белком²³⁴ и поэтому способны ингибировать процесс оплодотворения у морских ежей. У млекопитающих сходными с байндином свойствами обладает проакрозин.^{38, 235} По-видимому, именно взаимодействием с белками типа проакрозина объясняется тот факт, что фукоиданы в низких концентрациях блокируют прикрепление сперматозоидов к яйцеклеткам человека²³⁶ и препятствуют развитию дальнейших процессов, направленных на проникновение сперматозоида через наружную оболочку яйцеклетки.²³⁷ Это свойство позволяет рассматривать фукоиданы как перспективные контрацептивные агенты.^{236, 238}

6. Другие виды биологической активности фукоиданов

Полисахариды бурых водорослей являются мощными ингибиторами активации комплемента.^{239–246} Фукоиданы также привлекают внимание как антиоксиданты. Такие свойства отмечены как для нативных фукоиданов, выделенных из *Laminaria japonica*^{247, 248} и *Fucus vesiculosus*,^{249, 250} так и для продуктов химической модификации фукоиданов в результате дополнительного сульфатирования, ацетилирования, фталоилирования,²⁵¹ фосфорилирования и аминирования.²⁵² Кроме того, представляют интерес антиадгезивные свойства фукоиданов. Показано, что фукоидан из *Cladosiphon okamuranus* блокирует адгезию бактерии *Helicobacter pylori* к слизистой желудка человека²⁵³ и может использоваться для защиты от инфекции и в качестве противоязвенного средства.^{254, 255} Фукоидан из *Undaria pinnatifida* подавляет прикрепление ооцист паразита *Cryptosporidium parvum* к клеткам кишечного эпителия у мышей²⁵⁶ и препятствует инвазии малярийного плазмодия в эритроциты.²⁵⁷ Фукоиданы ингибируют также адгезию *Corynebacterium diphtheriae* и других патогенных микроорганизмов к эукариотическим клеткам.^{258, 259} Дополнительные примеры различной биологической активности фукоиданов можно найти в обзорах^{13–16}.

V. Заключение

Высокая и разнообразная биологическая активность фукоиданов означает, что эти полисахариды способны взаимодействовать с различными белками. Это взаимодействие зависит от степени сульфатирования, моносахаридного состава, тонкой структуры и конформации полисахаридов.^{151, 260} Установлено, что подходящее пространственное расположение сульфатных групп необходимо для высокой антикоагулянтной активности фукансульфатов,^{61, 152} тогда как десульфатирование или дополнительное «сверхсульфа-

тирование» может существенным образом изменять активность фукоиданов.¹⁴¹

Присутствие L-фукозы в качестве главного моносахаридного компонента также представляется очень важным фактором для специфических полисахарид-белковых взаимодействий. В случае млекопитающих к гликанам, содержащим фукозу, относятся антигены групп крови, ингибиторы эндотелиальной адгезии лейкоцитов, контролируемой селектинами, ингибиторы взаимодействий клеток хозяина с микроорганизмами и молекулярные участники многих патологических процессов, включая рак и атеросклероз.²⁶¹ Очевидно, что сложные молекулы фукоиданов могут содержать отдельные фрагменты, построенные из остатков фукозы, которые имитируют соответствующие структуры биологически активных гликанов млекопитающих.

Необходимо подчеркнуть, что фукоиданы различного происхождения, даже будучи очень близкими по составу, часто значительно различаются по активности в биологических тестах за счет различий в тонкой структуре.¹⁴⁵ Разные виды бурых водорослей содержат разные по структуре фукоиданы, хотя не наблюдается прямой зависимости строения фукоидана от таксономического положения водоросли. Даже разные части талломов могут иметь различный полисахаридный состав,^{124, 262} на который влияют также экологические факторы.^{92, 221, 263}

К сожалению, существующий уровень структурных исследований дает только усредненные представления о строении молекул фукоиданов. Дальнейшее изучение структурного разнообразия фукоиданов водорослей, разработка новых эффективных методов специфической фрагментации их молекул и выделение олигосахаридов определенного строения необходимы для того, чтобы найти реальные корреляции между структурными особенностями и биологическими свойствами этих сложных полисахаридов.

Литература

1. Ю.Е.Петров. В кн. *Жизнь растений*. Т. 3. (Под ред. М.М.Голлербаха). Просвещение, Москва, 1977. С. 143
2. M.D.Guiry, G.M.Guiry. *AlgaeBase*. World-wide Electronic Publ., National University of Ireland, Galway, 2009; <http://www.algaebase.org>
3. А.И.Усов. *Успехи химии*, **68**, 1051 (1999)
4. K.I.Draet, S.T.Moe, G.Skjåk-Bræk, O.Smidsrød. In *Food Polysaccharides and Their Applications*. (Eds A.M.Stephen, G.O.Phillips, P.A.Williams). CRC Press, Boca Raton, FL, 2006. P. 289
5. E.Percival, R.H.McDowell. *Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides*. Academic Press, London, 1967. P. 157
6. T.J.Painter. In *The Polysaccharides*. Vol. 2. (Ed. G.O.Aspinall). Academic Press, London, 1983. P. 195
7. B.Mulloy, A.C.Ribeiro, A.P.Alves, R.P.Vieira, P.A.S.Mourão. *J. Biol. Chem.*, **269**, 22113 (1994)
8. N.Li, Q.Zhang, J.Song. *Food Chem. Toxicol.*, **43**, 421 (2005)
9. T.P.Gideon, R.Rengasamy. *J. Med. Food*, **11**, 638 (2008)
10. T.Nagumo, T.Nishino. In *Polysaccharides in Medicinal Applications*. (Ed. S.Dumitriu). Marcel Dekker, New York, 1996. P. 545
11. P.A.S.Mourão. *Curr. Pharm. Des.*, **10**, 967 (2004)
12. O.Berteau, B.Mulloy. *Glycobiology*, **13**, 29R (2003)
13. B.Li, F.Lu, X.Wei, R.Zhao. *Molecules*, **13**, 1671 (2008)

14. M.Kusaykin, I.Bakunina, V.Sova, S.Ermakova, T.Kuznetsova, N.Besednova, T.Zaporozhets, T.Zvyagintseva. *Biotechnol. J.*, **3**, 904 (2008)
15. A.D.Holtkamp, S.Kelly, R.Ulber, S.Lang. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **82**, 1 (2009)
16. V.H.Pomin, P.A.S.Mourão. *Glycobiology*, **18**, 1016 (2008)
17. M.I.Bilan, A.I.Usov. *Nat. Prod. Commun.*, **3**, 1639 (2008)
18. H.Kylin. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **83**, 171 (1913)
19. E.G.V.Percival, A.G.Ross. *J. Chem. Soc.*, 717 (1950)
20. J.Conchie, E.G.V.Percival. *J. Chem. Soc.*, 827 (1950)
21. M.S.Patankar, S.Oehninger, T.Barnett, R.L.Williams, G.F.Clark. *J. Biol. Chem.*, **268**, 21770 (1993)
22. L.Chevolot, B.Mulloy, J.Ratiscoll, A.Foucault, S.Colliec-Jouault. *Carbohydr. Res.*, **330**, 529 (2001)
23. S.Mabeau, B.Kloareg, J.-P.Joseleau. *Phytochemistry*, **29**, 2441 (1990)
24. C.P.Dietrich, G.G.M.Farias, L.R.D.de Abreu, E.L.Leite, L.F.da Silva, H.B.Nader. *Plant Sci.*, **108**, 143 (1995)
25. A.C.Ribeiro, R.P.Vieira, P.A.S.Mourão, B.Mulloy. *Carbohydr. Res.*, **255**, 225 (1994)
26. Y.Kariya, B.Mulloy, K.Imai, A.Tominaga, T.Kaneko, A.Asari, K.Suzuki, H.Masuda, M.Kyogashima, T.Ishii. *Carbohydr. Res.*, **339**, 1339 (2004)
27. A.-P.Alves, B.Mulloy, J.A.Diniz, P.A.S.Mourão. *J. Biol. Chem.*, **272**, 6965 (1997)
28. A.-P.Alves, B.Mulloy, G.W.Moy, V.D.Vacquier, P.A.S.Mourão. *Glycobiology*, **8**, 939 (1998)
29. A.-C.E.S.Vilela-Silva, A.-P.Alves, A.-P.Valente, V.D.Vacquier, P.A.S.Mourão. *Glycobiology*, **9**, 927 (1999)
30. A.-C.E.S.Vilela-Silva, M.O.Castro, A.-P.Valente, C.H.Biermann, P.A.S.Mourão. *J. Biol. Chem.*, **277**, 379 (2002)
31. A.-C.E.S.Vilela-Silva, M.Hirohashi, P.A.S.Mourão. *Int. J. Dev. Biol.*, **52**, 551 (2008)
32. Z.Dische, L.B.Shettles. *J. Biol. Chem.*, **175**, 595 (1948)
33. B.Larsen. In *Handbook of Physiological Methods. Physiological and Biochemical Methods*. (Eds J.A.Hellebust, J.S.Craigie). Cambridge University Press, Cambridge, 1978. P. 151
34. А.И.Усов, Г.П.Смирнова, Н.Г.Клочкова. *Биоорг. химия*, **27**, 395 (2001)
35. A.I.Usov, G.P.Smirnova. In *Proceedings of the XVIIth International Seaweed Symposium*. (Eds A.R.O.Chapman, R.J.Anderson, V.J.Vreeland, I.R.Davison). Oxford University Press, Oxford, 2003. P. 209
36. O.Roger, S.Colliec-Jouault, J.Ratiscoll, C.Sinquin, J.Guezennec, A.M.Fischer, L.Chevolot. *Carbohydr. Polym.*, **50**, 273 (2002)
37. C.G.Glabbe, P.K.Harty, S.D.Rosen. *Anal. Biochem.*, **130**, 287 (1983)
38. R.Jones. *Development*, **111**, 1155 (1991)
39. M.R.Irhimeh, J.H.Fitton, R.M.Lowenthal, P.Kongtawelert. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, **27**, 705 (2005)
40. M.Mizuno, Y.Nishitani, T.Tanoue, Y.Matoba, T.Ojima, T.Hashimoto, K.Kanazawa. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**, 335 (2009)
41. U.Adhikari, C.G.Mateu, K.Chattopadhyay, C.A.Pujol, E.B.Damonte, B.Ray. *Phytochemistry*, **67**, 2474 (2006)
42. J.A.Hemmingson, R.Falshaw, R.H.Furneaux, K.Thompson. *J. Appl. Phycol.*, **18**, 185 (2006)
43. S.-J.Yoon, Y.-R.Pyun, J.-K.Hwang, P.A.S.Mourão. *Carbohydr. Res.*, **342**, 2326 (2007)
44. M.I.Bilan, A.A.Grachev, N.E.Ustuzhanina, A.S.Shashkov, N.E.Nifantiev, A.I.Usov. *Carbohydr. Res.*, **337**, 719 (2002)
45. N.M.A.Ponce, C.A.Pujol, E.B.Damonte, M.L.Flores, C.A.Stortz. *Carbohydr. Res.*, **338**, 153 (2003)
46. T.M.A.Silva, L.G.Alves, K.C.S.de Queiroz, M.G.L.Santos, C.T.Marques, S.F.Chavante, H.A.O.Rocha, E.L.Leite. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **38**, 523 (2005)
47. H.A.O.Rocha, F.A.Moraes, E.S.Trindade, C.R.C.Franco, R.J.S.Torquato, S.S.Veiga, A.P.Valente, P.A.S.Mourão, E.L.Leite, H.B.Nader, C.P.Dietrich. *J. Biol. Chem.*, **280**, 41278 (2005)
48. J.N.C.Whyte, B.A.Southcott. *Phytochemistry*, **9**, 1159 (1970)
49. A.O.Chizhov, A.Dell, H.R.Morris, S.M.Haslam, R.A.McDowell, A.S.Shashkov, N.E.Nifantiev, E.A.Khatuntseva, A.I.Usov. *Carbohydr. Res.*, **320**, 108 (1999)
50. Дж.Слонекер. В кн. *Методы исследования углеводов*. (Под ред. А.Я.Хорлина). Мир, Москва, 1975. С. 22
51. K.Leontein, B.Lindberg, J.Lonngrén. *Carbohydr. Res.*, **62**, 359 (1978)
52. G.J.Gerwig, J.P.Kamerling, J.F.G.Vliegenthart. *Carbohydr. Res.*, **62**, 349 (1978)
53. M.R.Cases, A.S.Cerezo, C.A.Stortz. *Carbohydr. Res.*, **269**, 333 (1995)
54. А.И.Усов, Г.П.Смирнова, М.И.Билан, А.С.Шашков. *Биоорг. химия*, **24**, 382 (1998)
55. N.Blumenkrantz, G.Asboe-Hansen. *Anal. Biochem.*, **54**, 484 (1973)
56. A.I.Usov, M.I.Bilan, N.G.Klochkova. *Bot. Mar.*, **38**, 43 (1995)
57. S.Hestrin. *J. Biol. Chem.*, **180**, 249 (1949)
58. K.S.Dodgson, R.G.Price. *Biochem. J.*, **84**, 106 (1962)
59. N.S.Anderson, T.C.S.Dolan, A.Penman, D.A.Rees, G.P.Mueller, D.J.Stancioff, N.F.Stanley. *J. Chem. Soc. C*, 602 (1968)
60. C.Rochas, M.Lahaye, W.Yaphe. *Bot. Mar.*, **29**, 335 (1986)
61. M.S.Pereira, B.Mulloy, P.A.S.Mourão. *J. Biol. Chem.*, **274**, 7656 (1999)
62. M.I.Bilan, A.A.Grachev, N.E.Ustuzhanina, A.S.Shashkov, N.E.Nifantiev, A.I.Usov. *Carbohydr. Res.*, **339**, 511 (2004)
63. М.И.Билан, А.Н.Захарова, А.А.Грачев, А.С.Шашков, Н.Э.Нифантьев, А.И.Усов. *Биоорг. химия*, **33**, 44 (2007)
64. R.Takano. *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **14**, 343 (2002)
65. T.G.Kantor, M.Schubert. *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 152 (1957)
66. A.I.Usov, K.S.Adamyants, L.I.Miroshnikova, A.A.Shaposhnikova, N.K.Kochetkov. *Carbohydr. Res.*, **18**, 336 (1971)
67. K.Nagasawa, Y.Inoue, K.Kamata. *Carbohydr. Res.*, **58**, 47 (1977)
68. D.A.Navarro, M.L.Flores, C.A.Stortz. *Carbohydr. Polym.*, **69**, 742 (2007)
69. I.J.Miller, J.W.Blunt. *Carbohydr. Res.*, **309**, 39 (1998)
70. A.A.Kolender, M.C.Matulewicz. *Carbohydr. Res.*, **339**, 1619 (2004)
71. V.H.Pomin, M.S.Pereira, A.-P.Valente, D.M.Tollefsen, M.S.G.Pavro, P.A.S.Mourão. *Glycobiology*, **15**, 369 (2005)
72. V.H.Pomin, A.P.Valente, M.S.Pereira, P.A.S.Mourão. *Glycobiology*, **15**, 1376 (2005)
73. S.Saillard, P.Gareil, J.Jozefonvicz, R.Daniel. *Anal. Biochem.*, **275**, 11 (1999)
74. R.Daniel, O.Berteau, L.Chevolot, A.Varenne, P.Gareil, N.Goasdoue. *Eur. J. Biochem.*, **268**, 561 (2001)
75. М.И.Кусайкин, Ю.В.Бурцева, Т.Г.Светашева, В.В.Сова, Т.Н.Звягинцева. *Биохимия*, **68**, 384 (2003)
76. J.-H.Kim, D.-S.Byun, J.S.Godber, J.-S.Choi, W.-C.Choi, H.-R.Kim. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **63**, 553 (2004)
77. I.Ciucanu, F.Kerek. *Carbohydr. Res.*, **131**, 209 (1984)
78. I.J.Miller, J.W.Blunt. *Bot. Mar.*, **45**, 559 (2002)
79. H.Bjorndal, C.G.Hellerqvist, B.Lindberg, S.Svensson. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **9**, 610 (1970)
80. B.Tissot, J.-Y.Salpin, M.Martinez, M.-P.Gaigeot, R.Daniel. *Carbohydr. Res.*, **341**, 598 (2006)
81. L.Chevolot, A.Foucault, S.Colliec-Jouault, J.Ratiscoll, C.Sinquin. *J. Chromatogr., A*, **869**, 353 (2000)

82. R.Daniel, L.Chevolot, M.Carrascal, B.Tissot, P.A.S.Mourão, J.Abian. *Carbohydr. Res.*, **342**, 826 (2007)
83. S.Collic, C.Boisson-Vidal, J.Jozefonvicz. *Phytochemistry*, **35**, 697 (1994)
84. L.Chevolot, A.Foucault, F.Chaubet, N.Kervarec, C.Sinquin, A.-M.Fischer, C.Boisson-Vidal. *Carbohydr. Res.*, **319**, 154 (1999)
85. A.Nardella, F.Chaubet, C.Boisson-Vidal, C.Blondin, P.Durand, J.Jozefonvicz. *Carbohydr. Res.*, **289**, 201 (1996)
86. N.P.Chandia, B.Matsuhiro. *Int. J. Biol. Macromol.*, **42**, 235 (2008)
87. М.И.Кусайкин, А.О.Чижов, С.А.Алексеева, И.Ю.Бакунина, О.И.Недашковская, В.В.Сова, Т.Н.Звягинцева, Г.Б.Еляков. *Докл. АН*, **396**, 691 (2004)
88. M.I.Kusaykin, A.O.Chizhov, A.A.Grachev, S.A.Alekseeva, I.Yu.Bakunina, O.I.Nedashkovskaya, V.V.Sova, T.N.Zvyagintseva. *J. Appl. Phycol.*, **18**, 369 (2006)
89. K.Kitamura, M.Matsuo, T.Yasui. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **56**, 490 (1992)
90. O.Berteau, I.McCort, N.Goasdoue, B.Tissot, R.Daniel. *Glycobiology*, **12**, 273 (2002)
91. R.Daniel, O.Berteau, J.Jozefonvicz, N.Goasdoue. *Carbohydr. Res.*, **322**, 291 (1999)
92. T.N.Zvyagintseva, N.M.Shevchenko, A.O.Chizhov, T.N.Krupnova, E.V.Sundukova, V.V.Isakov. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **294**, 1 (2003)
93. М.И.Билан, М.И.Кусайкин, А.А.Грачев, Е.А.Цветкова, Т.Н.Звягинцева, Н.Э.Нифантьев, А.И.Усов. *Биохимия*, **70**, 1606 (2005)
94. S.Furukawa, T.Fujikawa, D.Koga, A.Ide. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **56**, 1829 (1992)
95. И.Ю.Бакунина, О.И.Недашковская, С.А.Алексеева, Е.П.Иванова, Л.А.Романенко, Н.М.Горшкова, В.В.Исаков, Т.Н.Звягинцева, В.В.Михайлов. *Микробиология*, **71**, 49 (2002)
96. V.Descamps, S.Colin, M.Lahaye, M.Jam, C.Richard, P.Potin, T.Barbeyron, J.-C.Yvin, B.Kloareg. *Mar. Biotechnol.*, **8**, 27 (2006)
97. S.Colin, E.Deniaud, M.Jam, V.Descamps, Y.Chevolot, N.Kervarec, J.-C.Yvin, T.Barbeyron, G.Michel, B.Kloareg. *Glycobiology*, **16**, 1021 (2006)
98. T.Sakai, K.Ishizuka, I.Kato. *Mar. Biotechnol.*, **5**, 409 (2003)
99. T.Sakai, K.Ishizuka, K.Shimanaka, K.Ikai, I.Kato. *Mar. Biotechnol.*, **5**, 536 (2003)
100. T.Sakai, H.Kimura, I.Kato. *Mar. Biotechnol.*, **5**, 380 (2003)
101. T.Sakai, H.Kimura, K.Kojima, K.Shimanaka, K.Ikai, I.Kato. *Mar. Biotechnol.*, **5**, 70 (2003)
102. W.-J.Kim, S.-M.Kim, Y.-H.Lee, H.G.Kim, H.-K.Kim, S.H.Moon, H.-H.Suh, K.-H.Jang, Y.-I.Park. *J. Microbiol. Biotechnol.*, **18**, 616 (2008)
103. T.Barbeyron, S.L'Haridon, G.Michel, M.Czjzek. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **58**, 2107 (2008)
104. N.E.Nifant'ev, V.Y.Amochaeva, A.S.Shashkov, N.K.Kochetkov. *Carbohydr. Res.*, **242**, 77 (1993)
105. A.G.Gerbst, N.E.Ustuzhanina, A.A.Grachev, D.E.Tsvetkov, E.A.Khatuntseva, N.E.Nifant'ev. *Mendeleev Commun.*, **34** (1999)
106. A.G.Gerbst, N.E.Ustuzhanina, A.A.Grachev, E.A.Khatuntseva, D.E.Tsvetkov, D.M.Whitfield, A.Berces, N.E.Nifantiev. *J. Carbohydr. Chem.*, **20**, 821 (2001)
107. V.B.Krylov, N.E.Ustyuzhanina, A.A.Grachev, N.E.Nifantiev. *Tetrahedron Lett.*, **49**, 5877 (2008)
108. E.A.Khatuntseva, N.E.Ustuzhanina, G.V.Zatonskii, A.S.Shashkov, A.I.Usov, N.E.Nifant'ev. *J. Carbohydr. Chem.*, **19**, 1151 (2000)
109. A.G.Gerbst, N.E.Ustuzhanina, A.A.Grachev, N.S.Zlotina, E.A.Khatuntseva, D.E.Tsvetkov, A.S.Shashkov, A.I.Usov, N.E.Nifantiev. *J. Carbohydr. Chem.*, **21**, 313 (2002)
110. A.G.Gerbst, N.E.Ustuzhanina, A.A.Grachev, E.A.Khatuntseva, D.E.Tsvetkov, A.S.Shashkov, A.I.Usov, M.E.Preobrazhenskaya, N.A.Ushakova, N.E.Nifantiev. *J. Carbohydr. Chem.*, **22**, 109 (2003)
111. А.Г.Гербст, А.А.Грачев, Н.Е.Устюжанина, Е.А.Хатунцева, Д.Е.Цветков, А.И.Усов, А.С.Шашков, М.Е.Преображенская, Н.А.Ушакова, Н.Э.Нифантьев. *Биоорг. химия*, **30**, 156 (2004)
112. N.Ustyuzhanina, V.Krylov, A.Grachev, A.Gerbst, N.Nifantiev. *Synthesis*, 4017 (2006)
113. N.S.Zlotina, N.E.Ustyuzhanina, A.A.Grachev, A.G.Gerbst, N.E.Nifantiev. *J. Carbohydr. Chem.*, **27**, 429 (2008)
114. A.A.Grachev, A.G.Gerbst, N.E.Ustyuzhanina, A.S.Shashkov, A.I.Usov, N.E.Nifantiev. *J. Carbohydr. Chem.*, **25**, 315 (2006)
115. M.I.Bilan, A.A.Grachev, A.S.Shashkov, N.E.Nifantiev, A.I.Usov. *Carbohydr. Res.*, **341**, 238 (2006)
116. A.A.Grachev, A.G.Gerbst, N.E.Ustyuzhanina, V.B.Krylov, A.S.Shashkov, A.I.Usov, N.E.Nifantiev. *Mendeleev Commun.*, **17**, 57 (2007)
117. N.P.Chandia, B.Matsuhiro, J.S.Ortiz, A.Mansilla. *J. Chilean Chem. Soc.*, **50**, 501 (2005)
118. M.Nagaoka, H.Shibata, I.Kimura-Takagi, S.Hashimoto, K.Kimura, T.Makino, R.Aiyama, S.Ueyama, T.Yokokura. *Glycoconjugate J.*, **16**, 19 (1999)
119. M.Tako, E.Yoza, S.Tohma. *Bot. Mar.*, **43**, 393 (2000)
120. M.I.Bilan, E.V.Vinogradova, E.A.Tsvetkova, A.A.Grachev, A.S.Shashkov, N.E.Nifantiev, A.I.Usov. *Carbohydr. Res.*, **343**, 2605 (2008)
121. T.Nishino, T.Nagumo, H.Kiyohara, H.Yamada. *Carbohydr. Res.*, **211**, 77 (1991)
122. M.-F.Marais, J.-P.Joseleau. *Carbohydr. Res.*, **336**, 155 (2001)
123. S.D.Anastuyuk, N.M.Shevchenko, E.L.Nazarenko, P.S.Dmitrenok, T.N.Zvyagintseva. *Carbohydr. Res.*, **344**, 779 (2009)
124. А.И.Усов, Г.П.Смирнова, Н.Г.Клочкова. *Изв. АН. Сер. хим.*, 1245 (2005)
125. J.-B.Lee, K.Hayashi, M.Hashimoto, T.Nakano, T.Hayashi. *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 1091 (2004)
126. C.-H.Xue, Y.Fang, H.Lin, L.Chen, Z.-J.Li, D.Deng, C.-X.Lu. *J. Appl. Phycol.*, **13**, 67 (2001)
127. Н.М.Шевченко, С.Д.Анастюк, Н.И.Герасименко, П.С.Дмитренко, В.В.Исаков, Т.Н.Звягинцева. *Биоорг. химия*, **33**, 96 (2007)
128. W.Zhu, V.E.C.Ooi, P.K.S.Chan, P.O.Ang Jr. *Biochem. Cell Biol.*, **81**, 25 (2003)
129. M.E.R.Duarte, M.A.Cardoso, M.D.Noseda, A.S.Cerezo. *Carbohydr. Res.*, **333**, 281 (2001)
130. T.Nishino, Y.Takabe, T.Nagumo. *Carbohydr. Polym.*, **23**, 165 (1994)
131. I.R.L.Albuquerque, K.C.S.Queiroz, L.G.Alves, E.A.Santos, E.L.Leite, H.A.O.Rocha. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **37**, 167 (2004)
132. E.L.Leite, M.G.L.Medeiros, H.A.O.Rocha, G.G.M.Farias, L.F.da Silva, S.F.Chavante, L.D.de Abreu, C.P.Dietrich, H.B.Nader. *Plant Sci.*, **132**, 215 (1998)
133. B.Li, X.-J.Wei, J.-L.Sun, S.-Y.Xu. *Carbohydr. Res.*, **341**, 1135 (2006)
134. G.F.Springer, H.A.Wurzel, G.M.McNeal Jr., N.J.Ansell, M.F.Doughty. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **94**, 404 (1957)
135. I.Capila, R.J.Linhardt. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **41**, 391 (2002)
136. K.Matsubara. *Curr. Med. Chem. — Cardiovasc. Hematol. Agents*, **2**, 13 (2004)
137. B.Casu, U.Lindahl. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **57**, 159 (2001)

138. F.Haroun-Bouhedja, M.Ellouali, C.Sinquin, C.Boisson-Vidal. *Thromb. Res.*, **100**, 453 (2000)
139. F.Chaubet, L.Chevolot, J.Jozefonvicz, P.Durand, C.Boisson-Vidal. In *Bioactive Carbohydrate Polymers*. (Ed. B.S.Paulsen). Kluwer Academic, Dordrecht, 2000. P. 59
140. T.Nishino, T.Nagumo. *Carbohydr. Res.*, **229**, 355 (1992)
141. X.Qui, A.Amarasekara, V.Doctor. *Carbohydr. Polym.*, **63**, 224 (2006)
142. T.Nishino, T.Nagumo. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **61**, 361 (1987); *Chem. Abstr.*, **107**, 17513v (1987)
143. М.Я.Розкин, М.Н.Левина, В.С.Ефимов, А.И.Усов. *Фармакол. токсикол.*, **51**, 63 (1988)
144. Y.Athukoral, W.-K.Jung, T.Vasanthan, Y.-J.Jeon. *Carbohydr. Polym.*, **66**, 184 (2006)
145. A.Cumashi, N.A.Ushakova, M.E.Preobrazhenskaya, A.D'Incecco, A.Piccoli, L.Totani, N.Tinari, G.E.Morozevich, A.E.Berman, M.I.Bilan, A.I.Usov, N.E.Ustyuzhanina, A.A.Grachev, C.J.Sanderson, M.Kelly, G.A.Rabinovich, S.Iacobelli, N.E.Nifantiev. *Glycobiology*, **17**, 541 (2007)
146. Н.А.Ушакова, Г.Е.Морозевич, Н.Е.Устюжанина, М.И.Билан, А.И.Усов, Н.Э.Нифантьев, М.Е.Преображенская. *Биомед. химия*, **54**, 597 (2008)
147. S.Mauray, C.Sternberg, J.Theveniaux, J.Millet, C.Sinquin, J.Tapon-Brethaudiere, A.M.Fischer. *Thromb. Haemostasis*, **74**, 1280 (1995)
148. Т.А.Кузнецова, Н.Н.Беседнова, А.Н.Мамаев, А.П.Момот, Н.М.Шевченко, Т.Н.Звягинцева. *Бюл. эксперим. биол. мед.*, **136**, 532 (2003)
149. F.C.Church, J.B.Meade, R.E.Treanor, H.C.Whinna. *J. Biol. Chem.*, **264**, 3618 (1989)
150. Е.С.Лапикова, Н.Н.Дрозд, А.С.Толстенков, В.А.Макаров, Т.Н.Звягинцева, Н.М.Шевченко, И.Ю.Бакунина, Н.Н.Беседнова, Т.А.Кузнецова. *Бюл. эксперим. биол. мед.*, **146**, 304 (2008)
151. B.Mulloy, P.A.S.Mourão, E.Gray. *J. Biotechnol.*, **77**, 123 (2000)
152. M.S.Pereira, F.R.Melo, P.A.S.Mourão. *Glycobiology*, **12**, 573 (2002)
153. Е.А.Гаврилова, И.И.Барбанова, А.И.Усов, В.С.Ефимов, А.И.Смирнов. *Эксперим. клин. фармакол.*, **60**, 42 (1997)
154. V.Grauffel, B.Kloareg, S.Mabeau, P.Durand, J.Jozefonvicz. *Biomaterials*, **10**, 363 (1989)
155. C.Boisson-Vidal, F.Chaubet, L.Chevolot, C.Sinquin, J.Theveniaux, J.Millet, C.Sternberg, B.Mulloy, A.M.Fischer. *Drug Dev. Res.*, **51**, 216 (2000)
156. K.Ley. *Trends Mol. Sci.*, **9**, 263 (2003)
157. A.Varki. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 7390 (1994)
158. F.M.Unger. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **57**, 210 (2001)
159. W.S.Somers, J.Tang, G.D.Shaw. *Cell*, **103**, 467 (2000)
160. J.Fritzsche, S.Alban, R.J.Ludwig, S.Rubant, W.-H.Boehncke, G.Schumacher, G.Bendas. *Biochem. Pharmacol.*, **72**, 474 (2006)
161. A.Koenig, K.Norgard-Sumnicht, R.Linhardt, A.Varki. *J. Clin. Invest.*, **101**, 877 (1998)
162. M.P.Skinner, C.M.Lukas, G.F.Burns, C.N.Chesterman, M.C.Berndt. *J. Biol. Chem.*, **266**, 5371 (1991)
163. М.Е.Преобразhenskaya, А.Е.Берман, В.И.Михайлов, Н.А.Ушакова, А.В.Мазуров, А.В.Семенов, А.И.Усов, Н.Е.Нифантьев, Н.В.Бовин. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **43**, 443 (1997)
164. А.В.Семенов, А.В.Мазуров, М.Е.Преображенская, Н.А.Ушакова, В.И.Михайлов, А.Е.Берман, А.И.Усов, Н.Э.Нифантьев, Н.В.Бовин. *Вопр. мед. химии*, **44**, 135 (1998)
165. Н.А.Ушакова, М.Е.Преображенская, Н.Э.Нифантьев, А.И.Усов, Т.В.Почечуева, О.Е.Галанина, Н.В.Бовин. *Вопр. мед. химии*, **45**, 375 (1999)
166. T.Utsui. *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 1965 (1980)
167. J.Teas, M.L.Harbison, R.S.Gelman. *Cancer Res.*, **44**, 2758 (1984)
168. N.Iizima-Mizui, M.Fujihara, J.Himeno, K.Komiyama, I.Umezawa, T.Nagumo. *Kitasato Arch. Exp. Med.*, **58**, 59 (1985)
169. K.Chida, I.Yamamoto. *Kitasato Arch. Exp. Med.*, **60**, 33 (1987)
170. T.Nagumo, N.Iizima-Mizui, M.Fijihara, J.Himeno, K.Komiyama, I.Umezawa. *Kitasato Arch. Exp. Med.*, **61**, 59 (1988)
171. H.Itoh, H.Noda, H.Amano, C.Zhuang, T.Mizuno, H.Ito. *Anticancer Res.*, **13**, 2045 (1993)
172. M.Ellouali, C.Boisson-Vidal, P.Durand, J.Jozefonvicz. *Anticancer Res.*, **13**, 2011 (1993)
173. C.Zhuang, H.Itoh, T.Mizuno, H.Ito. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 563 (1995)
174. D.Riou, S.Colliec-Jouault, D.Pinczon du Sel, S.Bosch, S.Siavoshian, V.Le Bert, C.Tomasoni, C.Sinquin, P.Durand, C.Roussakis. *Anticancer Res.*, **16**, 1213 (1996)
175. I.Yamamoto, M.Takahashi, E.Tamura, H.Maruyama. *Bot. Mar.*, **25**, 455 (1982)
176. I.Yamamoto, M.Takahashi, E.Tamura, H.Maruyama, H.Mori. *Hydrobiologia*, **116–117**, 145 (1984)
177. H.Maruyama, I.Yamamoto. *Hydrobiologia*, **116–117**, 534 (1984)
178. I.Yamamoto, H.Maruyama. *Cancer Lett.*, **26**, 241 (1985)
179. E.Furusawa, S.Furusawa. *Oncology*, **42**, 364 (1985)
180. I.Yamamoto, H.Maruyama, M.Takahashi, K.Komiyama. *Cancer Lett.*, **30**, 125 (1986)
181. I.Yamamoto, H.Maruyama, M.Moriguchi. *Cancer Lett.*, **35**, 109 (1987)
182. H.Maruyama, J.Nakajima, I.Yamamoto. *Kitasato Arch. Exp. Med.*, **60**, 105 (1987)
183. E.Furusawa, S.Furusawa, S.C.Chou. *Cancer Lett.*, **56**, 197 (1991)
184. B.M.Ly, N.Q.Buu, N.D.Nhut, P.D.Thinh, T.T.T.Van. *ASEAN J. Sci. Technol. Dev.*, **22**, 371 (2005)
185. C.Yang, D.Chung, I.-S.Shin, H.Lee, J.Kim, Y.Lee, S.You. *Int. J. Biol. Macromol.*, **43**, 433 (2008)
186. H.Ye, K.Wang, C.Zhou, J.Liu, X.Zeng. *Food Chem.*, **111**, 428 (2008)
187. Y.Okai, K.Higashi-Okai, S.Ishizaka, U.Yamashita. *Nutr. Cancer*, **27**, 74 (1997)
188. B.E.Shan, Y.Yoshida, E.Kuroda, U.Yamashita. *Int. J. Immunopharmacol.*, **21**, 59 (1999)
189. H.Maruyama, H.Tamauchi, M.Hashimoto, T.Nakano. *In Vivo*, **17**, 245 (2003)
190. K.Nika, B.Mulloy, B.Carpenter, R.Gibbs. *Eur. J. Phycol.*, **38**, 257 (2003)
191. Т.С.Запорожец, Л.А.Иванушко, Т.Н.Звягинцева, В.Н.Молчанова, Н.Н.Беседнова, Л.М.Эпштейн. *Мед. иммунол.*, **6**, 89 (2004)
192. E.-M.Choi, A.-J.Kim, Y.-O.Kim, J.K.Hwang. *J. Med. Food*, **8**, 446 (2005)
193. J.Shimizu, U.Wada-Funada, H.Mano, Y.Matahira, M.Kawaguchi, M.Wada. *J. Health Sci.*, **51**, 394 (2005)
194. H.Maruyama, H.Tamauchi, M.Iizuka, T.Nakano. *Planta Med.*, **72**, 1415 (2006)
195. M.R.Irhimeh, J.H.Fitton, R.M.Lowenthal. *Exp. Hematol.*, **35**, 989 (2007)
196. M.H.Kim, H.G.Joo. *Immunol. Lett.*, **115**, 138 (2008)
197. G.Ahn, I.Hwang, E.Park, J.Kim, Y.-J.Jeon, J.Lee, J.W.Park, Y.Jee. *Mar. Biotechnol.*, **10**, 278 (2008)
198. Т.С.Запорожец, Т.А.Кузнецова, Т.П.Смолина, Н.М.Шевченко, Т.Н.Звягинцева, Н.Н.Беседнова. *Журн. микробиол.*, **54** (2006)
199. Y.Aisa, Y.Miyakawa, T.Nakazato, H.Shibata, K.Saito, Y.Ikeda, M.Kixaki. *Am. J. Hematol.*, **78**, 7 (2005)

200. K.Haneji, T.Matsuda, M.Tomita, H.Kawakami, K.Ohshiro, J.Uchihara, M.Masuda, N.Takasu, Y.Tanaka, T.Ohta, N.Mori. *Nutr. Cancer*, **52**, 189 (2005)
201. A.Pilchenkov, M.Zavelevich, T.Imbs, T.Zvyagintseva, T.Zaporozhets. *Exp. Oncology*, **29**, 181 (2007)
202. M.J.Kwon, T.J.Nam. *Cell Biol. Int.*, **31**, 768 (2007)
203. D.R.Coombe, C.R.Parish, I.A.Ramshaw, J.M.Snowden. *Int. J. Cancer*, **39**, 82 (1987)
204. H.Itoh, H.Noda, H.Amano, H.Ito. *Anticancer Res.*, **15**, 1937 (1995)
205. J.M.Liu, J.Bignon, F.Haroun-Bouhedja, P.Bittoun, J.Vassy, S.Fermanjian, J.Wdzieczak-Bakala, C.Boisson-Vidal. *Anticancer Res.*, **25**, 2129 (2005)
206. Т.В.Алексеевко, С.Ю.Жанаева, А.А.Венедиктова, Т.Н.Звягинцева, Т.А.Кузнецова, Н.Н.Беседнова, Т.А.Короленко. *Бiol. эксперим. биол. мед.*, **143**, 675 (2007)
207. S.Soeda, Y.Shibata, H.Shimeno. *Biol. Pharm. Bull.*, **20**, 1131 (1997)
208. S.Soeda, T.Kozako, K.Iwata, H.Shimeno. *Biochim. Biophys. Acta — Mol. Cell Res.*, **1497**, 127 (2000)
209. S.Koyanagi, N.Tanigawa, H.Nakagawa, S.Soeda, H.Shimeno. *Biochem. Pharmacol.*, **65**, 173 (2003)
210. S.Matou, D.Helley, D.Chabut, A.Bros, A.-M.Fischer. *Thromb. Res.*, **106**, 213 (2002)
211. K.Matsubara, C.Xue, X.Zhao, M.Mori, T.Sugawara, T.Hirata. *Int. J. Mol. Med.*, **15**, 695 (2005)
212. I.Yamamoto, M.Takahashi, T.Suzuki, H.Seino, H.Mori. *Jpn. J. Exp. Med.*, **54**, 143 (1984)
213. T.Teruya, T.Konishi, S.Uechi, H.Tamaki, M.Tako. *Int. J. Biol. Macromol.*, **41**, 221 (2007)
214. M.Baba, R.Snoeck, R.Pauwels, E.De Clercq. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **32**, 1742 (1988)
215. M.Witvrouw, E.De Clercq. *Gen. Pharmacol.*, **29**, 497 (1997)
216. D.J.Schaeffer, V.S.Krylov. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, **45**, 208 (2000)
217. E.B.Damonte, M.C.Matulewicz, A.S.Cerezo. *Curr. Med. Chem.*, **11**, 2399 (2004)
218. K.D.Thompson, C.Dragar. *Phytother. Res.*, **18**, 551 (2004)
219. K.Hayashi, T.Nakano, M.Hashimoto, K.Kanekiyo, T.Hayashi. *Int. Immunopharmacol.*, **8**, 109 (2008)
220. T.Hoshino, T.Hayashi, K.Hayashi, J.Hamada, J.-B.Lee, U.Sankawa. *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 730 (1998)
221. S.Preeprame, K.Hayashi, J.-B.Lee, U.Sankawa, T.Hayashi. *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 484 (2001)
222. P.Mandal, C.G.Mateu, K.Chattopadhyay, C.A.Pujol, E.B.Damonte, B.Ray. *Antivir. Chem. Chemother.*, **18**, 153 (2007)
223. M.O.McClure, D.Whitby, C.Patience, N.J.Gooderham, A.Bradshaw, R.Cheingsong-Popov, J.N.Weber, D.S.Davies, G.M.W.Cook, R.J.Keynes, R.A.Weiss. *Antivir. Chem. Chemother.*, **2**, 149 (1991)
224. M.O.McClure, J.P.Moore, D.F.Blanc, P.Scotting, G.M.W.Cook, P.J.Keynes, J.N.Weber, D.Davies, R.A.Weiss. *AIDS Res. Human Retrovir.*, **8**, 19 (1992)
225. Л.А.Лапшина, А.В.Реунов, В.П.Нагорская, Т.Н.Звягинцева, Н.М.Шевченко. *Физиология растений*, **53**, 274 (2006)
226. O.Klarzynski, V.Descamps, B.Plesse, J.C.Yvin, B.Kloareg, B.Fritig. *Mol. Plant Microbe Interact.*, **16**, 115 (2003)
227. K.I.P.J.Hidari, N.Takahashi, M.Arihara, M.Nagaoka, K.Morita, T.Suzuki. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **376**, 91 (2008)
228. K.D.McReynolds, J.Gervay-Hague. *Chem. Rev.*, **107**, 1533 (2007)
229. T.Ghosh, K.Chattopadhyay, M.Marschall, P.Karmakar, P.Mandal, B.Ray. *Glycobiology*, **19**, 2 (2009)
230. K.J.Mengerink, V.J.Vacquier. *Glycobiology*, **11**, 37R (2001)
231. A.Vieira, D.J.Miller. *Mol. Reprod. Dev.*, **73**, 1422 (2006)
232. P.A.S.Mourão. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **40**, 5 (2007)
233. P.L.DeAngelis, C.G.Glabbe. *J. Biol. Chem.*, **262**, 13946 (1987)
234. P.L.DeAngelis, C.G.Glabbe. *Biochim. Biophys. Acta*, **1037**, 100 (1990)
235. R.Jones, R.M.Williams. *Development*, **109**, 41 (1990)
236. S.Oehninger, G.F.Clark, A.A.Acosta, G.D.Hodgen. *Fertil. Steril.*, **55**, 165 (1991)
237. M.C.Mahony, S.Oehninger, G.F.Clark, A.A.Acosta, G.D.Hodgen. *Contraception*, **44**, 657 (1991)
238. G.F.Clark, S.Oehninger, L.K.Moen. *FASEB J.*, **6**, 233 (1992)
239. C.Blondin, E.Fischer, C.Boisson-Vidal, M.D.Kazatchkine, J.Jozefonvicz. *Mol. Immunol.*, **31**, 247 (1994)
240. C.Blondin, F.Chaubet, A.Nardella, C.Sinquin, J.Jozefonvicz. *Biomaterials*, **17**, 597 (1996)
241. T.N.Zvyagintseva, N.M.Shevchenko, I.V.Nazarova, A.S.Scobun, P.A.Luk'yanov, L.A.Elyakova. *Compar. Biochem. Physiol. — C, Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, **126**, 209 (2000)
242. Л.В.Галебская, Е.В.Рюмина, Т.А.Богомаз, М.Е.Преображенская. *Биомед. химия*, **49**, 542 (2003)
243. B.Tissot, R.Daniel. *Glycobiology*, **13**, 29G (2003)
244. B.Tissot, R.Daniel, C.Place. *Eur. J. Biochem.*, **270**, 4714 (2003)
245. B.Tissot, B.Montdargent, L.Chevolot, A.Varenne, S.Descroix, P.Gareil, R.Daniel. *Biochim. Biophys. Acta*, **1651**, 5 (2003)
246. B.Tissot, F.Connet, A.Iborra, C.Berthou, N.Thielens, G.Arlaud, R.Daniel. *Biochemistry*, **44**, 2602 (2005)
247. X.Zhao, C.-H.Xue, Z.-J.Li, Y.-P.Cai, H.-Y.Liu, H.-T.Qi. *J. Appl. Phycol.*, **16**, 111 (2004)
248. J.Wang, Q.Zhang, Z.Zhang, Z.Li. *Int. J. Biol. Macromol.*, **42**, 127 (2008)
249. P.Rupérez, O.Ahrazem, J.A.Leal. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 840 (2002)
250. M.C.R.De Sousa, C.T.Marques, C.M.G.Dore, F.R.F.Da Silva, H.A.Oliveira Rocha, E.L.Leite. *J. Appl. Phycol.*, **19**, 153 (2007)
251. J.Wang, L.Liu, Q.Zhang, Z.Zhang, H.Qi, P.Li. *Food Chem.*, **114**, 1285 (2009)
252. J.Wang, Q.Zhang, Z.Zhang, J.Zhang, P.Li. *Int. J. Biol. Macromol.*, **44**, 170 (2009)
253. H.Shibata, I.Kimura-Takagi, M.Nagaoka, S.Hashimoto, H.Sawada, S.Ueyama, T.Yokokura. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **45**, 325 (1999)
254. H.Shibata, I.Kimura-Takagi, M.Nagaoka, S.Hashimoto, R.Aiyama, M.Iha, S.Ueyama, T.Yokokura. *Biofactors*, **11**, 235 (2000)
255. M.Nagaoka, H.Shibata, I.Kimura-Takagi, S.Hashimoto, R.Aiyama, S.Ueyama, T.Yokokura. *Biofactors*, **12**, 267 (2000)
256. H.Maruyama, M.Tanaka, M.Hashimoto, M.Inoue, T.Sasahara. *Life Sci.*, **80**, 775 (2007)
257. J.-H.Chen, J.-D.Lim, E.-H.Sohn, Y.-S.Choi, E.-T.Han. *Parasitol. Res.*, **104**, 245 (2009)
258. И.Д.Макаренкова, Т.С.Запорожец, Н.Н.Беседнова, Л.А.Елякова, Т.Н.Звягинцева, В.А.Потапов, И.В.Котова. *Антибиот. химиотер.*, **44**, 11 (1999)
259. И.Д.Макаренкова, Г.Г.Компанец, Т.С.Запорожец. *Журн. микробиол.*, 121 (2006)
260. B.Mulloy. *Ann. Braz. Acad. Sci.*, **77**, 651 (2005)
261. D.J.Becker, J.B.Lowe. *Glycobiology*, **13**, 41R (2003)
262. T.Ozawa, J.Yamamoto, T.Yamagishi, N.Yamazaki, M.Nishizawa. *J. Nat. Med.*, **60**, 236 (2006)
263. M.Honya, H.Mori, M.Anzai, Y.Araki, K.Nisizawa. *Hydrobiologia*, **398–399**, 411 (1999)

FUCOIDANS — SULFATED POLYSACCHARIDES OF BROWN ALGAE**A.I.Usov, M.I.Bilan***N.D.Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences**47, Leninskii prosp., 119991 Moscow, Russian Federation, Fax +7(499)135–5328*

Methods for isolation and chemical structure determination of fucoidans, which are sulfated polysaccharides of brown algae with composition varying from simple fucan sulfates to complex heteropolysaccharides, are described. Currently known structures of these biopolymers are presented. The diverse types of biological activities of fucoidans are briefly considered.

Bibliography — 263 references.

Received 10th April 2009

Свидетельство о регистрации № 0110235 от 08.02.93 в Министерстве печати и информации Российской Федерации.
Учредители: Российская академия наук, Институт органической химии им. Н.Д.Зелинского РАН

Номер набран и сверстан с использованием системы **Advent 3B2 Total Publishing System** на оборудовании, поставленном фирмой «Turpion Ltd».

Подписано к печати с оригинал-макета 10.08.09. Формат 60 × 90 1/8. Печать офсетная.
Усл. п. л. 16.0. Уч.-изд. л. 16.5. Тираж 500 экз. Заказ 1240.

Отпечатано в полном соответствии с качеством предоставленных диапозитивов в ППП «Типография «Наука»
121099 Москва, Шубинский пер., 6.
