

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ИНСТИТУТ ЭЛЕМЕНТОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
ИМ. А.Н. НЕСМЕЯНОВА

На правах рукописи

АВЕРИНА ЕЛЕНА СЕРГЕЕВНА

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЖИРА
БАЙКАЛЬСКОЙ НЕРПЫ *PHOCA (PUSA) SIBIRICA GMEL* И
РАЗРАБОТКА НОВЫХ ПУТЕЙ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ.**

02.00.06. Высокомолекулярные соединения
02.00.10. Биоорганическая химия

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Москва – 2003



Работа выполнена в Байкальском институте природопользования СО РАН.

Научные руководители: доктор химических наук, профессор Бодоев Н. В.
кандидат химических наук Раднаева Л. Д.

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор Ямсков И.А.
кандидат химических наук Райгородский И.М.

Ведущая организация: Российский химико-технологический университет им.
Д.И. Менделеева

Защита диссертации состоится 11 декабря 2003 г. в 10 часов на заседании
Диссертационного совета К.002.250.02 в институте элементоорганических
соединений им. А.Н. Несмеянова РАН по адресу: 119991, ГСП-1, Москва, ул.
Вавилова, д. 28.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИНЭОС им. А.Н.
Несмеянова РАН.

Автореферат разослан 10 ноября 2003 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
К.002.250.02
кандидат химических наук
старший научный сотрудник



А.Ю. Рабкина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Байкальская нерпа является замыкающим звеном в трофической цепи оз. Байкал, оказывает огромное влияние на функционирование экосистемы озера и служит индикатором не только рыбных запасов, но и биоценоза в целом, включая антропогенное воздействие. Важнейшими характеристиками физиолого-биохимической индикации состояния организмов и популяций при различных условиях обитания являются липидные показатели, в том числе жирнокислотный состав, отражающие степень благополучия как отдельных особей, так и популяций в целом. Для исследования путей формирования и выявления основных параметров, влияющих на жирнокислотный состав гидробионтов, актуален поиск новых подходов к исследованию состава липидов гидробионтов и методам интерпретации полученных данных.

Устойчивая тенденция к более широкому применению в практическом здравоохранении лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище на основе натурального сырья привлекает внимание к жирам рыб и морских млекопитающих, содержащих биологически активные полиненасыщенные жирные кислоты в том числе с 5 и 6 двойными связями, которых нет ни в животных жирах, ни в растительных маслах.

Жиры гидробионтов, как возобновляемые природные ресурсы, перспективны для производства новых защитных покрытий, смазок, уплотнителей, чернил, поверхностно-активных веществ.

На протяжении длительного времени ведется меховой промысел байкальской нерпы. Жир, составляющий половину массы туши, до сих пор практически не используется. Жир байкальской нерпы содержит большое количество биологически активных полиненасыщенных кислот, в том числе эссенциальных. Поэтому работа, направленная на исследование жирнокислотного состава и поиски новых путей применения жира байкальской нерпы в фармакологии и различных областях химии, актуальна.

Поддержка данного исследования грантами ФЦП "Интеграция", ФНТП "Научные исследования высшей школы по приоритетным направлениям науки и техники" (подпрограмма "Химия и химические продукты"), ФЦП "Экология и природные ресурсы России" (подпрограмма "Охрана озера Байкал и Байкальской природной территории"), и грантами Сибирского Отделения РАН "Направленный поиск биологически активных соединений и разработка научных основ создания лекарственных препаратов" и "Проведение экспедиционных исследований эндемиков оз. Байкал" также свидетельствует о новизне и перспективности представленного исследования.

Цель работы – исследование жира байкальской нерпы *Phoca (Pusa) Sibirica Gmel* и поиски новых путей его применения.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать жирнокислотный состав жира эндемиков оз. Байкал: нерпы и голомянки – главной кормовой базы нерпы.
2. Выделить и исследовать концентрат полиненасыщенных жирных кислот жира байкальской нерпы, а также разработать на его основе лекарственные препараты в липосомальной форме.

3. Найти пути практического применения жира байкальской нерпы: получить и исследовать свойства сополимеров и поверхностно-активных соединений на основе жира и жирных кислот жира нерпы.

Научная новизна работы. Исследование жирнокислотного состава жира байкальской нерпы послойно и проведение сравнительного анализа жирнокислотного состава жира байкальской нерпы и жира основной кормовой базы нерпы – голомянки, а также жирнокислотного состава жира близких морских родственников нерпы – кольчатого тюленя (Северное море) и различных морских рыб – кормовой базы кольчатого тюленя с использованием многофакторного анализа принципиальных компонент – principle component analysis (PC-analysis) выявило систематические различия процентного содержания жирных кислот в исследованных объектах. Полученные данные показывают уникальный состав жирных кислот жира байкальских тюленя и голомянки, который отличается от жирнокислотного состава жира морских тюленей и морских рыб.

Получен и исследован концентрат полиненасыщенных жирных кислот, выделенных из жира байкальской нерпы, который включает широкий спектр полиненасыщенных кислот, в том числе эссенциальных (линолевая – $11,8 \pm 0,5\%$, линоленовая – $7,3 \pm 0,7\%$, арахидоновая – $6,2 \pm 0,6\%$, эйкозапентаеновая – $14,1 \pm 1,8\%$, докозагексаеновая – $23,7 \pm 4,0\%$).

Получены сополимеры метилметакрилата и триацилглицеринов ненасыщенных жирных кислот, а также свободных жирных кислот жира байкальской нерпы при различных соотношениях исходных мономеров, изучены их термические, термомеханические и поверхностно-активные свойства. В реакциях гетерофазной полимеризации стирола с использованием в качестве ПАВ синтезированных сополимеров получены полистирольные суспензии с узким распределением частиц по размерам, коэффициент полидисперсности у этих суспензий в основном не превышает значения 1,02.

Практическая значимость работы. Липосомальные средства на основе концентрата полиненасыщенных жирных кислот, выделенного из жира байкальской нерпы, обладают иммуннобиологической и гепатозащитной активностью. Так, полученные препараты обладают иммунномоделирующим действием в отношении макрофагального и гуморального звеньев иммунного ответа на фоне введения в организм иммунодепрессанта азатиоприна. Липосомы с включением природных ксантонов повышают скорость секреции желчи, экскрецию холестерина и выделение билирубина, стимулируют синтез желчных кислот.

Полистирольные суспензии с узким распределением частиц по размерам, полученные в присутствии жира байкальской нерпы, смеси жирных кислот жира нерпы, а также синтезированных сополимеров: жира и метилметакрилата, жирных кислот жира нерпы и метилметакрилата, диэфиров полиэтиленгликолей-600, -2000 и жирных кислот жира нерпы, моноэфиров метилполиэтиленгликолей-550, -1900 и жирных кислот жира нерпы, могут быть рекомендованы в качестве носителей биолигандов в иммунохимических исследованиях.

Олигоэфиры, модифицированные жиром байкальской нерпы и покрытия на их основе отличаются от пентафталевых алкидных смол на основе подсолнечного масла более высокой эластичностью пленок.

Апробация работы. Результаты работы докладывались на научно-практической конференции "Проблемы охраны здоровья рыб в аквакультуре" (Москва, 2000 г.), всероссийской научно-практической конференции и выставки с международным участием "Достижения науки и техники – развитию сибирских регионов" (Красноярск, 1999 г.), 1-ой и 2-ой международной конференции молодых ученых и студентов "Актуальные проблемы современной науки" (Самара, 2000, 2001 гг.), 1-ой и 2-ой школах-семинарах молодых ученых России "Проблемы устойчивого развития региона" (Улан-Удэ, 1999, 2001 гг.), всероссийской конференции с международным участием "Современные проблемы химии высокомолекулярных соединений: высокоэффективные и экологически безопасные процессы синтеза природных и синтетических полимеров и материалов на их основе" (Улан-Удэ, 2002 г.), втором международном симпозиуме "Экологически эквивалентные и экзотические виды гидробионтов в великих и больших озерах мира" (Улан-Удэ, 2002 г.).

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 4 статьи, 6 тезисов докладов.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, включающего 3 главы, экспериментальной части, выводов и списка литературы, включающего 148 библиографических ссылок. Диссертация содержит 26 таблиц, 36 рисунков.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Исследование жира нерпы оз. Байкал

Основным фактором существования любой экосистемы являются трофические или пищевые связи, которые состоят из нескольких уровней – первичные продуценты и консументы различных уровней. Липиды являются основным источником энергии организмов, и функционирование любых экосистем во многом связано с их биосинтезом и транспортом в пищевых цепях. На вершине пищевой пирамиды оз. Байкал находится единственное млекопитающее, обитающее в Байкале – нерпа (*Phoca (Pusa) Sibirica Gmel*), которое, наряду с омулем, является главным промысловым видом и основным объектом биологического мониторинга оз. Байкал (Закон "Об охране оз. Байкал").

Исследование фракционного состава жира байкальской нерпы показало, что жир нерпы содержит более 90% триглицеридов, 3-5% свободных жирных кислот, 1-3% фосфолипидов, следовые количества диглицеридов и холестерина и не содержит восков. Структура жира исследовано методами ЯМР-Н¹- и ИК-спектроскопии, определена его средняя молекулярная масса.

1.1 Исследование жирнокислотного состава жира нерпы и проведение сравнительного анализа с составом жиров морских тюленей.

Основное внимание в ряде публикаций последних лет в области исследований жирнокислотного состава липидов гидробионтов направлено на

проведение сравнительного межвидового анализа жирнокислотного состава гидробионтов, а также изучение состава жирных кислот липидов объектов трофических цепей. Различия жирнокислотного состава жиров тюленей разных мест обитания объяснялись особенностями кормовой базы, но в ряде публикаций были получены данные, указывающие на более сложные механизмы формирования состава жиров. Поэтому исследования жирнокислотного состава жира байкальской нерпы послойно с целью сравнительного анализа состава жира байкальской нерпы и тюленей других ареалов, а также выявления зависимости жирнокислотного состава от состава жиров пищевой базы являются актуальными.

Проведен сравнительный анализ жирнокислотного состава жира байкальской нерпы с составом жирных кислот жира голомянки оз. Байкал – основной пищевой базы нерпы, а также с составом жира близких морских родственников нерпы – кольчатых тюленей (Северное море), и различных морских рыб (табл. 1). Жирнокислотный состав подкожного жира тюленей и байкальской нерпы сравнивали послойно: внутренний слой – слой подкожного жира, прилегающий к мышцам, и верхний слой – прилегающий к шкуре животного.

При сравнении жирнокислотного состава жиров байкальской нерпы и голомянки необходимо отметить следующие общие закономерности: более высокий уровень содержания кислот, типичных для пресноводных гидробионтов – 18:2 ω 6, 20:2 ω 6, 20:4 ω 6, 18:3 ω 3 и 20:3 ω 3, и более низкое содержание кислот, характерных для морских млекопитающих и рыб – 20:1 ω 9, 22:1 ω 9 и 20:5 ω 3. Различия жирнокислотного состава жиров голомянок и байкальской нерпы наиболее явно проявляются в следующем: кислоты 16:0, 18:0, 20:0, 20:4 ω 6, 20:5 ω 3, 22:1 ω 9, 24:1 ω 9 – имеют наибольшее содержание в жире голомянок, в то время как кислоты 16:1 ω 7, 18:1 ω 9, 22:5 ω 3 в жире голомянок находятся в меньшей концентрации по сравнению с жиром нерпы. Все указанные различия проявляются в наибольшей степени при сравнении состава кислот жира голомянки и внешнего слоя жира нерпы. Явные различия жирнокислотного состава найдены и между внутренним и верхним слоями жира обоих видов тюленей. Во внутреннем слое все насыщенные кислоты находятся в более высоких концентрациях, в то время как 14, 16 и 18-моноеновые представлены в низких количествах по сравнению с верхним слоем. Исключение составляет только 18:1 ω 7 кислота для жира кольчатого тюленя. Обратное соотношение наблюдается для длинноцепочечных моноеновых 20:1 ω 9, 22:1 ω 9 и 24:1 ω 9 кислот, представленных в более высоких концентрациях во внутреннем слое жиров изученных тюленей. Для ω 6 полиненасыщенных кислот различия между слоями, как правило, малы. Для нерпы относительные концентрации всех четырех ω 6 кислот: 16:2 ω 6, 18:2 ω 6, 20:2 ω 6 и 20:4 ω 6, более высоки по сравнению с данными по кольчатому тюленю. Для ω 3 полиненасыщенных кислот: кислоты 18:3 ω 3 и 20:3 ω 3 имеют, как правило, более высокое содержание во внутреннем слое тюленей обоих видов. Две ω 3 кислоты с 22 атомами углерода представлены в различных соотношениях для двух видов тюленей, в нерпе – более высокое содержание во внутреннем слое жира, в то время как в кольчатом тюлене – в верхнем.

Интересно отметить большее содержание таких эссенциальных жирных кислот как 18:2 ω 6, 18:3 ω 3 и 20:4 ω 6 в жире голомянки и нерпы по сравнению с жирами морских рыб и кольчатых тюленей.

Значения отношений ω 6/ ω 3, а также 20:4 ω 6/20:5 ω 5 кислот наибольшие для байкальских образцов (табл. 1), что согласуется с литературными данными для пресноводных видов гидробионтов.

Таблица 1. Усредненный жирнокислотный состав (процентное содержание) жиров голомянки, внутреннего и верхнего слоя жира байкальской нерпы, различных видов морских рыб, внутреннего и внешнего слоя кольчатого тюленя Северного моря (о. Свалбард).

Место обитания	Оз. Байкал			Северное море		
Образец	Голомян-ка	Нерпа		Морская рыба	Кольчатый тюлень	
Слой жира	—	внутрен-ний	верхний	—	внутрен-ний	верхний
Жирные кислоты	N** = 10	N = 5	N = 5	N = 24	N = 12	N = 12
14:0	6.3 ± 1.4	6.4 ± 0.7	4.4 ± 1.2	4.6 ± 1.9	5.3 ± 0.7	3.4 ± 0.4
14:1 ω 5	0.3 ± 0.1	1.3 ± 0.2	2.0 ± 0.5	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.4	1.7 ± 0.3
15:0	0.51 ± 0.05	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.07 ± 0.01	0.34 ± 0.04	0.25 ± 0.04
16:0	17.5 ± 0.4	10.4 ± 1.5	6.4 ± 2.0	13.5 ± 1.4	11.9 ± 3.7	5.2 ± 0.8
16:1 ω 7	12.2 ± 3.6	18.4 ± 2.5	25.7 ± 2.6	12.3 ± 2.9	18.3 ± 2.2	21.6 ± 2.8
16:2 ω 6	1.1 ± 0.4	1.0 ± 0.3	0.9 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1
18:0	3.3 ± 0.4	1.5 ± 0.2	0.6 ± 0.2	2.1 ± 0.8	1.2 ± 0.3	0.4 ± 0.1
18:1 ω 9	17.3 ± 2.1	19.5 ± 8.0	28.1 ± 9.9	12.5 ± 3.5	16.9 ± 4.3	25.6 ± 2.9
18:1 ω 7	5.5 ± 0.9	5.6 ± 1.3	7.1 ± 1.0	4.3 ± 1.6	5.7 ± 1.4	5.3 ± 0.8
18:1 ω 5	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.08 ± 0.02	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2
18:2 ω 6	4.9 ± 1.0	4.2 ± 0.5	4.0 ± 0.9	1.1 ± 0.3	1.3 ± 0.2	1.4 ± 0.1
18:3 ω 3	3.3 ± 0.6	2.6 ± 0.7	2.0 ± 0.6	0.7 ± 0.3	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1
20:0	0.2 ± 0.1	0.09 ± 0.05	0.02 ± 0.02	0.11 ± 0.05	0.05 ± 0.02	0.02 ± 0.01
20:1 ω 9	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.3 ± 0.1	12.5 ± 3.1	10.5 ± 5.7	7.4 ± 1.9

20:2 ω 6	0.8 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.2	0.22 $\pm$ 0.02	0.2 $\pm$ 0.1
20:4 ω 6	4.5 $\pm$ 1.9	2.2 $\pm$ 0.6	2.1 $\pm$ 0.4	0.7 $\pm$ 0.5	0.34 $\pm$ 0.04	0.5 $\pm$ 0.1
20:3 ω 3	0.29 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.04	0.2 $\pm$ 0.1	0.09 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.01	0.27 $\pm$ 0.01
20:5 ω 3	7.4 $\pm$ 2.0	5.0 $\pm$ 1.8	4.2 $\pm$ 2.1	11.4 $\pm$ 1.9	10.4 $\pm$ 1.4	8.6 $\pm$ 1.5
22:1 ω 9	0.16 $\pm$ 0.03	0.09 $\pm$ 0.03	0.02 $\pm$ 0.03	9.4 $\pm$ 3.7	0.6 $\pm$ 0.3	0.2 $\pm$ 0.1
22:5 ω 3	1.1 $\pm$ 0.2	5.0 $\pm$ 1.1	3.3 $\pm$ 1.3	1.2 $\pm$ 0.7	4.7 $\pm$ 1.2	5.3 $\pm$ 0.3
22:6 ω 3	10.9 $\pm$ 4.7	14.4 $\pm$ 4.0	7.5 $\pm$ 2.6	11.8 $\pm$ 3.8	9.2 $\pm$ 2.2	10.7 $\pm$ 1.4
24:1 ω 9	1.3 $\pm$ 0.6	0.2 $\pm$ 0.1	0.01 $\pm$ 0.01	0.7 $\pm$ 0.2	0.08 $\pm$ 0.05	0.04 $\pm$ 0.01
Насыщен- ные	28	19	12	20	19	9
Мононена- сыщенные	38	46	63	52	53	63
Полинена- сыщенные	34	35	25	28	28	28
ω 6/ ω 3	0.55	0.35	0.7	0.1	0.1	0.1

* - первый индекс указывает на число углеродных атомов, второй – на количество ненасыщенных связей.

** - число особей.

Данные, представленные в таблице 1, были обработаны с помощью мультивариационного анализа принципиальных компонент (principle component analysis, РС-анализ). РС-анализ представляет собой интерпретацию результатов, данных в таблице жирнокислотного состава на основании объединения информации о всех 22 жирных кислотах одновременно. РС-анализ приводит к РС-графику (рис. 1), который является проектированием всех образцов на систему, размерность которой = 22. Оси системы – первая и вторая принципиальные компоненты. Полученный график показывает, что имеются систематические различия между образцами жира байкальской нерпы (область 1) и морскими тюленями (область 3). Имеется также систематическое различие между образцами жира нерпы и их добычи (область 2). Это означает, что имеется уникальный состав жирных кислот жира байкальских тюленя и голомянки, который отличается от жирнокислотного состава жира морских тюленей и рыбы (область 4). С другой стороны, рыба имеет жирнокислотный состав, отличный от жирнокислотного состава жира тюленей. Необходимо также отметить, что тюлени имеют различный жирнокислотный состав во внутреннем и внешнем слое подкожного жира. Состав внутреннего слоя, при этом, менее отличен от жирнокислотного состава жира добычи чем внешний слой (рис. 2).

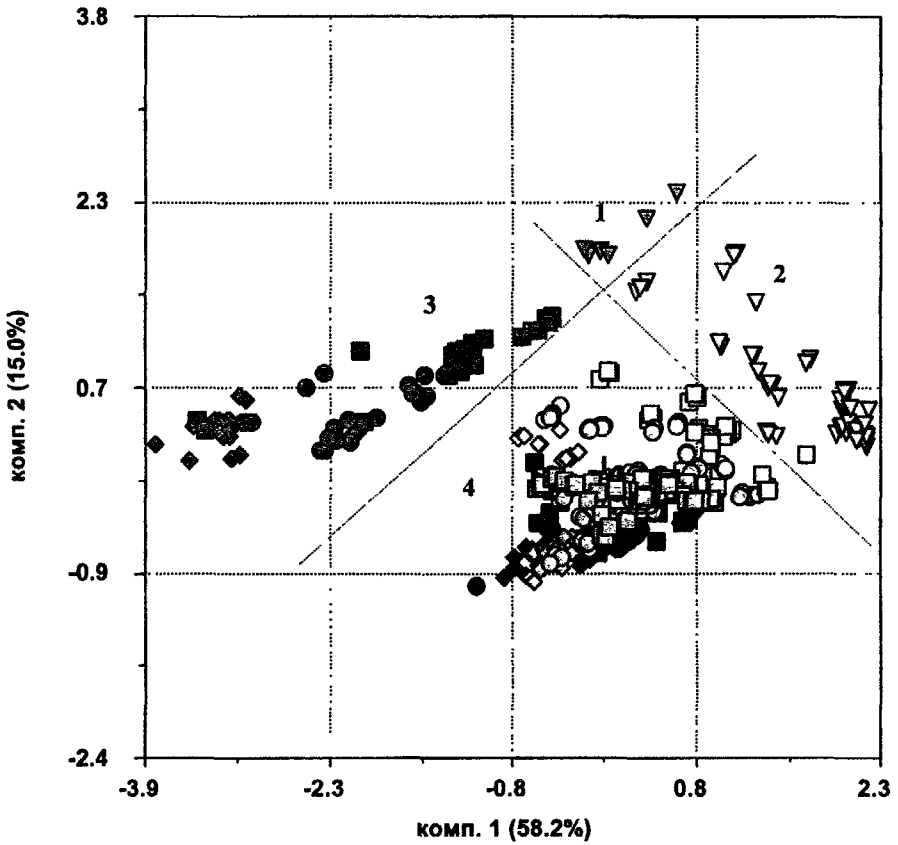


Рис. 1. График анализа принципиальных компонент
 1 – байкальская нерпа, 2 – голомянка оз. Байкал,
 3 – тюлени Северного моря, 4 – морская рыба.

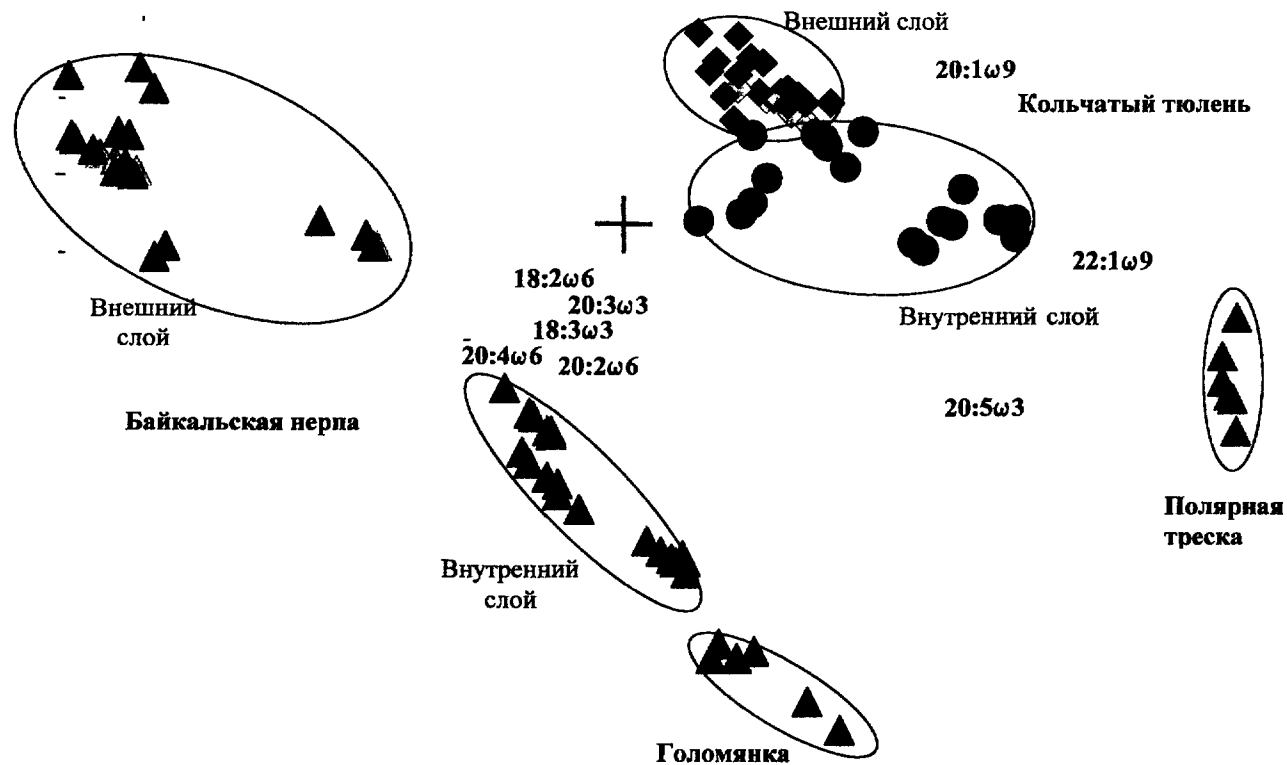


Рис. 2. График анализа принципиальных компонент: жирнокислотный состав исследованных образцов

2. Исследование биологической активности жирных кислот жира байкальской нерпы.

Жир байкальской нерпы содержит большое количество полиненасыщенных жирных кислот, высокая биологическая активность которых обуславливает перспективность получения концентратов с повышенным содержанием полиненасыщенных кислот.

2.1. Получение и исследование концентрата жирных кислот жира байкальской нерпы, обогащенного полиненасыщенными кислотами.

Нами был получен концентрат жирных кислот жира байкальской нерпы, обогащенный полиненасыщенными жирными кислотами методом комплексообразования свободных кислот, выделенных из жира нерпы, с мочевиной.

Исследование жирнокислотного состава концентрата полиненасыщенных жирных кислот методом газохромато-масс-спектрометрии выявило большое разнообразие ненасыщенных жирных кислот в концентрате (табл. 2).

Таблица 2. Состав полиненасыщенных жирных кислот концентрата жирных кислот жира байкальской нерпы.

Жирная кислота	Содержание, %
Гексадекадиеновая (16:2)*	2,8 ± 0,3
Октадекадиеновая (линолевая, 18:2)	11,8 ± 0,5
Октадекатриеновая (линоленовая 18:3)	7,3 ± 0,7
Эйкозадиеновая (20:2)	1,9 ± 0,1
Эйкозатетраеновая (арахидоновая, 20:4)	6,2 ± 0,6
Эйкозатриеновая (20:3)	0,9 ± 0,04
Эйкозапентаеновая (20:5)	14,1 ± 1,8
Докозапентаеновая (22:5)	15,3 ± 1,1
Докозагексаеновая (22:6)	23,7 ± 4,0

* - первый индекс указывает на число углеродных атомов, второй – на количество ненасыщенных связей.

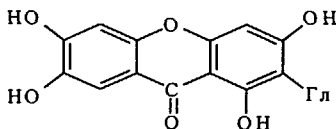
2.2. Биологическая активность липосом на основе концентрата жирных кислот жира байкальской нерпы.

Для повышения эффективности лекарственных средств желчегонного и гепатопротекторного действия на основе ксантонов перспективно использование их в липосомальной форме, что снизит токсичность и улучшит селективность действия препаратов.

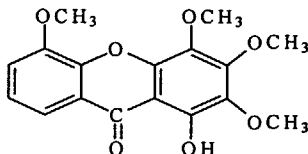
Введение в липосомы концентрата, содержащего большое количество полиненасыщенных жирных кислот позволит увеличить биологическую активность указанных препаратов.

Известна желчегонная активность ксантонов, выделенных из горечавника бородатого и галении рогатой:

Ксантоновый гликозид
(мангиферин).



Ксантоновый агликон.



Липосомы получали по стандартной методике из фосфолипидов яичного желтка с включением концентрата жирных кислот жира байкальской нерпы в соотношении 2:3. Ксантоновый гликозид и агликон вводили в липосомы в терапевтической дозе, которая составляет 5 мг/кг.

В эксперименте участвовало 4 группы животных:

1. Контрольная группа.
2. Липосомальная группа (Лип).
3. Липосомы + ксантоновый агликон (ЛипА).
4. Липосомы + ксантоновый гликозид (ЛипГ).

Препарат вводили энтерально и парэнтерально с целью выяснения наиболее оптимального введения. Результаты исследования приведены в таблице 3.

При энтеральном введении липосом с включением ксантонового гликозида белым крысам скорость секреции желчи через 1 час возрастает на 28%. При этом холеретическая реакция у крыс сохраняется в течение всего эксперимента. Так, скорость секреции желчи через 2-4 часа возрастает на 13%-16% с одновременным увеличением общего количества выделенной желчи на 18%. На этом фоне в желчи крыс повышается уровень общих холатов на 11%, а также ускорялось выделение холестерина в 3 раза и экскреции билирубина в 2 раза. При внутривенном введении крысам ксантонового гликозида в липосомальной форме общее количество выделенной желчи увеличивалось на 41%. Концентрация общих холатов в желчи возрастала на 82%, экскреция билирубина ускорялась на 40%, холестерина на 25%. Липосомы с включением гликозида при внутривенном введении повышали общее количество выделенной желчи на 29%. При этом в желчи крыс повышался уровень общих холатов на 92%, билирубина – в 1,5 раза и холестерина – на 25%.

Липосомы с включением ксантонового агликсона при энтеральном пути введения увеличивают скорость секреции желчи через час после его введения на 28% с одновременным повышением общего количества выделенной желчи. На фоне этого возрастает концентрация общих холатов в 3 раза и ускоряется экскреция с желчью холестерина в 2 раза. При введении липосом+агликон животным внутривенно отмечается повышение общее количество выделенной желчи на 44%. При этом возрастает уровень общих холатов в 1,5

раза, билирубина – на 31%, холестерина на 41%. Внутривенное введение животным ксантонового агликаона в липосомальной форме сопровождается повышением скорости секреции желчи через 1 час на 30%. Общее количество выделенной желчи возрастало на 28%. При этом стимулировался синтез и выделение общих холатов на 74% и ускорялась экскреция билирубина в 1,5 раза.

Таким образом, установлено, что липосомальная форма природных ксантонов повышает скорость секреции желчи, экскрецию холестерина и выделение билирубина, стимулирует синтез желчных кислот.

Таблица 3. Влияние липосомальных препаратов, включающих концентраты жирных кислот жира байкальской нерпы с ксантоновым наполнителем (гликозид и агликон) на внешнесекреторную функцию intactных белых крыс.

Условия опыта	Скорость секреции желчи в течение 5 часов, Мг/мин на 100г.					Общее кол-во желчи Мг/100г	Желчные кислоты	Билирубин	Холестерин
	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч	5 ч				
Энтеральный путь введения									
Контроль	5,4±0,5	5,0±0,5	4,8±0,4	4,4±0,3	4,3±0,3	1110±13	23	26	6
Лип	5,6±0,5	5,6±0,4	4,7±0,4	4,1±0,3	3,5±0,3	1074±90	31	44	7,1
ЛипГ	7,3±0,4	6,4±0,4	5,3±0,4	4,4±0,3	4,1±0,3	1212±82	57	42	15
ЛипА	6,7±0,2	6,4±0,4	5,4±0,4	5,1±0,3	4,9±0,2	1308±84	49	47	15
Внутрибрюшинный путь введения									
Контроль	5,4±0,5	5,0±0,5	4,8±0,4	4,4±0,3	4,3±0,3	1100±13	112	32	12
Лип	6,3±0,5	7,9±0,5	6,2±0,5	5,5±0,4	4,9±0,4	1470 ± 109	234	34	23
ЛипГ	7,7±0,3	8,1±0,5	6,8±0,4	6,1±0,4	5,7±0,3	1602±95	176	42	17
ЛипА	7,1±0,4	8,3±0,4	6,8±0,3	5,6±0,4	5,3±0,3	1506±94	202	45	15
Внутривенный путь введения									
Контроль	5,4±0,5	5,0±0,5	4,8±0,4	4,4±0,3	4,3±0,3	1110±13	112	32	12
Лип	5,6±0,4	6,1±0,4	6,5±0,4	5,9±0,4	4,9±0,4	1404 ± 104	188	36	27
ЛипГ	6,5±0,4	6,5±0,3	6,7±0,3	6,2±0,5	4,2±0,4	1416 ± 104	194	51	9
ЛипА	5,8±0,3	6,7±0,3	7,0±0,5	5,4±0,5	4,9±0,4	1428±83	214	54	15

Совместно с проблемной научно-исследовательской лабораторией Восточно-Сибирского государственного технологического университета проведены исследования иммунокорригирующей активности липосомальных средств на основе концентрата жирных кислот жира байкальской нерпы. В опытах на лабораторных животных показано, что полученные препараты обладают иммуномоделирующим действием в отношении макрофагального и гуморального звеньев иммунного ответа на фоне введения в организм иммунодепрессанта азатиоприна (табл 4, 5).

Таблица 4. Показатели фагоцитоза *Staphylococcus aureus* перитонеальными макрофагами мышей *in vitro* при воздействии липосомальных средств.

Группы животных	Активность фагоцитоза	Интенсивность фагоцитоза
Контроль (интактные клетки)	64,1±5,6	16,8±1,8
Азатиоприн	36,6±4,2	8,7±0,6
Лип на основе концентрата	78,3±6,3	23,5±1,9
Лип на основе жира	67,6±6,2	18,4±1,5
Азатиоприн + Лип на основе концентрата	65,6±7,1	16,6±1,7
Азатиоприн + Лип на основе жира	60,3±5,8	15,3±1,2

Таблица 5. Количество антителообразующих клеток (АОК) селезенки мышей в ответ на введение эритроцитов барана под влиянием липосомальных средств.

Группы животных	Абсолютное количество АОК (на селезенку)	Относительное количество АОК (на 10 ⁶ спленоцитов)
Контроль (интактные животные)	72950±4477	1432,0±207,2
Азатиоприн	29375±2546	905,3±84,4
Азатиоприн + Лип на основе концентрата	73086±1652	1785,0±64,2
Азатиоприн + Лип на основе жира	60367±4631	1278,0±97,0

Таким образом, липосомальные средства, полученные на основе концентратов полиненасыщенных жирных кислот, обладают более выраженной иммунобиологической активностью по сравнению с липосомальными препаратами на основе жира нерпы.

3. Синтез и исследование сополимеров на основе жира и жирных кислот жира байкальской нерпы.

Высокая степень ненасыщенности жирных кислот жира байкальской нерпы позволяет предположить для жира и жирных кислот активность в реакциях полимеризации и сополимеризации.

Сополимеры жира байкальской нерпы и метилметакрилата, а также жирных кислот и метилметакрилата получали методом радикальной сополимеризации, в мольном соотношении жира нерпы (жирных кислот) и метилметакрилата: 1:10, 1:5, 1:3. Сополимеризацию проводили в массе, в качестве инициатора использовали динитрил азобисизомасляной кислоты.

Рассчитанное соотношение мономерных единиц в полученных сополимерах по данным ЯМР-спектра (расчет по соотношению CH_3 - в кислотном остатке жиров и CH_3 - групп в звене ММА) для сополимера (1:10) (мольное соотношение жир нерпы : метилметакрилат – 1:10) составляет 1:19, для сополимеров (1:5) и (1:3) – 1:3. Следовательно, в этих сополимерах на один кислотный остаток триглицерида приходится 19, 3 и 3 звена ММА соответственно. Рассчитанное соотношение мономерных единиц в сополимерах жирных кислот и метилметакрилата по данным ЯМР H^1 – спектра для всех сополимеров составляет 1:2 (жирные кислоты : метилметакрилат). Растворимость полученных сополимеров не отличается от растворимости ПММА.

Молекулярно-массовые характеристики определяли методом гель-проникающей хроматографии (табл. 6). Полученные данные свидетельствуют о более высоких молекулярных массах сополимера жира нерпы и метилметакрилата.

Таблица 6. ММР сополимеров на основе жира (жирных кислот жира нерпы) и метилметакрилата в мольном отношении 1:5.

Сополимер	Среднечисловая молекулярная масса, M_n	Средневесовая молекулярная масса, M_w	Коэффициент полидисперсности
жир нерпы : метилметакрилат (1:5)	36230	72320	2,0
жирные кислоты : метилметакрилат (1:5)	17180	36080	2,1

По данным термомеханических испытаний в зависимости от содержания жира в сополимере значительно меняется температура стеклования сополимеров (табл. 7). Увеличение содержания жира в сополимере приводит к снижению температуры стеклования сополимеров от 135°C до 85-90°C. Температура стеклования сополимеров жирных кислот жира нерпы и ММА также ниже температуры стеклования ПММА и сополимеров ММА и жира (табл. 7).

Таблица 7. Температуры стеклования ($T_{ст}$) и начала разложения ($T_{нр}$) сополимеров.

Свойства	Образцы*				
	ПММА	Жир:ММА (1:10)	Жир:ММА (1:5)	Жир:ММА (1:3)	Жирные кислоты:ММА (1:5)
$T_{ст}, ^\circ\text{C}$	135	100	85	90	65
$T_{нр}, ^\circ\text{C}$	250	250	300	300	240

* - в скобках дано мольное соотношение жир:метилметакрилат.

Термостабильность сополимеров мало отличаются от термостабильности чистого ПММА (табл.7). Так сополимер жира нерпы и метилметакрилата в мольном соотношении 1:10 разлагается практически так же, как и чистый ПММА, а сополимеры с повышенным содержанием жира начинают разлагаться при температуре 300°C , что на 50°C выше чем разложение чистого ПММА. Термические свойства сополимеров жирных кислот и ММА также практически не отличаются от термических свойств чистого ПММА и сополимеров жира и метилметакрилат (табл.7).

Полученные сополимеры жира и жирных кислот с ММА обладают поверхностно-активными свойствами.

4. Синтез и свойства эфиров полиэтиленгликолей и кислот жира байкальской нерпы.

Синтезированы эфиры полиэтиленгликолей – 600, 2000, метилполиэтиленгликолей – 550, 1900 и миристиновой кислоты, а также свободных жирных кислот, выделенных из жира байкальской нерпы.

Данные ЯМР-Н¹ спектров и элементного анализа позволяют сделать вывод об образовании эфиров рассчитанного состава – диэфиров полиэтиленгликолей-600, 2000 и моноэфиров метилполиэтиленгликолей-550, 1900.

Исследованы поверхностные свойства полученных эфиров. Поверхностное натяжение полученных эфиров измеряли методом Вильгельми (методом отрыва пластинки) (рис. 3, 4). Наибольшей способностью понижать поверхностное натяжение в ряду эфиров полиэтиленгликолей и миристиновой кислоты обладает моноэфир метилполиэтиленгликоля-550, в то время как в ряду эфиров полиэтиленгликолей и жирных кислот наибольшей способностью понижать поверхностное натяжение обладает диэфир полиэтиленгликоля-2000 и жирных кислот.

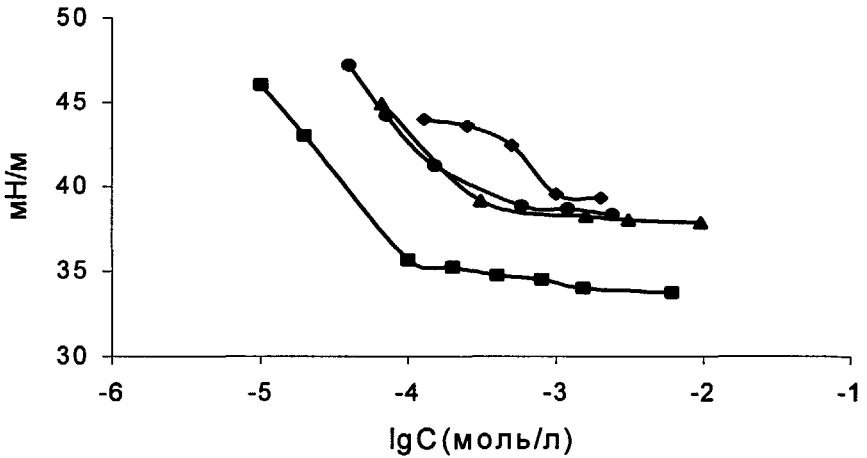


Рис. 3. Диаграмма зависимости поверхностного натяжения от lg концентрации:

◆— диэфир полиэтиленгликоля-2000 и миристиновой кислоты, —●— моноэфир метилполиэтиленгликоля-1900 и миристиновой кислоты, —▲— диэфир полиэтиленгликоля-600 и миристиновой кислоты, —■— моноэфир метилполиэтиленгликоля-550 и миристиновой кислоты.

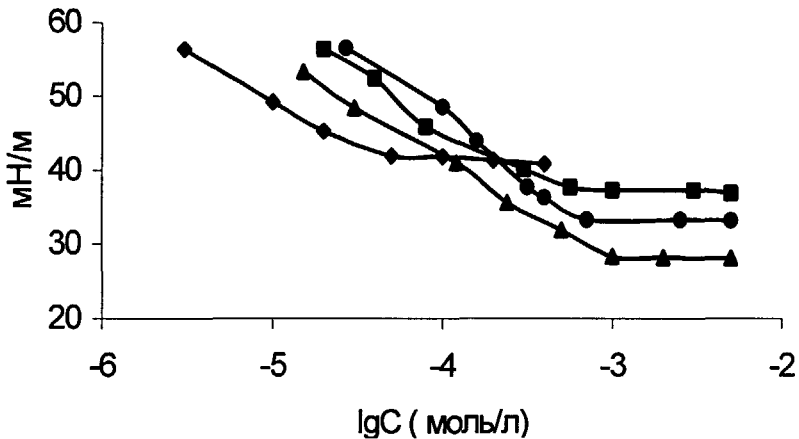


Рис. 4. Диаграмма зависимости поверхностного натяжения от lg концентрации:

◆— моноэфир метилполиэтиленгликоля-550 и жирных кислот жира байкальской нерпы, —■— диэфир полиэтиленгликоля-600 и и жирных кислот жира байкальской нерпы, —●— моноэфир метилполиэтиленгликоля-1900 и и жирных кислот жира байкальской нерпы, —▲— диэфир полиэтиленгликоля-2000 и и жирных кислот жира байкальской нерпы.

По изменению поверхностного натяжения определили критическую концентрацию мицеллообразования (табл. 8).

Таблица 8. Критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) полученных образцов.

Образец	ККМ $\times 10^{-4}$ моль/л
Моноэфир метилполиэтиленгликоля – 550 и миристиновой кислоты	0,5 – 1,0
Диэфир полиэтиленгликоля – 600 и миристиновой кислоты	2,0 – 3,1
Моноэфир метилполиэтиленгликоля – 1900 и миристиновой кислоты	4,1 – 5,9
Диэфир полиэтиленгликоля – 2000 и миристиновой кислоты	8,2 – 10,3
Моноэфир метилполиэтиленгликоля – 550 и жирных кислот жира нерпы	0,5 – 0,8
Диэфир полиэтиленгликоля – 600 и жирных кислот жира нерпы	5,6 – 6,8
Моноэфир метилполиэтиленгликоля – 1900 и жирных кислот жира нерпы	7,1 – 8,3
Диэфир полиэтиленгликоля – 2000 и жирных кислот жира нерпы	7,9 – 10,2

Таким образом, наиболее эффективными ПАВ, исходя из значений ККМ, является моноэфир метилполиэтиленгликоля-550 и жирных кислот, а также моноэфир метилполиэтиленгликоля – 550 и миристиновой кислоты.

5. Гетерофазная полимеризация стирола в присутствии жирных кислот, эфиров полиэтиленгликолей, сополимеров жира нерпы и жирных кислот жира с ММА.

Из литературных данных известно, что синтез полимерных суспензий с узким распределением частиц и размерами частиц в интервале от 0,2 мкм и выше, пригодных для иммунологических исследований, осуществляют методом суспензионной полимеризации гидрофобных мономеров. Основная трудность синтеза полимерных суспензий с узким распределением частиц по размерам состоит в выборе ПАВ. В качестве поверхностно-активных соединений для реакции гетерофазной полимеризации стирола были использованы полученные сополимеры и эфиры на основе жира и жирных кислот, выделенных из жира байкальской нерпы.

Полимеризацию стирола проводили в условиях, обычно используемых для синтеза полимерных суспензий для иммунохимических исследований: объемное соотношение стирол : вода – 1:9, температура 70°C, продолжительность реакции – 12-19 ч. В качестве инициатора использовали водорастворимый персульфат калия $K_2S_2O_8$, а в качестве ПАВ применяли жир байкальской нерпы, смесь жирных кислот жира байкальской нерпы, сополимер жира и метилметакрилата, сополимер

жирных кислот и метилметакрилата, диэфиры полиэтиленгликолей-600, -2000 и жирных кислот жира нерпы, моноэфиры метилполиэтиленгликолей-550, -1900 и жирных кислот жира нерпы. Выход полученного полимера достигал 96 %.

Кинетические кривые зависимости конверсии мономера от времени полимеризации представлены на рисунках 5, 6. Видно, что во всех случаях полимеризация протекает с постоянной скоростью до конверсии 70-80%. Далее наблюдается период замедления скорости полимеризации, связанный с уменьшением концентрации мономера в системе.

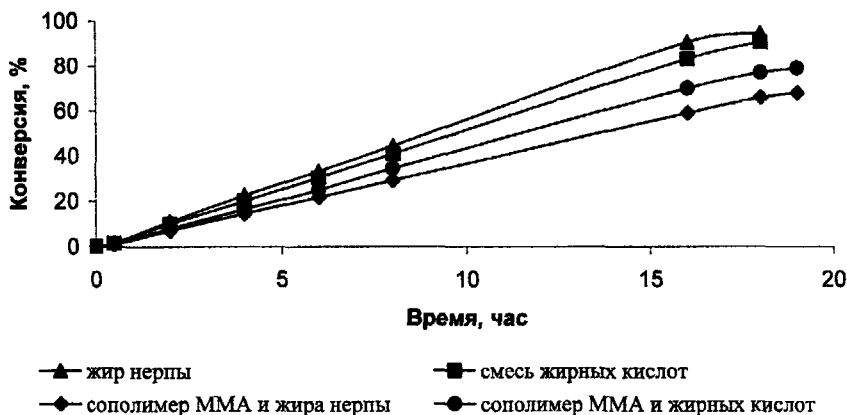


Рис. 5. Кинетические кривые зависимости конверсии мономера от времени полимеризации.

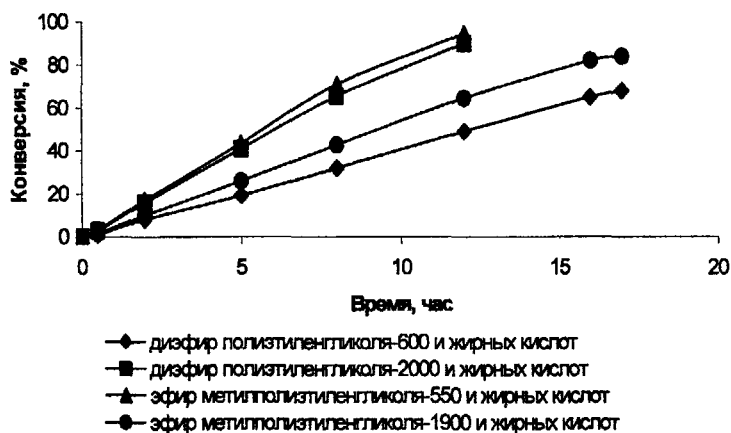


Рис. 6. Кинетические кривые зависимости конверсии мономера от времени полимеризации.

Полученные суспензии были исследованы методом электронной микроскопии, который показал, что частицы имеют сферическую форму.

Использование в качестве стабилизатора жира байкальской нерпы показало, что при хранении суспензии в течение нескольких суток происходит образование редиспергируемого осадка, по-видимому представляющего собой частицы большого диаметра. Аналогичными свойствами характеризовались полистирольные суспензии, в которых в качестве стабилизаторов применяли сополимер жирных кислот и метилметакрилата, диэфиры полиэтиленгликолей-600, -2000 и жирных кислот жира нерпы. Высокую устойчивость показали полистирольные суспензии, в которых в качестве стабилизаторов применялись: смесь жирных кислот жира байкальской нерпы, моноэфиры метилполиэтиленгликолей-550, -1900 и жирных кислот жира нерпы. Коэффициент полидисперсности полученных суспензий в основном не превышает 1,02, исключение составляет моноэфир метилполиэтиленгликоля-1900 и жирных кислот жира нерпы (табл. 9).

Таблица 9. Свойства полистирольных суспензий.

№ № п/п	Наименование ПАВ	Диаметр частиц, мкм	Коэффициент полидиспер- сности
1	Жир байкальской нерпы	1,021	1,01
2	Смесь жирных кислот жира байкальской нерпы	0,491	1,02
3	Сополимер жира и метилметакрилата	0,789	1,02
4	Сополимер жирных кислот и метилметакрилата	0,464	1,01
5	Диэфир полиэтиленгликоля-600 и жирных кислот жира нерпы	0,298	1,00
6	Диэфир полиэтиленгликоля-2000 и жирных кислот жира нерпы	0,380	1,02
7	Моноэфир метилполиэтиленгликоля-550 и жирных кислот жира нерпы	0,477	1,02
8	Моноэфир метилполиэтиленгликоля-1900 и жирных кислот жира нерпы	0,258	1,37

Образование полимерных суспензий с узким распределением частиц и размерами частиц в интервале от 0,258 мкм до 1,021 мкм позволяет сделать вывод о возможности использования полученных суспензий для иммунологических исследований.

6. Синтез и свойства олигоэфиров (алкидов) на основе жира байкальской нерпы.

Синтезированы сложные олигоэфиры на основе подсолнечного масла (пентафталевые алкидные смолы) с частичной заменой подсолнечного масла на жир нерпы. В качестве базового варианта использовалась пентафталевая алкидная смола на основе подсолнечного масла (исходный образец). Были получены алкидные смолы с заменой подсолнечного масла на 20% и 50%. Технологические параметры полученных образцов приведены в таблице 10.

Таблица 10. Технологические параметры образцов олигоэфиров.

№ №	Образец	Вязкость по ВЗ-4, с.	Кислотное число, (мгКОН)	Содержание нелетучих, масс. %	Твердость отвержденной пленки, усл. ед.
1	исходный	87.0	8.9	57	0.30
2	20% жира	84.7	9.1	57	0.28
3	50% жира	85.4	6.0	57	0.26

На основе синтезированных олигоэфиров были получены пленки, которые отверждались на воздухе в течении суток. В качестве ускорителя окислительной полимеризации использовали сиккатив НФ-1 на основе смеси нафтенатов свинца и марганца, взятый в количестве 8% от массы нелетучих продуктов алкидных смол.

Отвержденные пленки, полученные на основе синтезированных олигоэфиров не растворялись ни в одном из широко известных растворителей различной природы (углеводороды, хлорированные углеводороды, простые эфиры, апротонные амиды).

Все пленки имеют очень высокую стойкость к воздействию воды. Высокая стойкость к влагопоглощению образцов связана с их высокой гидрофобностью. Замена растительного масла на жир нерпы не влияет на влагопоглощение отвержденных пленок.

Термомеханические свойства и данные термогравиметрического анализа отвержденных пленок синтезированных алкидов отличаются от соответствующих свойств пленки исходного алкида (рис. 7, 8). Твердость пленки с ростом содержания жира в олигоэфире несколько уменьшается (табл. 10), что должно приводить к повышению эластичности. Это подтверждается результатами термомеханических испытаний (рис. 7).

Таким образом, частичная замена растительных масел на жир нерпы приводит к получению более эластичных пленок, хотя степень отверждения и состав отвержденных модифицированных пленок практически не отличаются от степени отверждения и состава базовой алкидной смолы.

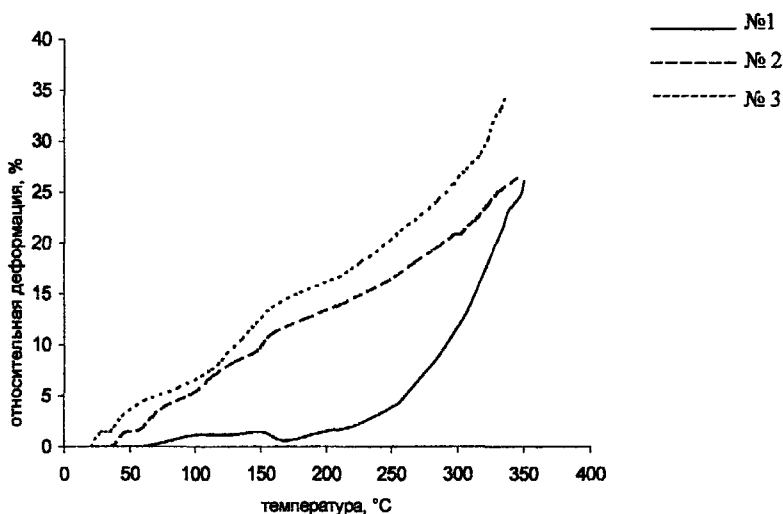


Рис. 7. Термомеханические кривые исследуемых алкидных смол.

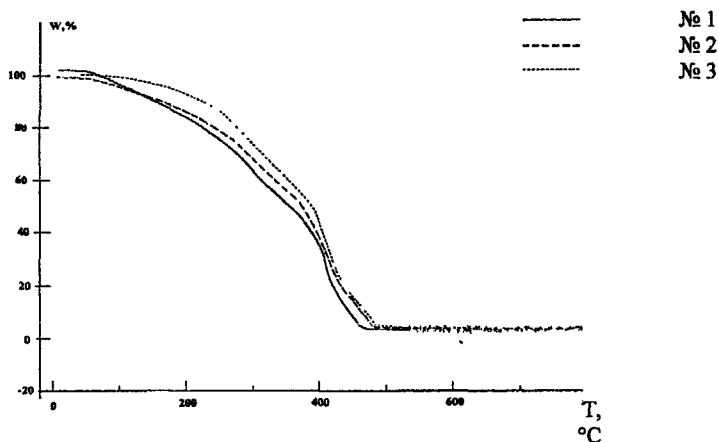


Рис. 8. Динамический ТГА исследованных образцов.

ВЫВОДЫ

1. Изучен жирнокислотный состав жира байкальской нерпы. Обнаружен широкий спектр кислот, из них на долю насыщенных приходится 12-19%, моновенасыщенных – 46-63%, полиненасыщенных – 25-35% кислот. При изучении состава жирных кислот жира послойно найдены различия состава жирных кислот между внутренним и верхним слоями жира. Во внутреннем слое все насыщенные и полиненасыщенные кислоты находятся в более высоких концентрациях, в то время как моновенасыщенные кислоты представлены в малых количествах по сравнению с верхним слоем. Проведено сравнение жирнокислотного состава жира байкальской нерпы и основной кормовой базы

нерпы – голомянки, а также жирнокислотного состава жира близких морских родственников нерпы – кольчатого тюленя (Северное море) и различных морских рыб – кормовой базы кольчатого тюленя с применением многофакторного анализа принципиальных компонент. Обнаруженные различия жирнокислотного состава жира изученных тюленей и рыб свидетельствуют об уникальном составе жирных кислот жира байкальской нерпы.

2. Получен концентрат жирных кислот жира байкальской нерпы, обогащенный полиненасыщенными кислотами. Определен его жирнокислотный состав. Полученные данные свидетельствуют о хорошем качестве и высокой ненасыщенности полученного концентрата. Исследование жирнокислотного состава выявило широкий спектр ненасыщенных жирных кислот, в том числе эссенциальных (линолевая – $11,8 \pm 0,5\%$, линоленовая – $7,3 \pm 0,7\%$, арахидоновая – $6,2 \pm 0,6\%$, эйкозопентаеновая – $14,1 \pm 1,8\%$, докозагексаеновая – $23,7 \pm 4,0\%$), что свидетельствует о высокой биологической активности полученного концентрата полиненасыщенных жирных кислот.
3. Разработаны липосомальные препараты на основе концентрата полиненасыщенных жирных кислот. В результате эксперимента установлено, что полученные препараты обладают иммуномодулирующим действием в отношении макрофагального и гуморального звеньев иммунного ответа. Липосомы с включением природных ксантонов обладают гепатопротекторными свойствами (повышают скорость секреции желчи, экскрецию холестерина и выделение билирубина, стимулируют синтез желчных кислот).
4. Радикальной полимеризацией жира нерпы и его свободных жирных кислот с метилметакрилатом получены новые сополимеры, обладающие поверхностно-активными свойствами. Проведено изучение строения и свойств различными методами (ЯМР- H^1 -спектроскопия, вязкостные, термомеханические, термические характеристики, молекулярно-массовое распределение), которое свидетельствует об образовании сополимеров.
5. Синтезированы эфиры полиэтиленгликолей, метилполиэтиленгликолей различных молекулярных масс и миристиновой кислоты, а также смеси свободных жирных кислот, состав которых подтвержден данными элементного анализа и ЯМР- H^1 -спектроскопии. Исследование поверхностно-активных свойств (поверхностное натяжение, критическая концентрация мицеллообразования) показало, что наиболее эффективными ПАВ являются моноэфиры метилполиэтиленгликоля-550 с миристиновой кислотой и жирными кислотами жира нерпы..
6. Методом гетерофазной полимеризации при использовании в качестве ПАВ полученных сополимеров и эфиров получены полистирольные суспензии с узким распределением частиц по размерам (коэффициент полидисперсности, в основном, не превышает 1,02), которые могут быть рекомендованы в качестве носителей биолгандов в иммунохимических исследованиях.
7. Синтезированы сложные олигоэфиры на основе подсолнечного масла (пентафталевые алкидные смолы) с частичной заменой подсолнечного масла на жир нерпы, технологические параметры которых находятся в соответствии с ГОСТами, установленными для лакокрасочных материалов. Установлено, что замена подсолнечного масла на 20% и 50% жиром нерпы приводит к увеличению эластичности пленок и не снижает их водостойкость.

Основные результаты диссертации изложены в следующих работах:

1. Раднаева Л.Д., Пестерева О.В., Чиркина Т.Ф., Аверина Е.С., Бодоев Н.В. Исследование химического состава жира байкальской нерпы. //Химия в интересах устойчивого развития. – № 7. – 1999 – С. 713-717.
2. Раднаева Л.Д., Пестерева О.В., Чиркина Т.Ф., Аверина Е.С., Бодоев Н.В. Исследование химического состава липидов байкальской нерпы. //Тезисы докладов всероссийской научно-практической конференции и выставки с международным участием, Красноярск, 24-26 марта 1999 г. – С. 163.
3. Аверина Е.С., Васнев В.А., Тарасов А.И., Раднаева Л.Д., Бодоев Н.В. Синтез полимеров на основе жира байкальской нерпы. //Тезисы докладов 2-ой международной конференции молодых ученых и студентов "Актуальные проблемы современной науки". Самара, 11-13 сентября 2001г. – С. 15.
4. Аверина Е.С., Раднаева Л.Д., Бодоев Н.В., Васнев В.А., Тарасов А.И. Модифицированные олигоэфирсы. //Тезисы докладов 2-ой школы-семинара молодых ученых России "Проблемы устойчивого развития региона". Улан-Удэ, 17-21 сентября 2001г. – С. 5.
5. Аверина Е.С., Раднаева Л.Д., Васнев В.А., Тарасов А.И., Бодоев Н.В. Синтез сополимеров на основе триглицеридов ненасыщенных жирных кислот. //Тезисы всероссийской конференции с международным участием "Современные проблемы химии высокомолекулярных соединений: высокоэффективные и экологически безопасные процессы синтеза природных и синтетических полимеров и материалов на их основе", Улан-Удэ, 20-27 августа 2002г. – С. 3.
6. Аверина Е.С., Раднаева Л.Д., Уваров Б.А., Васнев В.А., Тарасов А.И., Бодоев Н.В. Олигоэфирсы, модифицированные жиром нерпы. //Лакокрасочные материалы и их применение. – №6 – 2002 – С. 19-21
7. Грахл-Нилсен О., Бодоев Н. В., Аверина Е.С., Раднаева Л.Д., Пронин Н. М. Сравнительный анализ состава жиров байкальской нерпы (*Phoca Sibirica*) и морских тюленей (*Phoca Hispida*). //Материалы второго международного симпозиума "Экологически эквивалентные и экзотические виды гидробионтов в великих и больших озерах мира", Улан-Удэ, 27-31 августа 2002г. – С. 35-38
8. Шабькина Ю.А., Аверина Е.С., Раднаева Л.Д., Латышев Н.А., Имбс А.В., Дикарев В. П., Бодоев Н. В. Исследование состава жирных кислот гидробионтов в трофической цепи оз. Байкал. //Материалы второго международного симпозиума "Экологически эквивалентные и экзотические виды гидробионтов в великих и больших озерах мира", Улан-Удэ, 27-31 августа 2002г. – С. 52-55
9. Аверина Е.С., Раднаева Л.Д., Васнев В.А., Тарасов А.И., Бодоев Н.В. Синтез сополимеров на основе триглицеридов высоконенасыщенных жирных кислот и метилметакрилата. //Пластические массы. – №11 – 2002 – С. 31-32
10. Аверина Е.С., Бодоев Н.В., Жамсаранова С.Д., Ламажапова Г.П., Раднаева Л.Д. Иммуномоделирующая активность липосомальных средств, полученных из жира байкальской нерпы. //Вестник новых медицинских технологий. – № 3 – 2003 – С. 84-85

Издательство ООО "МАКС Пресс".
Лицензия ИД № 00510 от 01.12.99 г.
Подписано к печати 05.11.2003 г.
Формат 60х90 1/16. Усл.печ.л. 1,25. Тираж 100 экз. Заказ 867.
Тел. 939-3890, 939-3891, 928-1042. Тел./Факс 939-3891.
119992, ГСП-2, Москва,
Ленинские горы, МГУ им. М.В.Ломоносова.

2003-A
17485

17 485