

УДК 547.595 + 676.164

DOI: 10.15372/KhUR2020200

Синтез и свойства энтеросорбента из луба коры березы с нанесенным бетулином

С. А. КУЗНЕЦОВА¹, А. А. МОРОЗ², Г. П. СКВОРЦОВА¹, С. А. СЧИСЛЕНКО², Т. П. ШАХТШНЕЙДЕР³,
Н. В. ЧЕСНОВ¹, Б. Н. КУЗНЕЦОВ¹

¹Институт химии и химической технологии СО РАН,
Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр СО РАН”,
Красноярск (Россия)

²Красноярский государственный аграрный университет,
Красноярск (Россия)

³Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН,
Новосибирск, (Россия)

E-mail: ksa@icct.ru

Аннотация

Разработан способ получения энтеросорбента с улучшенными лечебно-профилактическими свойствами из луба коры березы, пропитанного биологически активным бетулином.

Ключевые слова: энтеросорбент, луб коры березы, “Полифепан”, бетулин

ВВЕДЕНИЕ

Широкое использование антибиотиков для лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний животных и птиц приводит к развитию резистентности к этим веществам, образованию токсичных соединений и иммунодефицитных состояний, что также сказывается на качестве продуктов животноводства и птицеводства. Альтернативный способ лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний – использование энтеросорбентов, способствующих быстрому удалению из организма токсичных и патогенных веществ, формированию здоровой микрофлоры и повышению устойчивости к воздействию неблагоприятных факторов. Энтеросорбция – перспективный метод очистки организма от всевозможных экзо- и эндотоксинов (ксенобиотиков, тяжелых металлов, продуктов метаболизма патогенной микро- и микофлоры). Метод энтеросорбции позволяет использовать энтеросорбенты как при острых, так и при хронических заболеваниях, сопровождающихся ин-

токсикацией, нарушением пищеварения, метаболическими расстройствами и снижением иммунитета [1–4].

В области детоксикации успешно используется промышленный энтеросорбент “Полифепан” на основе гидролизного лигнина, который характеризуется способностью сорбировать токсины различной природы и практически отсутствием противопоказаний по применению [5]. Сокращение объемов производства гидролизного лигнина обуславливает актуальность поиска других видов растительного сырья для получения энтеросорбентов. Таким альтернативным исходным материалом являются отходы коры и луба березы, обладающие хорошими сорбционными свойствами. В наших предыдущих работах показаны способы получения сорбентов из луба и коры березы, сорбционные свойства которых удовлетворяют требованиям для энтеросорбентов [6–13].

Основной экстракт внешнего слоя коры березы – бетулин – обладает широким спектром фармакологической активности. Перспек-

тивность применения бетулина в фармацевтической промышленности определяют его антисептические, противовоспалительные, противовирусные, антиоксидантные и другие свойства [14–16]. В Институте химии и химической технологии СО РАН (Красноярск) разработаны перспективные способы получения бетулина из коры березы [17, 18].

В настоящее время большое внимание уделяется исследованиям возможности применения энтеросорбентов в качестве носителей для иммобилизации пребиотиков, лекарственных либо биологически активных соединений [10, 19, 20]. В работе [20] представлен способ получения композиционного ветеринарного препарата на основе пористого углеродного материала, в который диспергируют бетулин, растворенный в этаноле или этанольно-глицериновом растворе. Предложено использовать этот препарат для иммунокоррекции и детоксикации при отравлениях в качестве лекарственного средства пролонгированного действия при нарушении работы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и иммунной системы, а также усиления терапевтического эффекта других лекарственных средств при профилактике и лечении ряда болезней животных и птиц. Характер постепенного освобождения поверхности носителя от активного компонента позволяет сохранить его адсорбционную активность по отношению к токсическим веществам на всем протяжении ЖКТ. Совместное действие данных факторов обеспечивает терапевтический эффект, необходимый для лечения и профилактики целого ряда болезней, а также реабилитации организма.

Благодаря своим фармакологическим свойствам бетулин может усиливать активность некоторых иммунокомпетентных клеток, увеличивать число фагоцитов, их функциональную способность разрушать вирусы и бактериальные клетки, повышая тем самым собственные защитные силы организма и способствуя облегчению течения болезни.

Цель данной работы – разработка способа получения энтеросорбента с улучшенными лечебно-профилактическими свойствами из луба березовой коры, пропитанного биологически активным бетулином, и изучение его свойств.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

В качестве исходного сырья использовали измельченный луб березы повислой (*Betula pendula* Roth.) следующего состава (% от массы аб-

солютно сухого луба): полисахариды (48.8–49.1); лигнин (33.1–34.2); водорастворимые вещества (13.1–13.7); минеральные вещества (2.4–3.4). Луб березы измельчали на роторной ножевой мельнице РМ 120 (Россия) и с помощью сит отсеивали фракцию 1–2 мм.

Методики получения энтеросорбентов

Получение энтеросорбента из березового луба (образец 1 – ЭБЛ) осуществляли путем экстракции луба березы 0.5 % раствором NaOH в 20 % водном растворе этилового спирта. Смесь кипятили на водяной бане в течение 1 ч, отфильтровывали, нейтрализовали, промывали водой и высушивали до воздушно-сухого состояния. Экстракция луба спиртово-щелочной смесью проведена вместо многоступенчатой экстракции растворителями, осуществленной ранее для получения энтеросорбента из луба коры березы [8]. Недостатками способа получения энтеросорбента, описанного в работе [8], являлось использование очень мелкой пылеобразной фракции луба 0.1–1.0 мм с более низкими сорбционными свойствами, а также проведение предварительной многоступенчатой экстракции сорбента рядом растворителей: гексаном, этилацетатом, изопропанолом и водой с последующей обработкой раствором щелочи.

Образец 2 – ЭБЛ-Б – получали путем пропитки полученного сорбента ЭБЛ горячим спиртовым раствором бетулина, объем которого определяли, исходя из емкости сорбента по отношению к спирту. Пропитку проводили небольшими порциями, тщательно перемешивая. Пропитанный сорбент выдерживали в течение 1 сут в закрытой посуде при комнатной температуре, после чего сушили при 100 °С в течение 3 ч.

Для сравнения был использован промышленный энтеросорбент “Полифепан” (ЗАО “Сайнтек”, Россия), произведенный из гидролизного лигнина (образец 3 – ПФ). Образец 4 – ПФ-Б – получен аналогично образцу 2 путем пропитки ПФ спиртовым раствором бетулина. Содержание бетулина в образцах ЭБЛ-Б и ПФ-Б составляло 10 мг/г сорбента.

Методы исследования

Состав сырья и полученных сорбентов определяли по общепринятым в химии древесины методикам [21].

Сорбционная активность A образцов изучена по маркерным веществам с разной молекулярной массой: по йоду (A_{J_2}) [22], метиленовому синему (A_{mc}) [23] и желатину ($A_{ж}$) [24].

Методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) исследовали морфологию полученных образцов с помощью растрового электронного микроскопа ТМ 1000 (Hitachi, Япония).

Термический анализ (ТА) сорбентов проводили с использованием термоанализатора STA 449 F1 Jupiter (Netzsch, Германия) в атмосфере аргона в тиглях из корундовой керамики (Al_2O_3) с перфорированными крышками. Образцы нагревали от 30 до 500 °С со скоростью 10 °С/мин. Скорость подачи продувочного газа составляла 50 мл/мин.

Элементный анализ осуществляли с помощью элементного анализатора Flash EA 1112 (Thermo Quest, Италия).

Эффективность лечебно-профилактического действия всех образцов проверяли при острых желудочно-кишечных инфекциях (эшерехиозе) линейных белых мышей на базе Красноярского государственного аграрного университета. Заражение животных проводили внутрибрюшинно 18–24 часовой агаровой культурой микроорганизмов *E. Coli* серотипа O138 K99 в дозе 500 млн микробных тел в 1 мл.

Животные со средней массой 18 г были разделены на пять групп по пять голов в каждой, все мыши получали стандартный корм. Животные опытных профилактических групп за 3 сут до заражения культурой микроорганизмов *E. Coli* получали 1 раз/сут энтеросорбент по 0.2 г на 1 кг массы животного. Животные опытных лечебных групп с момента появления первых признаков клинической симптоматики и до полного выздоровления получали энтеросорбент 2 раза/сут по 0.2 г на 1 кг массы животного.

В ходе экспериментов оценивали следующие показатели: тяжесть течения заболевания; сохранность лабораторных животных; процент заболеваемости; процент падежа; продолжительность проявления клинических признаков заболевания; показатель бактериальной обсемененности кишечника тестовой культурой *E. Coli*. Длительность наблюдения за животными в опытной и контрольной группах составляла от 3 до 5 сут.

Количественный показатель бактериальной обсемененности кишечника тестовой культурой *E. Coli* серотипа O138 K99 в 1 г пищеварительного химуса тонкого отдела кишечника изучали по методике, описанной в работе [25]. В случае падежа животных проводили бактериологический анализ содержимого химуса тонкого анатомо-патологического материала [26]. Отбор материала для бактериологического анализа осуществляли согласно методическим указаниям

Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора [27].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экстракция луба раствором щелочи в водном растворе этилового спирта позволила извлечь полифенолы и заменила многоступенчатую экстракцию с помощью органических растворителей [8].

После экстракции луба березы 0.5 % раствором щелочи в 20 % водном растворе этилового спирта был получен сорбент с выходом 60–62 % от массы исходного луба. Содержание основных компонентов в образцах сорбентов после экстракции спиртово-щелочной смесью составило (% от массы абсолютно сухого сорбента): полисахариды (37.3–38.2); лигнин (20.2–23.1); водорастворимые вещества (1.1–1.8); минеральные вещества (2.1–2.4).

В работе [9] проведено сравнение элементного состава энтеросорбента из луба березовой коры и промышленного энтеросорбента “Полифепан”. Показано, что исследуемые образцы по элементному составу подобны (ЭБЛ/ПФ, мас. %): С (64.0/68.9); Н (6.8/6.1); $S_{\text{общ}}$ (0.03/0.07). Сорбент ЭБЛ содержит меньше серы, чем ПФ, что обусловлено природой сырья.

Морфология полученных сорбентов была исследована методом СЭМ (рис. 1). У энтеросорбента ЭБЛ-Б (см. рис. 1, а) наблюдаются развитая пористая структура и вкрапления белых кристалликов бетулина в порах сорбента. У образца ПФ-Б (см. рис. 1, б) поверхность неоднородна, с меньшим количеством макропор, причем кристаллы бетулина находятся глубже в порах образца. Присутствие кристаллического бетулина на поверхности сорбентов связано, по-видимому, с тем, что некоторая его часть не сорбируется, а кристаллизуется на поверхности образцов при их обработке спиртовым раствором бетулина.

Наличие развитой пористой структуры сорбентов улучшает их сорбционные свойства по отношению к высоко- и среднемолекулярным соединениям: различным органическим и неорганическим веществам, биогенным аминам и желчным кислотам, токсинам белкового происхождения.

Сорбционные свойства проверяли по способности сорбентов поглощать молекулы йода, метиленового синего и желатина. Поскольку молекулы йода имеют небольшой размер, то они адсорбируются на поверхности микропор сорбента;

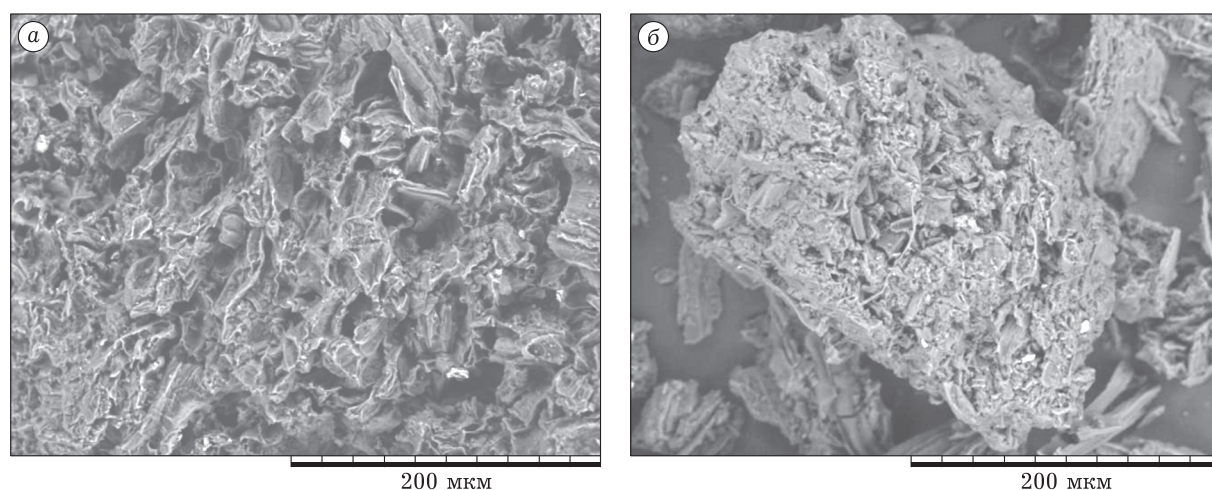


Рис. 1. СЭМ-изображения образцов сорбентов с нанесенным бетулином: ЭБЛ-Б (а), ПФ-Б (б).

молекулы метиленового синего имеют больший размер и адсорбируются на поверхности мезо-пор сорбента; молекулы желатина моделируют класс высокомолекулярных токсинов и адсорбируются на поверхности макропор сорбента. Данные о сорбционной активности для энтеросорбентов из луба березовой коры в сравнении с промышленным энтеросорбентом “Полифепан”, а также образцов с нанесенным бетулином представлены в табл. 1.

Видно, что сорбционная активность по йоду выше для ПФ и ПФ-Б по сравнению с образцами из луба коры березы и практически не изменилась после нанесения на образцы бетулина.

Сорбционная активность по метиленовому синему для образца ЭБЛ составляла 76.2 мг/г, после пропитки бетулином для образца ЭБЛ-Б она увеличилась до 89 мг/г, а для ПФ-Б снизилась до 26 мг/г.

Сорбционная активность по желатину была ниже для образца ЭБЛ, чем для промышленного образца ПФ. Однако после нанесения бетулина сорбционная активность образца ЭБЛ-Б по желатину увеличилась до 224 мг/г, а для ПФ-Б

снизилась до 128 мг/г. Можно предположить, что кристаллы бетулина заблокировали устья пор либо заняли всю поверхность мезо- и макропор ПФ-Б. Возможно, бетулин хуже сорбируется на поверхности сорбента “Полифепан”, чем на поверхности сорбента из березового луба.

Известно, что бетулин (бетулинол, луп-20(29)-ен-3 β ,28-диол) – пентациклический три-терпеновый спирт лупанового ряда, в молекуле которого в качестве функциональных групп присутствуют первичная и вторичная гидроксильные группы и двойная связь в изопропенильной группе у пятичленного кольца [28], которые могут образовывать связи с функциональными группами молекул в структуре сорбентов. Повышение сорбционной активности по метиленовому синему и желатину для сорбента ЭБЛ-Б и снижение ее для энтеросорбента ПФ-Б можно объяснить лучшим связыванием функциональных групп энтеросорбента из березового луба с бетулином.

На рис. 2 представлены термогравиметрические (ТГ), дифференциальные термогравиметрические (ДТГ) кривые потери массы и кривые

ТАБЛИЦА 1

Сорбционная активность образцов энтеросорбентов

Номер образца	Образец	Пропитка спиртовым раствором бетулина	Сорбционная активность, мг/г сорбента		
			A_{J_2}	A_{mc}	$A_{ж}$
1	ЭБЛ	–	170.0 $\pm$ 8.0	76.2 $\pm$ 1.5	151.1 $\pm$ 3.1
2	ЭБЛ-Б	+	180.0 $\pm$ 9.0	89.0 $\pm$ 2.0	224.0 $\pm$ 5.6
3	ПФ	–	320.0 $\pm$ 18.0	60.0 $\pm$ 2.5	264.0 $\pm$ 4.9
4	ПФ-Б	+	320.0 $\pm$ 13.0	26.0 $\pm$ 1.5	128.0 $\pm$ 2.8

Примечание. Сорбционная активность (количество мг сорбируемого вещества на 1 г сорбента): по йоду (A_{J_2}), по метиленовому синему (A_{mc}), по желатину ($A_{ж}$).

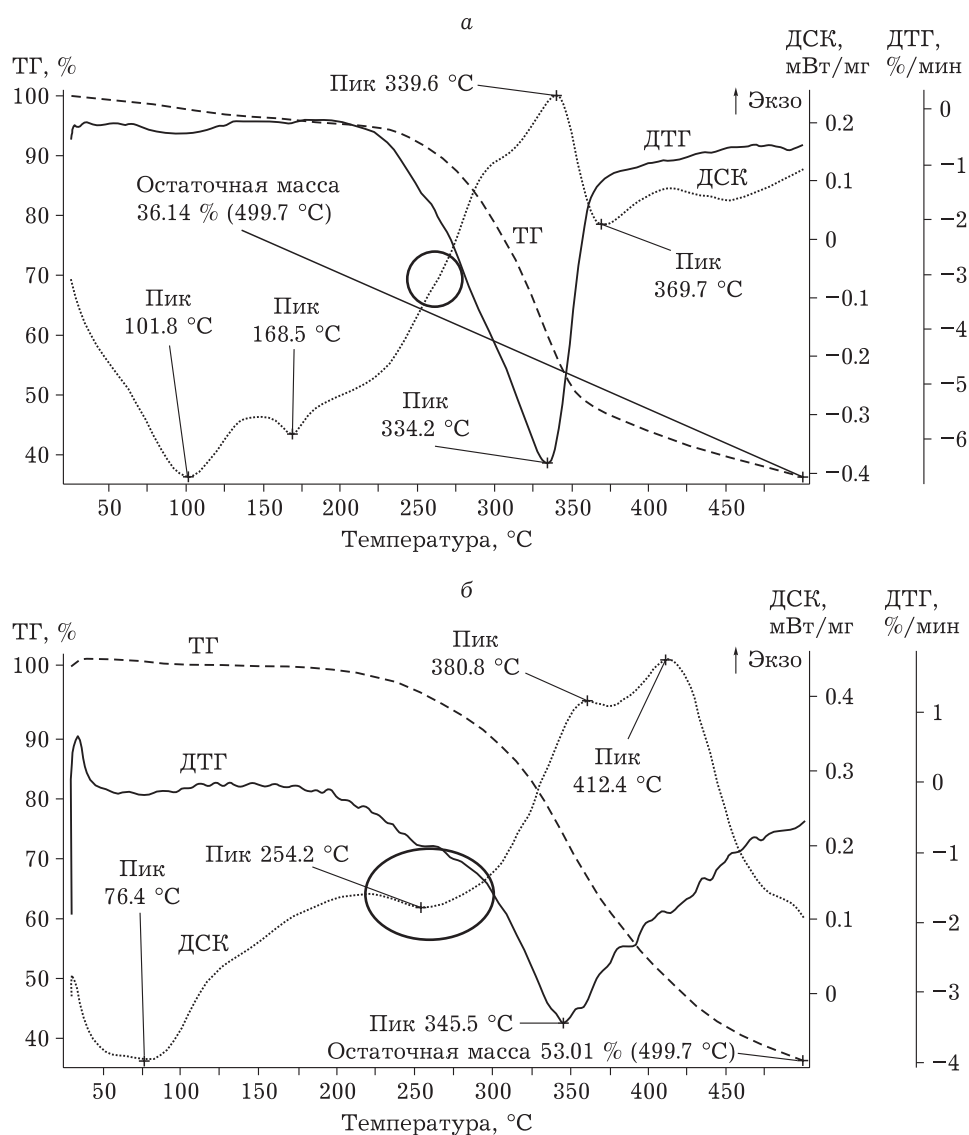


Рис. 2. Данные термического анализа исследуемых сорбентов: ЭБЛ-Б (а), ПФ-Б (б).

дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) образцов ЭБЛ-Б и ПФ-Б. Видно, что в процессе термических превращений исследуемых образцов помимо удаления воды при температуре до 100 °C можно выделить несколько стадий потери массы, характеризующихся наличием пиков на кривых ДТГ. В случае образца ЭБЛ-Б максимальная потеря массы (до 52 %) происходит в области 220–350 °C. Для образца ПФ-Б потеря массы также начинается при 220 °C. Таким образом, термическая стабильность обоих видов сорбентов примерно одинакова.

На кривой ДСК образца ПФ-Б присутствует эндотермический пик при 254 °C, что соответствует температуре плавления перекристаллизованного из этанола бетулина (251–261 °C [27]). При этом на кривой ДСК образца ЭБЛ-Б в об-

ласти температур 250–270 °C эндотермических тепловых эффектов не наблюдается. Это подтверждает предположение о наличии в образце ПФ-Б большего количества кристаллического бетулина, чем в ЭБЛ-Б.

Результаты по изучению возможности использования полученных сорбентов для профилактики и лечения эшерихиоза животных на модели лабораторных белых мышей представлены в табл. 2.

Оба образца энтеросорбентов из луба коры березы показали хорошие результаты для профилактики эшерихиоза. Причем энтеросорбент ЭБЛ-Б проявил лучшие профилактические свойства. Заболевание этой группы животных протекало в легкой форме, и через 24 ч животные были здоровы. В группе животных, полу-

ТАБЛИЦА 2

Результаты использования сорбентов для профилактики и лечения эшерихиоза

№ группы	Энтеро-сорбент	Профилактика			Лечение		
		Симптомы заболевания	Период выздоровления, ч	Падеж, %	Симптомы заболевания	Период выздоровления, ч	Падеж, %
1	ЭБЛ	умеренные	72	40	умеренные	48	20
2	ЭБЛ-Б	легкие	24	20	очень легкие	24	0
3	ПФ	тяжелые	120	80	тяжелые	—	100
4	ПФ-Б	средней тяжести	96	60	тяжелые	—	100
5	Контроль	тяжелые	—	100	тяжелые	—	100

чающих энтеросорбент ЭБЛ для профилактики эшерихиоза, проявления заболевания были умеренные, выздоровление происходило за 72 ч, а падеж составил 40 %. После заражения эшерихиозом группы животных, профилактически получающих сорбент ПФ, заболевание протекало в тяжелой форме, падеж составил 80 %. Симптомы заболевания были также тяжелыми и в контрольной группе животных.

При использовании исследуемых энтеросорбентов для лечения генерализованной формы эшерихиоза лабораторных животных хорошие результаты показали также оба образца энтеросорбентов из луба березовой коры. Группа животных, получающих ЭБЛ, проявила умеренные симптомы заболевания, и животные полностью восстановились через 48 ч, падеж составил 20 %. У животных группы, получающей энтеросорбент ЭБЛ-Б, после заражения эшерихиозом и лечения этим сорбентом наблюдалось быстрое купирование клинической симптоматики, нормализация аппетита и активности, и через 24 ч животные данной группы были здоровы. В опытных группах, лечение которых проводили образцами энтеросорбентов ПФ и ПФ-Б, симптомы заболевания были тяжелые, практически такие же, как и в контрольной группе, падеж животных составил 100 %.

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что полученные энтеросорбенты на основе луба коры березы могут быть успешно использованы для профилактики и лечения острых и хронических желудочно-кишечных инфекций животных. Полученный энтеросорбент из луба березовой коры с нанесенным бетулином обладает высокой сорбционной способностью, что связано не только с развитой внутренней поверхностью, но и с наличием в его макромолекулах различных функциональных групп. Это позволяет связывать и выводить энтеральным путем газы, алкалоиды, бактериаль-

ные клетки и продукты их жизнедеятельности, экзогенные и эндогенные токсины, проникающие в ЖКТ, холестерин, билирубин, а также биологически активные вещества – серотонин, гистамин, продукты тучных клеток. Энтеросорбент восстанавливает биоценоз кишечника, улучшает липидный обмен, нормализует содержание билирубина, активность трансаминаз и амилазы, снижает концентрацию токсинов в крови, плазме и асцитической жидкости, другие биохимические показатели, нарушенные при экзо- и эндотоксемии. Присутствие иммобилизованного бетулина на поверхности сорбента усиливает его противовоспалительные и иммуномодулирующие свойства.

Пониженная активность энтеросорбента “Полифепан” с нанесенным бетулином может быть связана с наличием на поверхности образца большого количества кристаллического бетулина, который проявляет свои противовоспалительные свойства в меньшей степени, чем иммобилизованный на поверхности бетулин и, кроме того, блокирует поры сорбента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получен энтеросорбент из измельченного до фракции 1.0–2.0 мм луба коры березы путем экстракции 0.5 % раствором щелочи в 20 % водном растворе этилового спирта и пропитки полученного продукта спиртовым раствором бетулина.

Энтеросорбент из луба березовой коры с нанесенным бетулином по способности адсорбировать метиленовый синий и желатин превосходит промышленный энтеросорбент “Полифепан” с нанесенным бетулином.

Испытания энтеросорбентов на экспериментальных группах белых мышей для профилактики и лечения желудочно-кишечных инфекций показали, что энтеросорбент из луба коры березы с нанесенным бетулином обладает луч-

шими профилактическими и лечебными свойствами по сравнению с другими исследуемыми образцами энтеросорбентов и обеспечивает необходимую энтеросорбцию при острых кишечных инфекциях на различных стадиях течения заболевания.

В работе использованы приборы Красноярского регионального центра коллективного пользования СО РАН.

Работа выполнена в рамках Проекта № 0356-2016-0503 (V.46.4.3.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Беляков Н. А. Энтеросорбция. СПб.: Альтернативная медицина, 1994. 462 с.
- 2 Веротченко М. А., Гимадеева Л. С. Использование энтеросорбентов для нормализации обменных процессов и получения экологически безопасной животноводческой продукции // Вопр. нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2015. № 2. С. 119–121.
- 3 Морозов А. С., Бессонов И. В., Нуждина А. В., Писарев В. М. Использование энтеросорбентов для нормализации обменных процессов и получения экологически безопасной животноводческой продукции // Общая реаниматология. 2016. Т. 12, № 6. С. 82–107.
- 4 Великанов В. В., Белко А. А., Игнатенко А. С., Гапоненко С. С., Субботина И. А. Энтеросорбенты и пребиотики в профилактике и лечении патологии желудочно-кишечного тракта у животных // Учен. зап. учреждения образования “Витеб. ордена “Знак Почета” гос. академия ветеринар. медицины”: научно-практ. журн. 2015. Т. 51, Вып. 2. С. 19–22.
- 5 Бабкин В. А., Леванова В. П., Исаева Л. В. Медицинские препараты из отходов гидролизного производства // Хим. уст. разв. 1994. Т. 2, № 2–3. С. 559–581.
- 6 Кузнецов Б. Н., Левданский В. А., Кузнецова С. А. Химические продукты из древесной коры. Монография. Красноярск: СФУ, 2012. 259 с.
- 7 Кузнецова С. А., Щипко М. Л., Кузнецов Б. Н., Левданский В. А., Веприкова Е. В., Ковальчук Н. М. Получение и свойства энтеросорбентов из луба березовой коры // Химия раст. сырья. 2004. № 2. С. 25–29.
- 8 Пат. РФ № 2311954, 2007.
- 9 Веприкова Е. В., Кузнецова С. А., Скворцова Г. П., Щипко М. Л. Свойства и применение сорбционных материалов из луба коры березы // Журн. Сибир. федер. ун-та. Химия. 2008. Т. 1, № 3. С. 286–292.
- 10 Веприкова Е. В., Кузнецова С. А., Чесноков Н. В., Кузнецов Б. Н. Свойства энтеросорбентов, полученных иммобилизацией фурацилина и желатина на пористой подложке из луба коры березы // Журн. Сибир. федер. ун-та. Химия. 2014. Т. 7, № 1. С. 100–111.
- 11 Веприкова Е. В., Щипко М. Л., Кузнецова С. А., Ковальчук Н. М., Кузнецов Б. Н. Сорбция органических веществ, моделирующих различные факторы интоксикации, энтеросорбентом из луба коры березы // Хим. уст. разв. 2010. Т. 18, № 3. С. 239–247.
- 12 Пат. РФ № 2389498, 2010.
- 13 Пат. РФ № 2611388, 2017.
- 14 Alakurtti S., Makela T., Koskimies S., Yli-Kauhaluoma J. Pharmacological properties of ubiquitous natural product botulin // Pharm. Sci. 2006. Vol. 29. P. 1–13.
- 15 Soica C., Dehelean C., Peev C., Aluas M., Zupko I., Kasa P., Alexa E. Physico-chemical comparison of betulinic acid, betulin and birch bark extract and *in vitro* investigation of their cytotoxic effects towards skin epidermoid carcinoma (A431), breast carcinoma (MCF7) and cervix adenocarcinoma (HeLa) cell lines // Nat. Prod. Res. 2012. Vol. 26, Iss. 10. P. 968–974.
- 16 Kuznetsova S. A., Skvortsova G. P., Malyar Yu. N., Skuridina E. S., Veselova O. F. Extraction of betulin from birch bark and study of its physico-chemical and pharmacological properties // Russ. J. Bioorg. Chem. 2014. Vol. 40, No. 7. P. 742–747.
- 17 Пат. РФ № 2264411, 2005.
- 18 Пат. РФ № 2458934, 2012.
- 19 Коваленко Г. А., Кузнецова Е. В. Адсорбция антисептиков (фурацилина, хлоргексидина) и витамина Е на углеводородсодержащих энтеросорбентах // Хим.-фарм. журн. 2000. Т. 34, № 6. С. 45–49.
- 20 Пат. РФ № 2477125, 2013.
- 21 Оболенская А. В., Ельницкая Е. П., Леонович А. А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология, 1991. 319 с.
- 22 ГОСТ 6217–74. Уголь активный древесный дробленый. М.: ИПК Изд-во стандартов, 2003.
- 23 Решетников В. И. Оценка адсорбционной способности энтеросорбентов и их лекарственных форм // Хим.-фарм. журн. 2003. Т. 37, № 5. С. 28–32.
- 24 Markelov D. A., Nitsak O. V., Gerashenko T. T. // Pharm. Chem. J. 2008. Vol. 42, No. 7. P. 405–408.
- 25 Бойцов А. Г., Кафтырева Л. А., Ластовка О. Н., Чугунова Ю. А., Нилова Л. Ю., Пустынникова А. М., Эммануэль В. Л. Рекомендации по ведению преаналитического этапа микробиологических лабораторных исследований. Тверь: Изд. “Триада”, 2008. 64 с.
- 26 Мари П. Р., Шей И. Р. Клиническая микробиология: Краткое руководство. М.: Мир, 2006. 425 с.
- 27 Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологической лаборатории: Методические указания МУ 4.2.2039-05. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. 126 с.
- 28 Абышев А. З., Агаев Э. М., Гусейнов А. Б. Исследование химического состава экстракта коры березы *Cortex betula* сем. Betulaceae // Хим.-фарм. журн. 2007. Т. 41, № 8. С. 22–26.