

Р.В. УСОЛЬЦЕВА, Т.Н. ЗВЯГИНЦЕВА, С.П. ЕРМАКОВА

Структурное разнообразие ламинаранов бурых водорослей, перспективы их использования

В обзоре приведены краткие общие сведения о ламинаранах – полисахаридах бурых водорослей, описаны методы их выделения, установления структур и известные структурные типы, а также обсуждены перспективы использования ламинаранов из дальневосточных бурых водорослей.

Ключевые слова: бурые водоросли, ламинараны, структура, методы.

The structural diversity of laminarans of brown algae. Prospects for use of laminarans. R.V. USOLTSEVA, T.N. ZVYAGINTSEVA, S.P. ERMAKOVA (G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok).

The review briefly describes general information about laminarans – polysaccharides of brown algae, methods of their isolation and structural elucidation, and also prospects for use of laminarans from Far-Eastern brown algae.

Key words: brown algae, laminarans, structure, methods.

Общие сведения

Ламинараны – водорастворимые полисахариды бурых водорослей, выполняющие функцию запасного вещества. Впервые выделены в 1885 г. Шмидебергом из *Laminaria*, откуда и получили свое название [42]. Легко растворимы в горячей воде, бесцветные аморфные, без запаха и вкуса. Их содержание и характеристики структуры зависят от вида, стадии развития, условий произрастания и сезона сбора водоросли. Было показано, что ламинараны накапливаются в процессе развития водоросли, т.е. их содержание тесно связано с ее жизненным циклом [25, 41]. Содержание ламинаранов в некоторых водорослях в высушенном и обезжиренном состоянии может достигать более 20 % массы [10].

Структура ламинаранов

Ламинараны построены из остатков β -D-глюкозы, соединенных либо только 1,3-, либо 1,3- и 1,6-гликозидными связями. Соотношение 1,3- : 1,6-связей и типы включения их в молекулу могут различаться. Ламинараны содержат на восстанавливающих концах остатки маннита (М-цепи) или глюкозы (G-цепи) [2]. Молекулярная масса

*УСОЛЬЦЕВА Роза Владимировна – кандидат химических наук, научный сотрудник, ЗВЯГИНЦЕВА Татьяна Николаевна – доктор химических наук, главный научный сотрудник, ЕРМАКОВА Светлана Павловна – доктор химических наук, заведующая лабораторией (Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН им. Г.Б. Елякова, Владивосток). *E-mail: Usoltseva-R@yandex.ru

Работа выполнена при финансовой поддержке ДВО РАН (грант № 18-4-010) и РФФИ (грант № 18-34-20013).

большинства ламинаранов невелика – от 3 до 10 кДа. Фракции этих полисахаридов с необычно большой молекулярной массой были получены из принадлежащих к порядку Laminariales *Saccharina cichorioides* (15–20 кДа), *Saccharina gurjanovae* (6–25 кДа) и *Eisenia bicyclis* (19–27 кДа) [3, 10, 49]. Тем не менее следует отметить, что данные водоросли продуцируют также полисахариды с обычной для этой группы соединений молекулярной массой [2, 20, 47].

Ламинараны с наиболее простой структурой были выделены из *Laminaria hyperborea*, *S. gurjanovae* и *Turbinaria conoides*, представляли собой практически линейные 1,3-глюканы с содержанием 1,6-связанных остатков глюкозы не более 1–2 % [10, 15, 36]. Они нерастворимы в холодной воде, в то время как их аналоги, имеющие в составе большее количество 1,6-связанных остатков глюкозы, легко в ней растворяются [36].

Большинство известных ламинаранов содержат основную цепь из 1,3-связанных остатков глюкозы с ответвлениями в виде единичных остатков глюкопиранозы по С6. Соотношение связей 1,3- : 1,6- в этих случаях может быть 3–10 : 1. Ламинараны такого типа присутствуют у *Desmarestia viridis* (порядок Desmarestiales), *Dictyota dichotoma* (порядок Dictyotales), *Alaria angusta*, *A. marginata*, *Saccharina cichorioides*, *S. gurjanovae*, *S. japonica* (порядок Laminariales), *Coccophora langsdorfii*, *Sargassum duplicatum*, *S. fusiforme*, *S. trichophyllum*, *Turbinaria murrayana* (порядок Fucales) [2, 10, 11, 19, 23, 24, 30, 33, 44–46, 49].

Ламинаран из *D. dichotoma* (1,3- : 1,6- = 3 : 1) представляет собой практически регулярный полисахарид, содержащий преимущественно повторяющиеся тетрасахаридные звенья из трех 1,3-связанных остатков β-D-глюкопиранозы и ответвления в виде единичного остатка глюкозы по атому С6 [45]. Из *S. cichorioides* и *S. gurjanovae* выделены нерегулярные по структуре ламинараны, где 1,6-связанные остатки глюкозы в молекулах были сосредоточены в основном вблизи невозстанавливающих концов. Ламинаран из *Fucus evanescens* содержит основную цепь из 1,3-связанных остатков глюкозы, но ответвления по С6 представлены как остатками глюкозы, так и короткими 1,6-связанными цепями (1,3- : 1,6- = 4 : 1) [2].

В некоторых случаях встречаются гораздо более сложные структуры. Так, ламинараны из *Chorda filum* [8], *E. bicyclis* [34], *Ecklonia radiata* [38] (Laminariales) и *Cystophora scalaris* [38] (Fucales) – это разветвленные β-D-глюканы с высоким содержанием 1,6-связей, включающие в основную цепь как 1,3-, так и 1,6-связанные остатки глюкозы.

Структура высокомолекулярного (19–27 кДа) ламинарана из *E. bicyclis* была тщательно изучена. Основная цепь данного сильно разветвленного, сложного по строению полимера содержит 1,3- и 1,6-связанные остатки β-D-глюкозы. Протяженность участков из 1,3-связанных остатков глюкозы составляла не более четырех, а из 1,6- – не более трех моносахаридных остатков. Основная часть 1,6-связанных остатков глюкозы сосредоточена на невозстанавливающих концах молекул. В ответвлениях по положению 6 были обнаружены остатки не только глюкозы, но и гентиобиозы, гентиотриозы и ламинариолигосахаридов.

Интересный ламинаран получен из *Ascoseira mirabilis* [21]. Он содержал значительное количество как 1,3-, так и 1,6-связанных остатков глюкозы, но, в отличие от вышеописанных случаев, в его структуре было очень мало 1,3,6-связанных остатков. Этот факт свидетельствует либо о слаборазветвленной блочной структуре молекулы, либо о наличии небольшого количества длинных 1,6-связанных боковых цепей.

Приведенные данные о структурах ламинаранов показывают, что они очень разнообразны.

Методы выделения и очистки ламинаранов

Для структурного исследования, а также дальнейшего определения биологической активности необходимо получение индивидуальных фракций ламинаранов. Способы выделения и очистки напрямую зависят от свойств этих полисахаридов. Желательно,

чтобы полисахаридные экстракты содержали минимальное количество примесей, поэтому водоросли предварительно обрабатывают органическими растворителями, например 70–80%-м водным этанолом [33, 46, 47] или смесью этанола, ацетона и хлороформа [20], для удаления низкомолекулярных веществ, белков и липидов.

Водоросли содержат два типа водорастворимых полисахаридов – ламинараны и фукоиданы, а также щелочерастворимые альгиновые кислоты. Экстракция ламинаранов может быть проведена растворами хлорида кальция [35, 47] или разбавленных кислот [2, 10, 12, 14, 32], которые препятствуют извлечению альгинатов. В исследовании [14] были разработаны оптимальные условия для экстракции: образец водоросли обрабатывали 0,09 N раствором соляной кислоты (1 : 10, pH 2,4) при перемешивании в течение 30–60 мин. Было показано, что температура во время процесса может достигать 70 °C без деструкции полисахарида. Сравнение выходов ламинаранов при горячей и холодной кислотных экстракциях показало, что при повышении температуры выходы значительно возрастают [18]. Использование ультразвуковой обработки сокращает время экстракции до 15 мин и, вероятно, позволяет получить полисахариды с более высокой молекулярной массой [26].

Поскольку ламинараны являются нейтральными полисахаридами, а фукоиданы – заряженными, их можно разделить с помощью анионообменной хроматографии на различных носителях, например Macro-Prep DEAE, DEAE-целлюлозе, DEAE-Bio Gel [10, 20, 24]. Ламинараны элюируют водой, а фукоиданы задерживаются на колонке. К сожалению, при таком способе очистки не устраняются примеси низкосульфатированных фукоиданов, а также полиманнуровой кислоты, и поэтому прибегают дополнительно к гель-проникающей хроматографии [30, 47].

В работе [48] был предложен новый удобный метод очистки ламинаранов методом гидрофобной хроматографии на Полихrome-1 (политетрафторэтилен): полиманнуровую кислоту и фукоиданы элюируют водой, а ламинаран – раствором 15%-го водного этанола [32, 33, 46, 49].

Методы структурного исследования ламинаранов

При определении выделенного полисахарида вначале необходимо подтвердить, что его моносахаридная композиция представлена только остатками глюкозы. Для этой цели ламинаран гидролизуют, получая моносахариды, которые превращают в ацетаты полиолов и идентифицируют методом газожидкостной хроматографии с глюкозой в качестве стандарта [38, 44].

Фракции ламинаранов, как и других природных полисахаридов, представляют собой смесь молекул различной степени полимеризации. Среднюю молекулярную массу обычно определяют с помощью гельпроникающей хроматографии или высокоэффективной жидкостной хроматографии [2, 22, 30, 45], степень полимеризации (DP) – методами масс-спектрометрии [17, 39]. В некоторых случаях DP также можно рассчитать сравнением площадей пиков H1 всех остатков глюкозы в молекуле и восстанавливающего концевых остатка в спектре ЯМР ¹H [27].

Типы связей и наличие/отсутствие ответвлений в молекулах ламинаранов выясняют методом метилирования или инструментальным исследованием с помощью спектроскопии ЯМР.

Суть одного из основных методов метилирования [16] в том, что навеску ламинарана растворяют в диметилсульфоксиде и обрабатывают измельченным гидроксидом натрия и метилиодидом. В этих условиях свободные гидроксильные группы превращаются в метиловые эфиры. После гидролиза полисахарида полученные метилированные производные превращают метанолизом с последующим ацетилизацией в ацетаты частично метилированных полиолов и идентифицируют их с помощью стандартных методик хромато-масс-спектрометрии [13].

Спектроскопия 1D (^1H , ^{13}C) и 2D (COSY, TOCSY, ROESY, HSQC, HMBC) ЯМР позволяет надежно интерпретировать сигналы С и Н в различных структурных типах остатков глюкозы, а также определить типы связей между моносахаридными остатками [10, 44, 45]. Соотношение 1,3- : 1,6-связей можно оценить сравнением интенсивности соответствующих аномерных сигналов в спектре ^1H ЯМР [27]. Наличие/отсутствие остатков маннита и соотношение М- и G-цепей во фракции ламинарана может быть определено с помощью спектроскопии ЯМР C^{13} [2, 33], а также масс-спектрометрии [17, 39].

Периодатное окисление является классическим методом структурного анализа полисахаридов. Для оценки присутствия 1,6-связей в молекуле ламинарана проводится измерение расхода периодата и высвобождения муравьиной кислоты [21, 31, 47]. Модификацией метода периодатного окисления является деградация по Смиту, которая включает последовательное окисление полисахарида периодатом натрия, затем восстановление боргидридом натрия и мягкий гидролиз полученного продукта. В результате происходит разрыв связей С–С между двумя гликольными группами, а 1,3-связанные фрагменты молекул ламинарана не разрушаются. Поэтому данный метод применяется для определения характера включения 1,6-связей: либо в основной цепи полисахарида, либо в ответвлениях. В случае, когда 1,6-связанные остатки глюкозы включены в основную цепь ламинарана, полисахарид деградирует с образованием 1,3-связанных олигосахаридов [8, 34]. Если же основная цепь состоит только из 1,3-связанных остатков глюкозы, а 1,6-связанные остатки находятся в ответвлениях, то эти остатки разрушаются, а из основной цепи нативного ламинарана образуется линейный 1,3-связанный глюкан [2].

Использование специфических ферментов – 1,3- β -D-глюканаз позволяет идентифицировать ламинараны и изучать их структурные особенности без применения деструктивных химических модификаций. Существуют ферменты с различным типом действия: эндоглюканазы, расщепляющие внутренние связи в глюкане, и экзоглюканазы, которые последовательно отщепляют моносахариды (иногда олигосахариды) начиная с невосстанавливающего конца молекулы полисахарида [2, 34, 38]. Скорость накопления моно- и олигосахаридов в процессе гидролиза ламинарана экзоферментами указывает на распределение 1,6-связанных остатков глюкозы в молекуле ламинарана. Обработка эндоламинариназами позволяет получить олигосахариды с более простыми структурами, которые могут быть исследованы другими методами [1, 34, 37, 43].

Перспективы использования ламинаранов из дальневосточных бурых водорослей

В морях Дальнего Востока России имеются промышленные запасы водорослей из семейства Laminariaceae (*S. cichorioides*, *S. gurjanovae*, *S. japonica*) – главных продуцентов ламинаранов, содержание которых в их талломах достигает 7–15 %. Данные вещества, выделенные нами из дальневосточных ламинариевых, обладают иммуномодулирующим [6, 28], противоопухолевым [2, 10, 20, 49], радиопротекторным [7], криопротекторным действием [5], защищают икру и мальков лососевых рыб от заражения сапролегнией [4, 29], растения – от вируса табачной мозаики и виroidной инфекции [9, 40]. Таким образом, наши исследования показывают, что ламинараны из дальневосточных водорослей имеют реальный потенциал для использования их в качестве БАД, в медицине, рыбоборозведении, сельском хозяйстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. Елякова Л.А., Исаков В.В., Лапшина Л.А., Нагорская В.П., Лихацкая Г.Н., Звягинцева Т.Н., Реунов А.В. Ферментативная трансформация биологически активного 1,3;1,6- β -D-глюкана. Структура и активность полученных фрагментов // Биохимия. 2007. Т. 72, № 1. С. 36–44.

2. Звягинцева Т.Н., Широкова Н.И., Елякова Л.А.. Структура ламинаранов из некоторых бурых водорослей // Биооргани. химия. 1994. Т. 20, № 12. С. 1349–1358.
3. Меньшова Р.В., Ермакова С.П., Ум Б.Х., Звягинцева Т.Н. Состав и структурные характеристики полисахаридов бурой водоросли *Eisenia bicyclis* // Биология моря. 2013. Т. 39, № 3. С. 213–218.
4. Пат. № 2034026 С1 РФ, МПК С12N5/04. Криопротектор животных клеток / Л.А. Елякова, Г.Н. Лихацкая, Т.Н. Звягинцева, Д.Л. Аминин. Оpubл. 30.04.95, Бюл. № 12.
5. Пат. № 2081575 С1 РФ, МПК А01К61/00, А61К35/80. Способ профилактики заболевания икры и молоди рыб сапролегнией / Л.А. Елякова, М.И. Киселева, Т.Н. Звягинцева. Оpubл. 20.06.97, Бюл. № 17.
6. Пат. № 2095417 С1 РФ, МПК С12P19/04, 19/16, А61К35/80. Способ получения глюкана, обладающего иммуностимулирующей активностью / Л.А. Елякова, Т.Н. Звягинцева, Н.М. Шевченко. Оpubл. 10.11.97, Бюл. № 31.
7. Пат. № 2097059 С1 РФ, МПК А61К35/80, А61К35/80, А61К31:715. Способ лечения костно-мозговой формы острой лучевой болезни / К.С. Чертков, В.Г. Чотий, З.А. Стеймацкая, Т.А. Нестерова, Л.А. Елякова, Т.Н. Звягинцева, Н.М. Шевченко, Н.Н. Беседнова, Л.А. Игнатенко. Оpubл. 27.11.97, Бюл. № 33.
8. Усов А.И., Чижов А.О. Полисахариды водорослей. XL. Углеводный состав бурой водоросли *Chorda filum* // Биооргани. химия. 1989. Т. 15, № 2. С. 208–216.
9. Федорова В.Я., Романова С.А., Звягинцева Т.Н., Анненков Б.Г., Реунов А.В., Елякова Л.А. О возможности применения 1,3;1,6-β-D-глюканов бурых водорослей для раннего выявления вирусной инфекции в картофеле // Сельхоз. биология. 2004. № 5. С. 119–123.
10. Шевченко Н.М., Анастук С.Д., Герасименко Н.И., Дмитренко П.С., Исаков В.В., Звягинцева Т.Н. Полисахаридный и липидный состав бурой водоросли *Laminaria gurjanovae* // Биооргани. химия. 2007. Т. 33. С. 96–107.
11. Шевченко Н.М., Усольцева (Меньшова) Р.В., Ишина И.А., Ермакова С.П., Tinh P.D., Ly В.М., Структурные характеристики и противоопухолевая активность *in vitro* водорастворимых полисахаридов бурых водорослей Дальнего Востока России и Вьетнама // Химия природ. соедин. 2017. № 1. С. 5–8.
12. Abdel-Fattah A.F., Hussein M.M. Isolation of water insoluble laminaran-like polysaccharide from *Sargassum linifolium* // Qual. Plant. Mater. Veg. 1973. Vol. 22. P. 181–187.
13. Bjoerndal H., Hellerquist C.G., Lindberg B., Svensson S. Gas-liquid chromatography and mass spectrometry in methylation analysis of polysaccharides // Angew. Chem. Int. Ed. 1970. Vol. 9. P. 610–619.
14. Black W.A.P., Cornhill W.J., Dewar E.T., Woodward F.N. Manufacture of algal chemicals. III. Laboratory-scale isolation of laminarin from brown marine algae // J. Appl. Chem. 1951. Vol. 1. P. 505–517.
15. Chattopadhyay N., Ghosh T., Sinha S., Chattopadhyay K., Karmakar P., Ray B. Polysaccharides from *Turbinaria conoides*: Structural features and antioxidant capacity // Food Chem. 2010. Vol. 118. P. 823–829.
16. Chiucanu I., Kerek F. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates // Carbohydr. Res. 1984. Vol. 131. P. 209–217.
17. Chizhov A.O., Dell A., Morris H.R., Reason A.J., Haslam S.M., McDowell R.A., Chizhov O.S., Usov A.I. Structural analysis of laminarans by MALDI and FAB mass spectrometry // Carbohydr. Res. 1998. Vol. 310. P. 203–210.
18. Delaney G., Jacob S., Featherstone C., Barton M. The role of radiotherapy in cancer treatment: estimating optimal utilization from a review of evidence-based clinical guidelines // Cancer. 2005. Vol. 104. P. 1129–1137.
19. El-Sayed M.M. The polysaccharides of the brown seaweed *Turbinaria murrayana* // Carbohydr. Res. 1982. Vol. 110. P. 277–282.
20. Ermakova S., Men'shova R., Vishchuk O., Kim S.M., Um B.H., Isakov V., Zvyagintseva T. Water-soluble polysaccharides from the brown algae *Eisenia bicyclis*: Structural characteristics and antitumor activity // Algal Res. 2013. Vol. 2. P. 51–58.
21. Finch P., Percival E., Slaiding I.R., Weigel H. Carbohydrates of the antarctic brown seaweed *Ascoseira mirabilis* // Phytochemistry. 1986. Vol. 25. P. 443–448.
22. Gomez-Ordenez E., Jimenez-Escrig A., Ruperez P. Molecular weight distribution of polysaccharides from edible seaweeds by high-performance size-exclusion chromatography (HPSEC) // Talanta. 2012. Vol. 93. P. 153–159.
23. Imbs T.I., Ermakova S.P., Malyarenko (Vishchuk) O.S., Isakov V.V., Zvyagintseva T.N. Structural elucidation of polysaccharide fractions from the brown alga *Cocophora langsdorffii* and *in vitro* investigation of their anticancer activity // Carbohydr. Polym. 2016. Vol. 135. P. 162–168.
24. Jin W., Zhang W., Wang J., Ren S., Song N., Duan D., Zhang, Q. Characterization of laminaran and a highly sulfated polysaccharide from *Sargassum fusiforme* // Carbohydr. Res. 2014. Vol. 385. P. 58–64.
25. Jin W., Liu G., Zhong W., Sun C., Zhang Q. Polysaccharides from *Sargassum thunbergii*: Monthly variations and anti-complement and anti-tumour activities // Int. J. Biol. Macromol. 2017. Vol. 105. P. 1526–1531.
26. Kadam S.U., O'Donnell C.P., Rai D.K., Hossain M.B., Burgess C.M., Walsh D., Tiwari B.K. Laminarin from Irish brown seaweeds *Asophyllum nodosum* and *Laminaria hyperborea*: ultrasound assisted extraction, characterization and bioactivity // Mar. Drugs. 2015. Vol. 13. P. 4270–4280.
27. Kim Y.T., Kim E.H., Cheong C., Williams D.L., Kim C.W., Lim S.T. Structural characterization of β-D-(1→3,1→6)-linked glucans using NMR spectroscopy // Carbohydr. Res. 2000. Vol. 328. P. 331–341.
28. Kiseleva M.I., Balabanova L.A., Rasskazov V.A., Zvyagintseva T.N. Effect of 1,3;1,6-beta-D-glucans on developing sea urchin embryos // Mar. Biotechnol. 2008. Vol. 10. P. 466–470.
29. Kiseleva M.I., Balabanova L.A., Elyakova L.A., Rasskazov V.A., Zvyagintseva T.N. Influence of egg treatments with 1,3;1,6-beta-D-glucans on chum salmon development and susceptibility to *Saprolegnia infection* // J. Fish Dis. 2014. Vol. 37. P. 3–10.

30. Lee J.B., Takeshita A., Hayashi K., Hayashi T. Structures and antiviral activities of polysaccharides from *Sargassum trichophyllum* // Carbohydr. Polym. 2011. Vol. 86. P. 995–999.
31. Maeda M., Nishizawa K. Laminaran of *Ishige okamurai* // Carbohydr. Res. 1968. Vol. 7. P. 97–99.
32. Malyarenko O.S., Usoltseva R.V., Shevchenko N.M., Isakov V.V., Zvyagintseva T.N., Ermakova S.P. *In vitro* anticancer activity of the laminarans from Far Eastern brown seaweeds and their sulfated derivatives // J. Appl. Phycol. 2017. Vol. 29. P. 543–553.
33. Menshova R.V., Anastyuk S.D., Ermakova S.P., Shevchenko N.M., Isakov V.I., Zvyagintseva T.N. Structure and anticancer activity *in vitro* of sulfated galactofucan from brown alga *Alaria angusta* // Carbohydr. Polym. 2015. Vol. 132. P. 118–125.
34. Menshova R.V., Ermakova S.P., Anastyuk S.D., Isakov V.V., Dubrovskaya Yu.V., Kusaykin M.I., Um B.H., Zvyagintseva T.N. Structure, enzymatic transformation and anticancer activity of branched high molecular weight laminaran from brown alga *Eisenia bicyclis* // Carbohydr. Polym. 2014. Vol. 99. P. 101–109.
35. Mian A.J., Percival E. Carbohydrates of the brown seaweeds *Himanthalia lorea*, *Bifurcaria bifurcata*, and *Padina pavonia*. Pt I. Extraction and fractionation // Carbohydr. Res. 1973. Vol. 26. P. 133–146.
36. Nelson T.E., Lewis B.A. Separation and characterization of the soluble and insoluble components of insoluble laminaran // Carbohydr. Res. 1974. Vol. 33. P. 63–74.
37. Pang Z., Otaka K., Maoka T., Hidaka K., Ishijima S., Oda M., Ohnishi M. Structure of β -glucan oligomer from laminarin and its effect on human monocytes to inhibit the proliferation of U937 cells // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2005. Vol. 69. P. 553–558.
38. Ram S., Beyer R., Shepherd M.G., Sullivan P.A. Isolation and analysis of neutral glucans from *Ecklonia radiata* and *Cystophora scalaris* // Carbohydr. Res. 1981. Vol. 96. P. 95–104.
39. Read S.M., Currie G., Bacic A. Analysis of the structural heterogeneity of laminarin by electrospray-ionisation-mass spectrometry // Carbohydr. Res. 1996. Vol. 281. P. 187–201.
40. Reunov A.V., Lapshina L.A., Nagorskaya V.P., Elyakova L.A. Effect of 1,3;1,6- β -D-glucan on infection of detached tobacco leaves with tobacco mosaic virus // J. Phytopathol. 2008. Vol. 144. P. 247–249.
41. Rioux L.-E., Turgeon S.L., Beaulieu M. Effect of season in the composition of bioactive polysaccharides from the brown seaweed *Saccharina longicirris* // Phytochemistry. 2009. Vol. 70. P. 1069–1075.
42. Schmiedeberg J.E.O. Ueber die Bestandtheile der Laminaria // Tageblatt der 58. Versammlung Deutscher Naturforscher und Aerzte in Strassburg 18.–23. September 1885 / red. J. Stilling. Strassburg: G. Fischbach, 1885. S. 427.
43. Sova V.V., Zvyagintseva T.N., Svetasheva T.G., Burtseva Yu.V., Elyakova L.A. Comparative characterization of hydrolysis and transglycosylation catalyzed by β -1,3-glucanases from various sources // Biochemistry. 1997. Vol. 62. P. 1113–1118.
44. Usoltseva R.V., Anastyuk S.D., Shevchenko N.M., Surits V.V., Silchenko A.S., Isakov V.V., Zvyagintseva T.N., Thinh P.D., Ermakova S.P. Polysaccharides from brown alga *Sargassum duplicatum*: the structure and anticancer activity *in vitro* // Carbohydr. Polym. 2017. Vol. 175. P. 547–556.
45. Usoltseva R.V., Shevchenko N.M., Malyarenko O.S., Ishina I.A., Ivannikova S.I., Ermakova S.P. Structure and anticancer activity of native and modified polysaccharides from brown alga *Dictyota dichotoma* // Carbohydr. Polym. 2018. Vol. 180. P. 21–28.
46. Usoltseva (Menshova) R.V., Anastyuk S.D., Shevchenko N.M., Zvyagintseva T.N., Ermakova S.P. The comparison of structure and anticancer activity *in vitro* of polysaccharides from brown algae *Alaria marginata* and *A. angusta* // Carbohydr. Polym. 2016. Vol. 153. P. 258–265.
47. Usui T., Toriyama T., Mizuno T. Structural investigation of laminaran of *Eisenia bicyclis* // Agric. Biol. Chem. 1979. Vol. 43. P. 603–611.
48. Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M., Popivnich I.B., Isakov V.V., Scobun A.S., Sundukova E.V., Elyakova L.A. A new procedure for the separation of water-soluble polysaccharides from brown seaweeds // Carbohydr. Res. 1999. Vol. 322. P. 32–39.
49. Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M., Chizhov A.O., Krupnova T.N., Sundukova E.V., Isakov V.V. Water-soluble polysaccharides of some Far-eastern brown seaweeds. Distribution, structure, and their dependence on the developmental conditions // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2003. Vol. 294. P. 1–13.