

## ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

### МОДИФИКАЦИЯ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

**Курбанов Хакимхон Галибович**

*преподаватель, Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека,  
Узбекистан, г. Ташкент*

**Ахмедова Наргиса Нуриллаевна**

*преподаватель, Чирчикский Государственный педагогический институт,  
Узбекистан, г. Чирчик  
E-mail: [ahmedova\\_nargis@mail.ru](mailto:ahmedova_nargis@mail.ru)*

**Сагдиев Наиль Жадитович**

*канд. хим. наук, доцент, Институт Биоорганической химии АН РУз.,  
Узбекистан, г. Ташкент*

**Турсунмуратов Обид Хамзаевич**

*преподаватель, Чирчикский Государственный педагогический институт,  
Узбекистан, г. Чирчик*

**Бекчанов Даврон Жумазарович**

*д-р хим. наук, доцент., Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека,  
Узбекистан, г. Ташкент*

### MODIFICATION OF HYALURONIC ACID

**Hakimkhon Qurbonov**

*Teacher, National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek,  
Uzbekistan, Tashkent*

**Nargisa Akhmedova**

*Teacher, Chirchik State pedagogical Institute,  
Uzbekistan, Chirchik*

**Nail Sagdiev**

*candidate of chemical sciences, associate professor, Institute of Bioorganic Chemistry  
of the Academy of Sciences of Republic Uzbekistan,  
Uzbekistan, Tashkent*

**Obid Tursunmuratov**

*Teacher, Chirchik State pedagogical Institute,  
Uzbekistan, Chirchik*

**Davronbek Bekchanov**

*doctor of chemical sciences, associate professor National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek,  
Uzbekistan, Tashkent*

### АННОТАЦИЯ

В статье описывается получение сшитых форм гиалуроновой кислоты, исследование процесса образования гидрогелей гиалуроновой кислоты с лимонной кислотой и цитратом натрия, исследование физико-химических характеристик сшитых форм гиалуроновой кислот.

### ABSTRACT

The article deals with obtaining cross-linked forms of hyaluronic acid, studying the formation of hydrogels of hyaluronic acid with citric acid and sodium citrate, studying the physic-chemical characteristics of cross-linked forms of hyaluronic acids.

**Ключевые слова:** гиалуроновая кислота, модификация, лимонная кислота, цитрат натрия, сшивка, гидрогель, набухание, параметры сетки.

**Keywords:** hyaluronic acid, modification, citric acid, sodium citrate, crosslinking, hydrogel, swelling, mesh parameters.

## ВВЕДЕНИЕ

Гидрогели гиалуроновой кислоты (ГК). Использование ГК как основы для производства биоматериалов имеет много преимуществ. Однако нативная форма ГК подвержена быстрому разрушению в естественных условиях *in vivo* свободными радикалами и ферментами, например, гиалуронидазой, к тому же обладает очень высокой растворимостью, что в ряде случаев является нецелесообразным.

Это ограничивает ее использование в некоторых медицинских целях, которые требуют длительного лечебного эффекта. Поэтому были предложены различные методы для изменения физико-химических свойств ГК при сохранении ее биосовместимости, таким образом, расширив спектр ее терапевтического действия.

Одним из методов увеличения химической, ферментативной и механической устойчивости является сшивание макромолекул ГК или получение их слабо растворимых комплексов с низкомолекулярными соединениями. Так, гидрогели ГК, в зависимости от природы и количества поперечных связей, являются гидрофильными сшитыми полимерами, которые способны набухать в воде и формировать нерастворимую объемную структуру. Функции гидрогелей зависят от их структуры [1]. Степень сшивки определяется природой полимера и средней массой полимерной цепи между узлами сшивки [2]. Плотность сшивок напрямую влияет на другие фундаментальные свойства гидрогелей, такие как степень набухания, механическую прочность и эластичность, проницаемость и диффузию [3].

Большое внимание сфокусировано на изучении гидрогелей на основе ГК для локального или контролируемого высвобождения субстанций в органах – мишенях [4, 5]. В зависимости от концентрации ГК, pH раствора, типа буфера, природы и количества препарата, а также сшивающего агента может быть получен широкий спектр материалов ГК [6].

ГК имеет четыре активных центра – ацетамидные, карбоксильные, гидроксильные и восстановленные концевые группы, доступные для сшивки между молекулами самой ГК или ГК и другими полимерами.

Большинство методов получения сшитых материалов ГК относятся к одностадийному процессу взаимодействия ГК с кросс-линкером, либо двухстадийному процессу, при котором вначале синтезируются активные производные ГК, а на следующей стадии происходит образование поперечных мостиков.

Для дальнейшего успешного применения ГК в медицине необходимы новые ее модификации, в том числе и поперечно-сшитые гели. Гиалуроновая кислота является исключительно важным и интересным объектом исследования для получения лекарственных препаратов и лекарственных средств нового поколения, позволяющих управлять локализацией и контролированием уровня высвобождения сорбированного лекарственного средства [7, 8].

Целью настоящей статьи является получение сшитых форм гиалуроновой кислоты, исследование процесса образования гидрогелей гиалуроновой кислоты с лимонной кислотой и цитратом натрия, исследование физических характеристик сшитых форм гиалуроновой кислоты.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА И ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Петушинные гребни, отмытые от загрязнений и крови, гомогенизировали, проводили последовательную трехстадийную экстракцию сырья физиологическим раствором при 80-90°C, в соотношении сырье: растворитель 1:5, смесь отфильтровывали, отделяли осадок, экстракты объединяли, осаждали гиалуроновую кислоту этиловым спиртом. Осадок растворяли в дистиллированной воде в соотношении осадок: растворитель 1:2, подщелачивали раствором едкого натрия до значения pH 7,0 - 7,3 и медленно подогревали до 80-90°C, фильтровали. Фильтрат лиофильно высушивали. Выход продукта – натриевой соли ГК, составил 1,63% от массы 6,88 г.

Для модификации ГК лимонной кислотой лиофильно высушенную натриевую соль ГК. В химический стакан ёмкостью 100 мл насыпали сухой порошок гиалуроната натрия весом 0,15 г и добавили 10 мл физиологического раствора и перемешивали на магнитной мешалке в течение 30 минут при 40°C. Затем добавили соответствующие количества лимонной кислоты (Табл. 1) и оставили в смесителе ещё на час. Через час охладили и поместили в холодильник на 15 часов. Это был образец №1. Аналогично получали образцы с различным соотношением гиалуроновой кислоты и сшивающего агента. Результаты приведены в таблице 1.

Модификация дала хорошие результаты. Все гели образовали хорошие пленки после высушивания. Таким образом были получены пленки различающиеся степенью сшивки.

Таблица 1.

Образцы полученные после модификации лимонной кислотой

Образцы	Количество взятой Na-ГК (г) в 10 мл физиологического раствора	Количество использованной лимонной кислоты (г)	Соотношение
№ 1	0,15	0,15	1:1
№ 2	0,15	0,30	1:2
№ 3	0,10	0,40	1:4
№ 4	0,10	1,00	1:10

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ НАБУХАНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИЙ

Процесс набухания полученных пленок наблюдали в зависимости прироста их массы от времени воздействия растворителя.

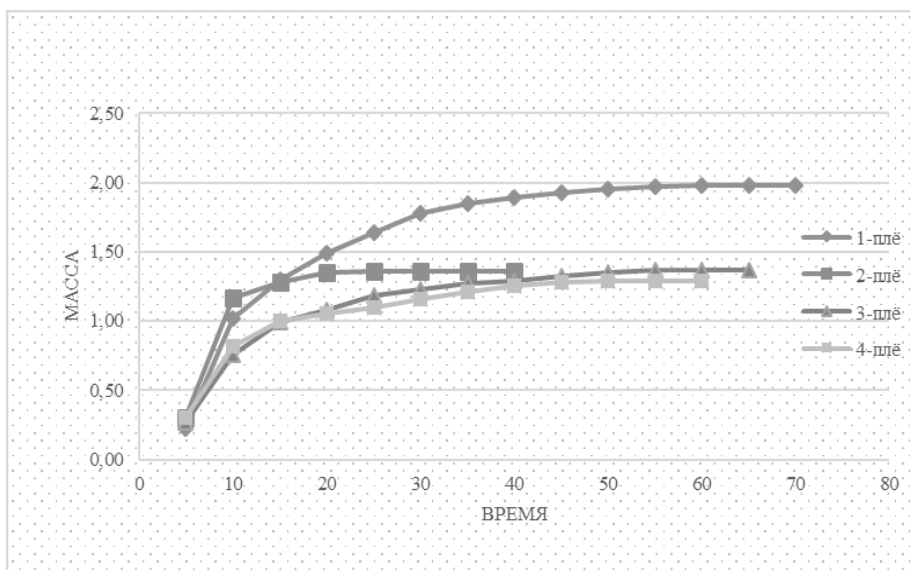
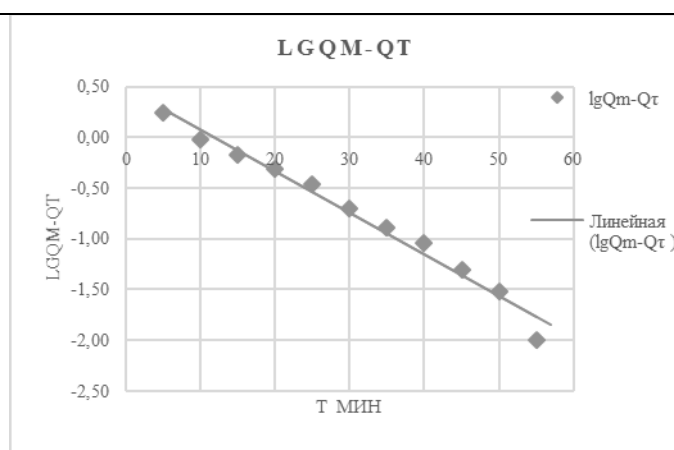


Рисунок 1. Процесс набухания образцов в дистиллированной воде

Таблица 1.

Определение и сравнение степени набухания пленок в воде в зависимости от коэффициента прироста массы

№	τ мин	Q <sub>m</sub>	Q <sub>m</sub> -Q <sub>τ</sub>	lgQ <sub>m</sub> -Q <sub>τ</sub>
1	5	0,22	1,76	0,25
2	10	1,02	0,96	-0,02
3	15	1,3	0,68	-0,17
4	20	1,49	0,49	-0,31
5	25	1,64	0,34	-0,47
6	30	1,78	0,20	-0,70
7	35	1,85	0,13	-0,89
8	40	1,89	0,09	-1,05
9	45	1,93	0,05	-1,30
10	50	1,95	0,03	-1,52
11	55	1,97	0,01	-2,00
12	60	1,98	0,00	0,00
13	65	1,98	0,00	0,00
14	70	1,98	0,00	0,00
15	75			



$$tg_a = \frac{a}{b} tg_a = \frac{0,22}{0,32} = 0,71$$

$$K = \frac{tg_a}{0,4343} K = \frac{0,71}{0,4343} = 1,63$$

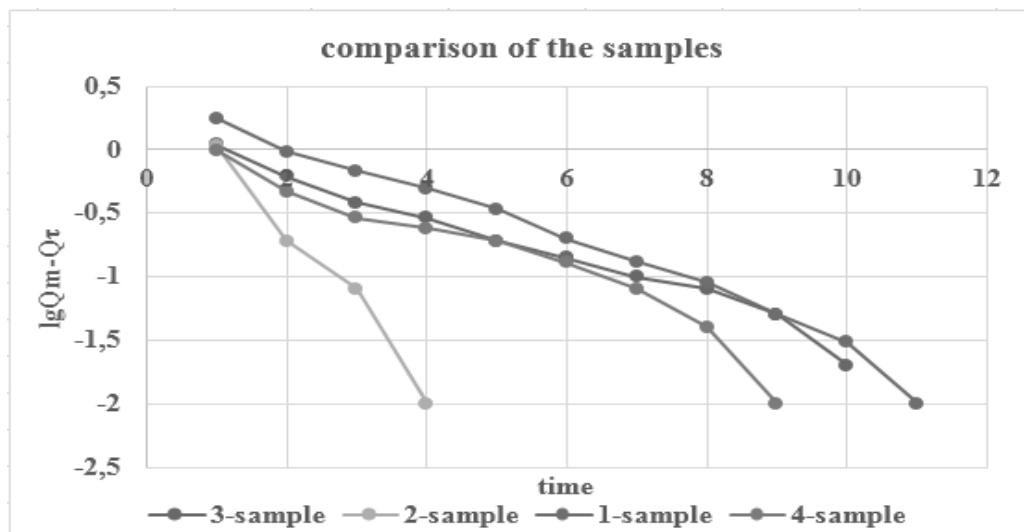


Рисунок 2. Зависимость констант скорости набухания пленок

Как видно из рисунка 1 образец №1 в воде набухает быстрее чем остальные. Это объясняется меньшей степенью сшивки, так как соотношение натрия гиалуроната и лимонной кислоты в этой пленке 1:1.

Набухание образцов 3 и 4 почти одинаково. Это свидетельствует о том, что при использовании больших количеств лимонной кислоты в качестве сшивающего агента наблюдается насыщение и дальнейшее ее увеличение не влияет на степень набухания.

**Параметры сетки полученного гидрогеля**

$$\alpha_{(\tau)} = \frac{m_{(\tau)} - m_0}{m_0}$$

$\alpha$ - степень набухания образца для фиксированного значения времени;  
 $m_{\tau}$  – масса набухшего образца для фиксированного значения времени;  
 $m_0$  – масса исходного вещества.

$$a = \frac{1.29 - 0.3}{0.3} = 3.3a = 3.3$$

Коэффициент набухания  $q_{2m}$  рассчитывали по следующей формуле:

$$q_{2m}^{об} = \frac{V_{2m}}{V_2} = \frac{1}{\varphi_{2m}} \text{ или } q_{2m}^{вес} = \frac{g_{2m} - g_2}{g_2} \times \frac{p_2}{p_0} + 1$$

$\rho_2$ -плотность полимера;(1.70 г/мл<sup>3</sup>)  
 $\rho_0$ - плотность растворитель; (0.99923 кг/м<sup>3</sup> (20°С))

$g_2$ -навеска сухого сшитого полимера; (0.29)  
 $g_{2m}$ - навеска набухшего сшитого полимера; (1.28)  
 $V_2$ -объем полимера ((m/p=v) 0.29/1.70=0.171)  
 $V_{2m}$ -объем равновесно набухшего сшитого полимера; (0.171+0.99=1.161)  
 $\varphi_{2m}$ - объемная доля полимера в набухшем геле в состоянии равновесия;

$$\varphi_{2m} = \frac{V_2}{V_{2m}} = \frac{0.171}{1.161} = 0.1473$$

$$q_{2m}^{об} = \frac{1}{\varphi_{2m}} = \frac{1}{0.1473} = 6.80$$

$$q_{2m}^{вес} = \frac{g_{2m} - g_2}{g_2} \times \frac{p_2}{p_0} + 1 = \frac{1.28 - 0.29}{0.29} \times \frac{1.70}{0.99923} + 1 = 6.80$$

$M_c$ - среднечисловая молекулярная масса активной цепи;  
 $\bar{v}_1$ - молярный объем растворителя;  $\bar{v}_1=18$

$\chi_1$ -параметр взаимодействия полимер растворитель(параметр Хаггинс);  $\chi_1 = 0.39$

$$M_c = \frac{P_2 \bar{v}_1 [(q_{2m} + 1)^{-\frac{1}{3}} - \frac{1}{2}(q_{2m} + 1)^{-1}]}{\ln\left(\frac{1}{q_{2m} + 1}\right) - (q_{2m} + 1)^{-1} - \chi_1(q_{2m} + 1)^{-2}}$$

$$M_c = \frac{1.7 \times 18[(6.80 + 1)^{-\frac{1}{3}} - \frac{1}{2}(6.80 + 1)^{-1}]}{\ln\left(\frac{1}{6.80 + 1}\right) - (6.80 + 1)^{-1} - 0.39(6.80 + 1)^{-2}} = 5208,623$$

$$\gamma = \frac{M_0}{M_c}$$

$M_0$  - молекулярный масса ГК; (1318257 Да)

$M_c$ - среднечисловая молекулярная масса активной цепи; (5208.623)

$\gamma$ = среднее число узлов сетки, приходящихся на одну макромолекулу.

$$\gamma = \frac{M_0}{M_c} = \frac{1318257}{5208.623} = 253.09$$

Таким образом, в результате исследований было найдено, что лимонную кислоту соль можно использовать в качестве сшивающего агента при модификации натриевой соли гиалуроновой кислоты. Таким образом можно получить нерастворимые в воде пленки, которые при набухании образуют гели. Полученные гидрогели могут быть использованы в качестве носителей лекарственных препаратов.

#### Список литературы:

1. Prestwich G.D., Marecak D.M. Патент США №5874417. Functionalized derivatives of hyaluronic acid.
2. Harrison K., Biopolymers. GlaxoSmithKline R&D, UK, 2007.
3. Shenoy V., Rosenblatt J. // Macromolecules. 1995. V. 28. N26.P. 8751-8758.
4. Lowman A.M., Peppas N.A. // Intelligent Materials for Controlled Release, Chapter 3. 1999. P. 30-42.
5. Shah C.B., Barnett S.M. // Journal of Applied Polymer Science. V. 45. №2.P.293-298.
6. Бекчанов Д.Ж., Сагдиев Н.Ж., Мухамедиев М.Г. Синтез и физико-химические свойства анионообменного сорбента на основе поливинилхлорида. // Universum: химия и биология. -2016. № 10 (28). С. 1-5.
7. Сигаева Н.Н., Колесов С.В., Назаров П.В., Вильданова Р.Р. Химическая модификация гиалуроновой кислоты и ее применение в медицине. Вестник Башкирского университета. 2012.Т.17.№3.
8. Радаева И.Ф., Костина Г.А. Способ получения гиалуроновой кислоты. Патент РФ №2102400 //Б.И. 1998.01.20.