

DOI: 10.17516/1998-2836-0307

EDN: KJKGGT

УДК 54.05

## Optimisation of Siberian Larch (*Larix sibirica*) Galactoglucomannan Sulfation Process with Sulfamic Acid in DMSO

Aleksandr S. Kazachenko<sup>\*a, b</sup>,  
Natalya Yu. Vasilyeva<sup>a, b</sup>, Yury N. Malyar<sup>a, b</sup>,  
Irina G. Sudakova<sup>a</sup>, Anna I. Chudina<sup>a</sup>,  
Olga Yu. Fetisova<sup>a</sup> and Yaroslava D. Berezhnaya<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS  
Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center SB RAS”*

*Krasnoyarsk, Russian Federation*

<sup>b</sup>*Siberian Federal University*

*Krasnoyarsk, Russian Federation*

Received 24.05.2022, received in revised form 01.07.2022, accepted 02.08.2022

**Abstract.** The influence of temperature, duration of the process of sulfation of larch wood galactoglucomannan, and the amount of the sulfating complex on the sulfur content (wt %) in galactoglucomannan sulfates during sulfation with sulfamic acid in DMSO in the presence of urea was studied. By mathematical optimization according to the Box-Behnken plan, sulfation conditions were established to achieve a high sulfur content in galactoglucomannan sulfates. The optimal conditions for sulfation of larch wood galactoglucomannan are temperature 89.5 °C, duration 2.3 hours, amount of sulfating complex per 1 g galactoglucomannan 55.4 mmol. The high quality of the approximation is proved by the high value of  $R^2_{adj} = 92.9\%$ , as well as by the values  $P < 0.0019$  (with an allowable range of 0.05). The introduction of a sulfate group into the galactoglucomannan molecule was confirmed by FTIR spectroscopy and elemental analysis.

**Keywords:** larch, galactoglucomannan, sulfation, galactoglucomannan sulfates, sulfamic acid, urea, Box-Behnken plan.

**Acknowledgements.** The work was carried out within the framework of the state assignment of the

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

\* Corresponding author E-mail address: leo\_lion\_leo@mail.ru

Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS (Project No. 0287–2021–0017). The equipment of the Krasnoyarsk Regional Center for Collective Use FRC KSC SB RAS was used in the work.

*Citation:* Kazachenko, A.S., Vasilyeva, N. Yu., Malyar, Yu.N., Sudakova, I.G., Chudina, A.I., Fetisova, O. Yu., Berezhnaya, Y. D. Optimisation of Siberian larch (*Larix sibirica*) galactoglucomannan sulfation process with sulfamic acid in DMSO. J. Sib. Fed. Univ. Chem., 2022, 15(3), 440–451. DOI: 10.17516/1998-2836-0307



## Оптимизация процесса сульфатирования галактоглокоманнана лиственницы сибирской (*Larix sibirica*) сульфаминовой кислотой в ДМСО

А. С. Казаченко<sup>а, б</sup>, Н. Ю. Васильева<sup>а, б</sup>,  
Ю. Н. Маляр<sup>а, б</sup>, И. Г. Судакова<sup>а</sup>,

А. И. Чудина<sup>а</sup>, О. Ю. Фетисова<sup>а</sup>, Я. Д. Бережная<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт химии и химической технологии СО РАН  
ФИЦ КНЦ СО РАН

Российская Федерация, Красноярск

<sup>б</sup>Сибирский федеральный университет  
Российская Федерация, Красноярск

**Аннотация.** Изучено влияние температуры, продолжительности процесса сульфатирования галактоглокоманнана древесины лиственницы и количества сульфатирующего комплекса на содержание серы (мас.%) в сульфатах галактоглокоманнана при сульфатировании сульфаминовой кислотой в ДМСО в присутствии мочевины. Путем математической оптимизации по плану Бокса-Бенкена установлены условия сульфатирования, позволяющие достичь высокого содержания серы в сульфатах галактоглокоманнана. Оптимальными условиями сульфатирования галактоглокоманнана древесины лиственницы являются температура 89,5 °С, продолжительность 2,3 часа, количество сульфатирующего комплекса на 1 г галактоглокоманнана 55,4 ммоль. Высокое качество аппроксимации доказано высоким значением  $R^2_{adj} = 92,9 \%$ , а также значениями  $P < 0,0019$  (с допустимым диапазоном значений 0,05). Введение сульфатной группы в молекулу галактоглокоманнана подтверждено методами ИК-спектроскопии и элементного анализа.

**Ключевые слова:** лиственница, галактоглокоманнан, сульфатирование, сульфаты галактоглокоманнана, сульфаминовая кислота, мочевина, план Бокса-Бенкена.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания Института химии и химической технологии СО РАН (Проект № 0287–2021–0017). В работе использовано оборудование Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

Цитирование: Казаченко, А.С. Оптимизация процесса сульфатирования галактоглокоманнана лиственницы сибирской (*Larix sibirica*) сульфаминовой кислотой в ДМСО / А.С. Казаченко, Н.Ю. Васильева, Ю.Н. Маляр и др. // Журн. Сиб. федер. ун-та. Химия, 2022, 15(3). С. 440–451. DOI: 10.17516/1998-2836-0307

## Введение

Растительная биомасса является перспективным источником и практически неисчерпаемым ресурсом для получения ценных органических веществ, в том числе природных полимеров и их производных. Растительные полисахариды все чаще используются в качестве биологически активных веществ, которые обладают иммуномодулирующими, гипополидемическими, митогенными, пребиотическими, гепатозащитными, антимуtagenными, гастропротекторными свойствами [1]. Также полисахариды имеют ряд ценных свойств, таких как низкая токсичность, хорошая растворимость в воде, способность связывать жир, удерживать влагу и диспергирующие свойства. Благодаря широкому спектру уникальных свойств, полисахариды становятся перспективными для использования в ветеринарии, медицине, фармацевтической, пищевой и косметической промышленности [2, 3].

Одним из перспективных направлений модификации полисахаридов является получение производных, содержащих сульфатную группу. Введение в макромолекулу полисахарида сульфатной группы придает ему способность растворяться в воде и увеличивает его биоразлагаемость [4–6]. Кроме того, сульфатированные производные полимеров могут найти широкое применение в фармацевтике как потенциальные противовирусные препараты и антикоагулянты нового класса [7–9]. В работах [10, 11] показано, что сульфатированные полисахариды могут быть перспективными носителями лекарств и биогенных металлов, также самостоятельно проявляя физиологически активные свойства.

Сульфатированные полисахариды (фуканы, декстрансульфаты, гепарин, каррагинаны, сульфатированные хитозаны, сульфатированный крахмал и полиэтиленсульфаты), а также экстракты водорослей обладают различной степенью противовирусной активности против различных вирусов [5, 6]. Среди сульфатированных полисахаридов особое внимание уделяется соединениям, которые ингибируют размножение ретровирусов [12].

В настоящее время в качестве сульфатирующих реагентов для полисахаридов распространены комплексы триоксида серы с различными основаниями, применяемыми не только для получения сульфатирующей смеси, но и в качестве реакционной среды [13]. Однако данные сульфатирующие агенты токсичны и коррозионно-агрессивны, что накладывает ограничения для их крупнотоннажного производства. По сравнению с хлорсульфоновой кислотой сульфаминовая кислота не токсична и не вызывает коррозии, что является существенным преимуществом [14].

Ранее авторами был предложен способ сульфатирования галактоглокоманнана древесины лиственницы сульфаминовой кислотой в среде 1,4-диоксана в присутствии органических оснований [15]. Показано, что наибольшее содержание серы в сульфатах галактоглокоманнана достигается при использовании мочевины в качестве активатора процесса сульфатирования сульфаминовой кислотой.

По сравнению с 1,4-диоксаном и другими растворителями, традиционно используемыми для сульфатирования полисахаридов [16, 17], ДМСО имеет ряд существенных преимуществ.

Во-первых, он не токсичен, во-вторых, способен растворять галактоглокоманнан, а реакция сульфатирования протекает в гомогенных условиях, что приводит к малым диффузионным ограничениям.

В работе проведена численная оптимизация нового экологически безопасного способа сульфатирования галактоглокоманнана смесью сульфаминовой кислоты и мочевины в среде ДМСО.

### Экспериментальная часть

В качестве исходного сырья использовали древесные опилки (фракция 2,0–5,0 мм) лиственницы сибирской (*Larix Sibirica*), произрастающей в Красноярском крае. Содержание основных компонентов древесины лиственницы (% мас.): целлюлоза – 42,2; лигнин – 28,1; гемицеллюлозы – 26,7; смолы – 2,0; зола – 1,0.

Выделение галактоглокоманнана проводили по методике, описанной в работе [15, 18].

#### *Сульфатирование галактоглокоманнана*

Для сульфатирования галактоглокоманнана (ГГМ) в трехгорлую колбу, снабженную термометром, механической мешалкой помещали 50 мл ДМСО, 4,9–12,1 г. сульфаминовой кислоты и 3,1–7,8 г. мочевины, образовавшуюся смесь нагревали при интенсивном перемешивании до 50 °С и добавляли к ней 1 г воздушно-сухого галактоглокоманнана. Затем температуру реакционной смеси поднимали до фиксированного значения (в соответствии с условиями сульфатирования, приведенными в табл. 1) и перемешивали при этой температуре в течение 0,5–3 часов. По окончании сульфатирования растворитель декантировали, а образовавшийся остаток растворяли в 25 мл воды, избыток сульфаминовой кислоты нейтрализовали 25 %-ным водным раствором аммиака до нейтральной реакции.

Для очищения продукта от непрореагировавших соединений и низкомолекулярных веществ использовали диализ против воды в полиэтиленовом пакете марки MF-503–46 MFPI (США) с размером пор 3,5 кДа в течение 10 часов (при смене воды каждый час).

#### *Элементный анализ*

Элементный анализ сульфатированного галактоглокоманнана был проведен на элементном анализаторе Flash EA-1112 (Thermo Quest, Italia).

#### *ИК-спектроскопия*

ИК- Фурье-спектры исходного ГГМ и СГГМ регистрировали на ИК- Фурье-спектрометре Shimadzu IRTracer-100 (Япония) в диапазоне длин волн от 400 до 4000 см<sup>-1</sup>. Спектральные данные анализировали с помощью программы OPUS (версия 5.0). Для анализа готовили твердые образцы в виде таблеток в матрице KBr (2 мг образца / 1000 мг KBr).

#### *Численная оптимизация процесса сульфатирования галактоглокоманнана*

Программное обеспечение Statgraphics Centurion XVI, DOEblock (Design of Experiment) было использовано для численной оптимизации процесса сульфатирования галактоглокоман-

Таблица 1. Обозначение независимых факторов, выходного параметра и уровни их варьирования

Table 1. Designation of independent factors, output parameter and levels of their variation

Факторы и параметры	Обозначение в уравнении	Интервалы варьирования
Количество сульфатирующего комплекса на 1 г ГГМ, ммоль	$X_1$	25,0–62,5
Температура, °С	$X_2$	70–90
Продолжительность, ч	$X_3$	0,5–2,5
Содержание серы, мас.%	$Y_1$	-

нана [19, 20]. В качестве расчетной модели был выбран план Бокса-Бенкена, позволяющий сократить количество экспериментов и обеспечивающий высокую точность получаемых данных.

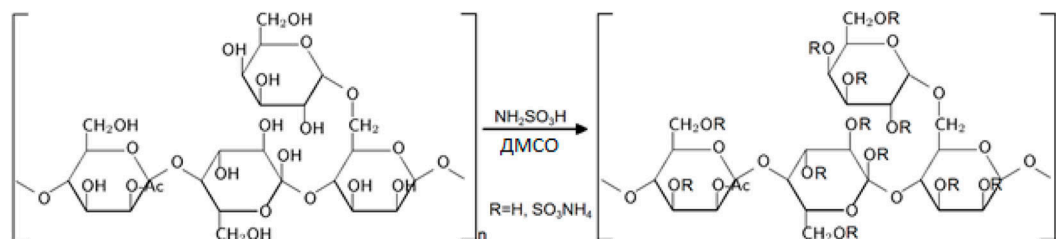
В качестве независимых переменных в исследовании были включены три фактора (уровни их вариации в скобках):  $X_1$  – количество сульфатирующего комплекса, взятого на 1 г галактоглокоманнана (25,0, 43,75, 62,5 ммоль),  $X_2$  – температура процесса сульфатирования галактоглокоманнана (70, 80, 90 °С),  $X_3$  – продолжительность (0,5, 1,5, 2,5 часа). Результат процесса сульфатирования характеризовали выходным параметром:  $Y_1$  – содержание серы (мас.%) в сульфате галактоглокоманнана. Был использован экспериментальный план Бокса-Бенкена (BBD). Обозначения переменных приведены в табл. 1.

### Результаты и обсуждение

Ранее нами был исследован процесс сульфатирования арабиногалактана древесины лиственницы сульфаминовой кислотой в присутствии мочевины в ДМСО [21]. Показано, что данный процесс идет в гомогенных условиях, что снижает диффузионные ограничения по сравнению с гетерогенным процессом [22].

Сульфатирование галактоглокоманнана древесины лиственницы сульфаминовой кислотой в ДМСО в присутствии мочевины проводят по схеме:

С целью оптимизации процесса сульфатирования галактоглокоманнана смесью сульфаминовой кислоты и мочевины в среде ДМСО варьировали температуру, время и состав реакционной смеси. Результаты экспериментов представлены в табл. 2.



В результате исследования процесса сульфатирования галактоглокоманнана сульфаминовой кислотой в ДМСО найдено, что максимальное содержание серы 16,6 % в сульфатированном галактоглокоманнана сравнимо с содержанием серы в сульфатированном ГГМ, полученном по известной методике [23], и может быть получено при соотношении ГГМ: СК (г/ммоль) 1:62,5 и температуре процесса 90 °С за 1,5 часа (табл. 2).

Таблица 2. Влияние условий сульфатирования галактоглокоманнана сульфаминовой кислотой в 1,4-диоксане в присутствии мочевины на содержание серы в сульфате галактоглокоманнана

Table 2. Effect of the conditions of sulfation of galactoglucomannan with sulfamic acid in 1,4-dioxane in the presence of urea on the sulfur content in galactoglucomannan sulfate

№	Количество сульфатирующего комплекса, ммоль	Температура, °С	Продолжительность, ч	Содержание серы, мас. %
1	43.75	80	1.5	10.0
2	25	70	1.5	6.2
3	62.5	70	1.5	9.1
4	25	90	1.5	10.2
5	62.5	90	1.5	16.6
6	25	80	0.5	4.7
7	62.5	80	0.5	8.4
8	43.75	80	1.5	10.4
9	25	80	2.5	9.2
10	62.5	80	2.5	11.1
11	43.75	70	0.5	5.0
12	43.75	90	0.5	8.4
13	43.75	70	2.5	8.9
14	43.75	90	2.5	16.0
15	43.75	80	1.5	10.2

Меньшая степень сульфатирования АГ [21], по сравнению с ГГМ (в аналогичных условиях), очевидно, связана с различием в строении АГ и ГГМ. Молекула АГ имеет сильно разветвленную структуру и существует в компактной сферической форме [24]. Вследствие линейного строения ГГМ и меньшей степени разветвления, по сравнению с АГ, гидроксильные группы ГГМ более доступны для сульфатирования [25].

Повышение температуры процесса сульфатирования должно приводить к увеличению скорости как присоединения сульфатных групп, так и деполимеризации макромолекулы полисахарида, но в разной степени. Очевидно, что наиболее склонны к деполимеризации (гидролизу) низкомолекулярные фракции галактоглокоманнана, которые также проявляют высокую реакционную способность при сульфатировании. С повышением температуры и продолжительности процесса сульфатирования увеличивается количество низкомолекулярных продуктов с высоким содержанием серы, которые удаляются при диализной очистке [26].

Согласно табл. 2, наибольшее содержание серы в сульфате галактоглокоманнана достигается при температуре процесса 90 °С, продолжительности процесса 1,5 часа и количестве сульфатирующего комплекса 62,5 ммоль. Дальнейшее увеличение как продолжительности, так и температуры может привести к реакциям гидролиза и частичному разрушению молекул галактоглокоманнана под действием сульфаминовой кислоты. Показано, что меньшее количество сульфатирующего комплекса приводит к более низким значениям содержания серы в сульфате галактоглокоманнана.

Выход сульфата ГГМ при гетерогенном сульфатировании сульфаминовой кислотой [15] варьируется от 87 до 91 %, что является несущественной разницей. При гомогенном сульфатировании выходы составляли в диапазоне 92–94 %, ввиду чего построение математической модели не имеет смысла благодаря близости значений.

Для построения точной модели, описывающей данный процесс, был изучен вклад температуры, продолжительности процесса и количества сульфатирующего комплекса на степень замещения в сульфатах галактоглокоманнана в процессе сульфатирования ГГМ сульфаминовой кислотой. Результаты дисперсионного анализа приведены в табл. 3.

План Бокса-Бенкена используется для разработки точной экспериментальной модели среди значимых факторов [27, 28]. Дисперсионный анализ показал, что в рамках принятых экспериментальных условий наибольший вклад в общую дисперсию выходного параметра вносят два фактора – температура и продолжительность процесса. На это указывают высокие значения коэффициентов дисперсии  $F$  для основных эффектов. Следует отметить, что количество сульфатирующего комплекса тоже влияет, хотя и в меньшей степени, чем факторы, описанные выше. На это указывает значение  $P$ , равное 0,0019 (с допустимым диапазоном значений 0,05). Влияние источника дисперсии на выходной параметр считается статистически значимым, если уровень значимости меньше заданного критического значения. Результат показал, что регрессионная модель, использованная для изучения влияния независимых переменных на содержание серы в сульфатах галактоглокоманнана, была точной. На это также указывают высокие значения  $F > 35$  (табл. 3).

Зависимость содержания серы (мас.%) в сульфатах галактоглокоманнана ( $Y_1$ ) от переменных факторов процесса аппроксимируется уравнением регрессии:

$$Y_1 = 44.5552 + 0.07667X_1 - 1.18708X_2 - 0.2625X_3 - 0.00138667X_1^2 + 0.00413333X_1X_2 + 0.024X_1X_3 - 0.007125X_2^2 + 0.09X_2X_3 + 1.3625X_3^2 \quad (1)$$

Прогностические свойства уравнения (1) показаны на рис. 1, на котором сравниваются значения выходного параметра  $Y_1$ , полученные в эксперименте, со значениями, рассчитанными

Таблица 3. Данные дисперсионного анализа

Table 3. Data of variance analysis

Источник дисперсии	Статистические характеристики	
	Дисперсионные отношения Фишера ( <i>F-ratio</i> )	Уровни значимости ( <i>P-value</i> )
$X_1$	35.44	0.0019
$X_2$	77.92	0.0003
$X_3$	58.32	0.0006
$X_1^2$	1.18	0.3263
$X_1X_2$	3.24	0.1318
$X_1X_3$	1.09	0.3438
$X_2^2$	2.53	0.1727
$X_2X_3$	4.37	0.0909
$X_3^2$	9.24	0.0287
$R^2$	97.7	
$R^2_{adj}$	92.9	



с использованием уравнения (1). Прямая линия соответствует расчетным значениям  $Y_1$ , точки – результатам наблюдений. Близость «экспериментальных точек» к линии подтверждает хорошие предсказательные свойства уравнения (1).

Графическое отображение уравнения (1) в виде поверхности отклика показано на рис. 2.

Качество аппроксимации характеризуется также коэффициентом детерминации  $R^2_{adj}$ . В рассматриваемой задаче значение  $R^2_{adj} = 92,9\%$ , что указывает на хорошее качество аппрок-

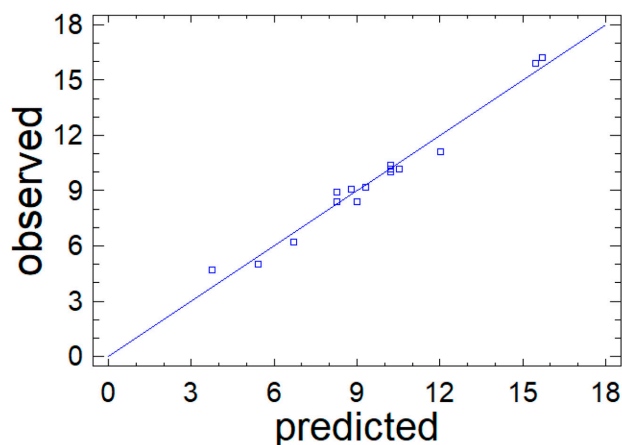


Рис. 1. Результаты наблюдений (точки) против значений выходного параметра  $Y_1$ , прогнозируемых математической моделью (1)

Fig. 1. The results of observations (points) against the values of the output parameter  $Y_1$  predicted by the mathematical model (1)

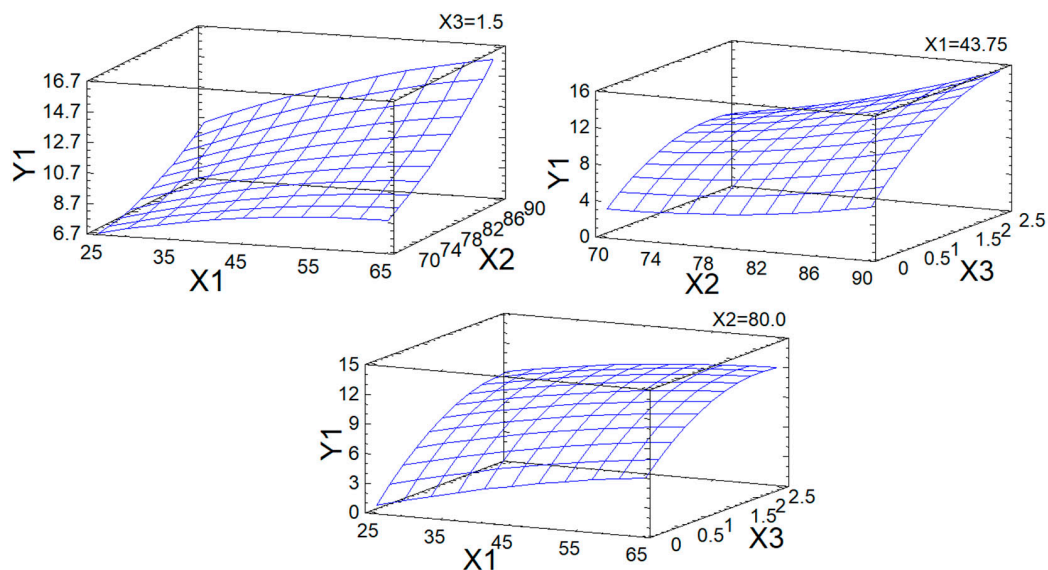


Рис. 2. Поверхности отклика зависимостей содержания серы (% мас.) в сульфатированном галактоглокоманнине от переменных факторов

Fig. 2. Response surfaces of dependences of sulfur content (% by weight) in sulfated galactoglucomannan on variable factors



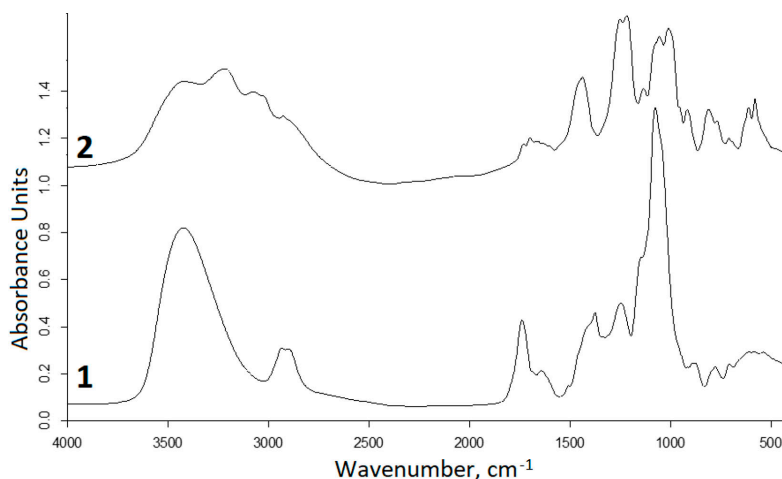


Рис. 3. ИК-спектры: 1 – исходный галактоглокоманнан, 2 – аммонийная соль сульфата галактоглокоманнана

Fig. 3. FTIR spectra: 1 – initial galactoglucomannan, 2 – ammonium salt of galactoglucomannan sulfate

симации. Это свидетельствует об адекватности уравнения (1) результатам наблюдений и позволяет использовать его в качестве математической модели изучаемого процесса.

Задачей поиска оптимума эксперимента было нахождение условий, обеспечивающих получение сульфата галактоглокоманнана с максимальным теоретическим выходом (16,7 мас.%). Рассчитанные оптимальные условия сульфатирования галактоглокоманнана сульфаминовой кислотой в 1,4-диоксане в присутствии мочевины составляют: температура 89,8 °С, продолжительность 2,4 часа, количество сульфатирующего комплекса на 1 г галактоглокоманнана 57,4 ммоль.

Галактоглокоманнан и его сульфат с максимальным содержанием серы (16,6 мас.%) были исследованы методом ИК-спектроскопии (рис. 3).

В ИК-спектрах сульфата ГГМ, в отличие от исходного ГГМ, присутствует полоса высокой интенсивности при 1253  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующая асимметричным валентным колебаниям  $\nu_{\text{as}}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$  (рис. 3). Полосы поглощения в области 790–818  $\text{cm}^{-1}$ , не наблюдаемые в ИК-спектре исходного ГГМ, также свидетельствуют о наличии сульфатной группы в сульфатах ГГМ. Полоса поглощения в области 3430–2920  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующая валентным колебаниям связей O–H и C–H, уширена за счет наложения полос поглощения валентных колебаний связи N–H в катионе аммония. Кроме того, имеется интенсивная полоса при 1447  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующая колебаниям связей N–H катиона аммония.

### Заключение

Путем численной оптимизации процесса сульфатирования галактоглокоманнана древеси́ны лиственницы сульфаминовой кислотой в среде ДМСО в присутствии мочевины (в пределах исследуемого диапазона условий процесса – температура: 70–90 °С, продолжительность – 0,5–2,5 ч, количество сульфатирующего комплекса 25,0–62,5 ммоль на 1 г галактоглокоманнана), установлено, что максимальное содержание серы (16,5 мас.%) достигается при температуре

89,5 °С, продолжительности 2,3 часа, количестве сульфатирующего комплекса на 1 г галакто-глюкоманна 55,4 ммоль.

Введение сульфатной группы в макромолекулу галактоглюкоманна подтверждено методами элементного анализа и ИК-спектроскопии. Так, в ИК-спектре сульфата ГГМ, по сравнению с исходным ГГМ, появляются полосы поглощения в области 1253 и 790–818 см<sup>-1</sup>, что свидетельствует о наличии сульфатной группы в молекуле сульфата ГГМ.

### Список литературы / References

1. Medvedeva E.N., Babkin V.A., Ostrouhova L.A. Larch arabinogalactan – properties and prospects of use (review) (2003) *К'him. rast. syria.*, 1, 27–37.
2. Dushkin A.V., Meteleva E.S., Tolstikova T.G., Pavlova A.V., Khvostov M.V. Gel chromatographic and toxicological studies of the mechanochemical transformations of water-soluble polysaccharides. *Pharm. Chem. J.* (2013), 46(10), 630–633.
3. Willför S., Sundberg K., Tenkanen M., Holmbom B. Spruce-derived mannans – a potential raw material for hydrocolloids and novel advanced natural materials. *Carbohydrate Polymers.* (2008). 72(2), 197–210. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.08.006>
4. Oliveira R. C.R., Almeida R. R., Gonçalves T.A. A Review of Plant Sulfated Polysaccharides and their Relations with Anticoagulant Activities. *J. Dev. Drugs.* (2016) 5,3.
5. Xu Y., Wu Y., Sun P., Zhang F., Linhardt R.J., Zhang A. Chemically modified polysaccharides: Synthesis, characterization, structure activity relationships of action. *Int. J. Biol. Macromol.* (2019), 132, 970–977.
6. Dore C.M., das C. Faustino Alves M.G., Will L.S., Costa T.G., Sabry D.A., de Souza Rêgo L.A., Accardo C.M., Rocha H.A., Filgueira L.G., Leite E.L. A sulfated polysaccharide, fucans, isolated from brown algae *Sargassum vulgare* with anticoagulant, antithrombotic, antioxidant and anti-inflammatory effects. *Carb. Polym.* (2013). 91, 467–475.
7. Henry B.L., Thakkar J.N., Liang A., Desai U.R. Sulfated, low molecular weight lignins inhibit a select group of heparin-binding serine proteases. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* (2012). 417(1), 382–386. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.11.122>
8. Henry B.L., Desai U.R. Sulfated low molecular weight lignins, allosteric inhibitors of coagulation proteinases via the heparin binding site, significantly alter the active site of thrombin and factor xa compared to heparin. *Thrombosis Research.* (2014). 134(5), 1123–1129. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2014.08.024>
9. Abdel-Aziz M.H., Mosier P.D., Desai U.R. Identification of the site of binding of sulfated, low molecular weight lignins on thrombin. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* (2011). 413(2), 348–352. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.08.102>
10. Vasil'eva N. Yu., Levdanskii A.V., Kazachenko A.S., Skvortsova G.P., Kuznetsov B.N., D'jakovich L., Pinel C. Synthesis of Sulfated Arabinogalactan Derivatives with Histidine and Arginine. *J. Sib. Fed. Univ.* (2016). 9(3), 318–325.
11. Levdanskii A.V., Vasil'eva N. Yu., Maksimov N.G., Karacharov A.A., Levdanskii V.A., Skvortsova G.P., Kuznetsov B.N., D'jakovitch L., Pinel C. Synthesis and study of copper-containing polymers based on sulphates of microcrystalline cellulose from larch wood. *К'him. rast. syria.* (2017). 3, 55–61.

12. Vo T.-S., Kim S.-K. Potential Anti-HIV Agents from Marine Resources: An Overview. *Mar. Drugs*. (2010). 8(12), 2871.
13. Kazachenko A. S., Vasilyeva N. Yu., Malyar Y. N., Elsufiev E. V., Berezhnaya Y. D. and Issaoui N. Sulfation of diethylaminoethyl cellulose with chlorosulfonic acid in 1,4-dioxane. *J. Sib. Fed. Univ. Chem.*, (2022), 15(2), 197–205.
14. Al-Horani R.A., Desai U.R. Chemical sulfation of small molecules – advances and challenges. *Tetrahedron*. (2010). 66(16), 2907–2918. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2010.02.015>
15. Kazachenko A. S., Malyar Y. N., Vasilyeva N. Y., Fetisova O. Yu., Chudina A. I., Sudakova I. G., Antonov A. V., Borovkova V. S., Kuznetsova S. A. Isolation and sulfation of galactoglucomannan from larch wood (*Larix sibirica*). *Wood Sci Technol*, (2021). 55, 1091–1107. <https://doi.org/10.1007/s00226-021-01299-1>
16. Kuznetsov B.N., Kuznetsova S.A., Levdansky V.A., Levdansky A.V., Vasil'eva N. Yu., Chesnokov N. V., Ivanchenko N.M., Djakovitch L., Pinel C. Optimized methods for obtaining cellulose and cellulose sulfates from birch wood. *Wood Sci Technol*. (2015) 49, 825–843. <https://doi.org/10.1007/s00226-015-0723-y>
17. Kazachenko A.S., Malyar Y.N., Vasilyeva N.Y., Borovkova V.S., Issaoui N. Optimization of guar gum galactomannan sulfation process with sulfamic acid. *Biomass Conv. Bioref.* (2021). <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01895-y>
18. Chudina A.I., Malyar Y.N., Sudakova I.G., Kazachenko A.S., Skripnikov A.M., Borovkova V.S., Kondrasenko A.A., Mazurova E.V., Fetisova O. Yu., Ivanov I.P. Physicochemical characteristics of polysaccharides from catalytic and noncatalytic acetic acid-peroxide delignification of larch wood. *Biomass Conv. Bioref.* (2021). <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01833-y>
19. Пен Р.З. Планирование экспериментов Statgraphics Centurion. Красноярск: СибГТУ, 2014. 293.
20. Казаченко А.С., Васильева Н.Ю., Судакова И.Г., Левданский В.А., Лутошкин М.А., Кузнецов Б.Н. Численная оптимизация процесса сульфатирования этанолигнина древесины пихты сульфаминовой кислотой в среде 1,4-диоксана в присутствии мочевины. *Журн. Сиб. федер. ун-та. Химия*, (2020). 13(2), 232–246. [Kazachenko A. S., Vasilyeva N. Yu., Sudakova I. G., Levdansky V. A., Lutoshkin M. A., Kuznetsov B. N. Numerical optimization of the process of sulfation of firwoodethanol lignin with sulfamic acid in 1,4-dioxanemedium in the presence of urea. *Journal. Sib. Fed. Univ. Chemistry*, (2020). 13(2), 232–246.] <https://doi.org/10.17516/1998-2836-0178>
21. Levdansky A. V., Vasilyeva N. Y., Kondrasenko A. A., Levdansky V. A., Malyar Yu. N., Kazachenko A. S., Kuznetsov B. N. Sulfation of arabinogalactan with sulfamic acid under homogeneous conditions in dimethyl sulfoxide medium. *Wood Sci Technol* (2021). 55, 1725–1744 <https://doi.org/10.1007/s00226-021-01341-2>
22. Vasilyeva N. Yu., Levdansky A. V., Kuznetsov B. N., Skvortsova G. P., Kazachenko A. S., Djakovitch L., Pinel C. Sulfation of arabinogalactan by sulfamic acid in dioxane. *Russ J Bioorg Chem* (2015). 41:725–731. <https://doi.org/10.1134/S 1068162015070158>
23. Martinichen-Herrero J.C., Carbonero E.R., Sasaki G.L., Gorin P.A.J., Iacomini M. Anticoagulant and Antithrombotic Activities of a Chemically Sulfated Galactoglucomannan Obtained From the Lichen *Cladonia Ibitipocae*. *Int J Biol Macromol*. (2005). 35(1–2), 97–102. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2004.12.002>

24. Babkin V. A., Neverova N. A., Medvedeva E. N., Fedorova T. E., Levchuk A. A. Investigation of physicochemical properties of arabinogalactan of different larch species. *Russ. J Bioorg Chem* (2016). 42(7), 23. <https://doi.org/10.1134/S 1068162016070025>
25. Kopania E., Milczarek S., Bloda A., Wietecha J., Wawro D. Extracting Galactoglucomannans (GGM) from Polish Softwood Varieties. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*. (2012). 20/6B (96), 160–166.
26. Malyar Y.N., Vasilyeva N.Y., Kazachenko A.S., Borovkova V.S., Skripnikov A.M., Miroshnikova A.V., Zimonin D.V., Ionin V.A., Kazachenko A.S., Issaoui N. Modification of Arabinogalactan Isolated from *Larix sibirica* Ledeb. into Sulfated Derivatives with the Controlled Molecular Weights. *Molecules*.(2021), 26, 5364. <https://doi.org/10.3390/molecules26175364>.
27. Karmoker J. R., Hasan I., Ahmed N., Saifuddin M., Reza M. S. Development and Optimization of Acyclovir Loaded Mucoadhesive Microspheres by Box-Behnken Design. *Dhaka University Journal of Pharm. Sciences*. (2019). 18 (1), 1–12.
28. Kazachenko A. S., Vasilieva N. Yu., Borovkova V.S., Fetisova O. Yu., Issaoui N., Malyar Yu.N., Elsuf'ev E.V., Karacharov A.A., Skripnikov A.M., Miroshnikova A.V., Kazachenko A.S., Zimonin D. V., Ionin V. A. Food Xanthan Polysaccharide Sulfation Process with Sulfamic Acid. *Foods* (2021), 10.