

# ПОЛУЧЕНИЯ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ

*Ибрагимова Д.Ш.*

*Андижанский государственный медицинский институт  
ассистент кафедры медицинской химии*

**Абстракт:** Гиалуроновая кислота (ГК) является наиболее распространенным полимером, присутствующим в различных тканях и жидкостях позвоночных животных, а также у человека. Известно, что гиалуроновая кислота относится к классу гликозаминогликанов. В последнее время повышенное внимание уделяется извлечению ГК из тканей позвоночных животных или из бактерий, создающих защитную капсулу из полисахаридов. Но до сих пор ГК добывают в основном из петушиных гребней. Таким образом, основной целью данной исследовательской работы является выделение ГК из яичной скорлупы и ткани быка; проводить обзор полученных веществ с помощью ИК-анализа.

**Ключевые слова:** гиалуроновая кислота.

**Abstract:** Hyaluronic acid (HA) is the most abundant polymer found in various tissues and fluids of vertebrates, as well as humans. It is known that hyaluronic acid belongs to the class of glycosaminoglycans. Recently, increased attention has been paid to the extraction of HA from the tissues of vertebrates or from bacteria that form a protective capsule of polysaccharides. But until now, HA is extracted mainly from cockscombs. Thus, the main goal of this research work is the isolation of HA from eggshell and bovine tissue; review the obtained substances using IR analysis.

**Keywords:** hyaluronic acid.

Гиалуроновая кислота представляет собой природный полисахарид-гликозаминогликан типа (-GlcNAc-GlcUA-)n, где GlcNAc представляет собой N-ацетил-D-глюкозамин, а GlcUA представляет собой D-глюкуроновую

кислоту. Этот полимер входит в состав различных соединительных тканей и всегда связан с белком.

В последние несколько десятилетий растет число публикаций о роли гиалуроновой кислоты в оплодотворении (в прямой связи с развитием многочисленных программ экстракорпорального оплодотворения), делении и миграции клеток, ангиогенезе, заживлении ран и регенерации тканей. На сегодняшний день известно, что ГК активно участвует в регуляции клеточного деления, миграции, дифференцировки и регенерации тканей и органов на всех этапах развития организма или онтогенеза<sup>1</sup>.

ГК участвует в процессе адаптации клетки к физическим и химическим воздействиям, процессе оплодотворения, эмбриогенезе, ангиогенезе, воспалении, регенерации и росте опухоли.<sup>2</sup> Он может проявлять аддитивные, синергетические и антагонистические свойства с родственными сульфатированными полисахаридами и между гиалуроновыми олигосахаридами с различной молекулярной массой. Гиалуроновая кислота и ее соли были извлечены из таких источников, как петушиный гребень, стекловидное тело и пуповины. Также известно, что он существует в стрептококках группы А и С, которые идеально подходят для биосинтеза ГК из-за обильной доступности ГК и поскольку в этом организме ГК является единственным полимером, в который включена глюкуроновая кислота.<sup>3</sup>

## **2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**

### **2.1 Экстракция ГК из бычьей ткани**

Экстракция ГК из бычьей ткани включает следующие стадии. Измельченные ткани животных обрабатывали 95%-ным этанолом, денатурировали хлороформом в течение 24 часов. Обработку повторяли несколько раз, пока раствор не оставался бесцветным и прозрачным. Затем ГК экстрагировали смесью воды и хлороформа 20:1. Смесью перемешивали и оставляли без перемешивания на 24 ч при 4–25°C, фильтровали и дважды повторяли экстракцию. К объединенным экстрактам добавляли водный раствор хлорида натрия и хлороформ, 1:1, и смесь перемешивали в течение 3–5 ч при 4–

25°C. Затем смесь выдерживали до разделения полных фракций и выделения органической фракции. Водную фракцию обрабатывали соляной кислотой до pH 4–5 и снова добавляли равный объем хлороформа. Процедуру повторяли до тех пор, пока слой хлороформа не становился прозрачным. Значение pH раствора гиалуроновой кислоты доводили до 4,0-5,0 добавлением HCl. Наконец, к раствору добавляли этанол в соотношении 3:1, при этом на дне колбы образовывался белый осадок ГК.

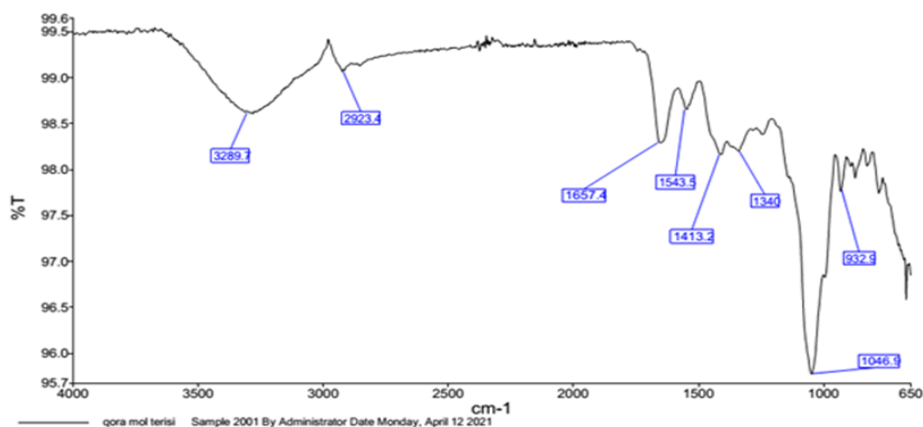
### **2.3 Экстракция ГК из яичной скорлупы с помощью физиологическим раствором.**

Сначала яичную скорлупу отделяли от белковой оболочки и тщательно измельчали на электрической мельнице IKA-WERKE M20. К измельченной яичной скорлупе добавляли 0,9% солевой раствор в соотношении 3:1 соответственно и доводили до кипения при 40-45°C, после чего отделяли экстракт. Процесс экстракции повторяют два раза, и яичную скорлупу выбрасывают. Затем экстракты объединяли и к водным экстрактам добавляли 4 объема этанола. Осадок центрифугировали. Конечный продукт сушили лиофилизацией.

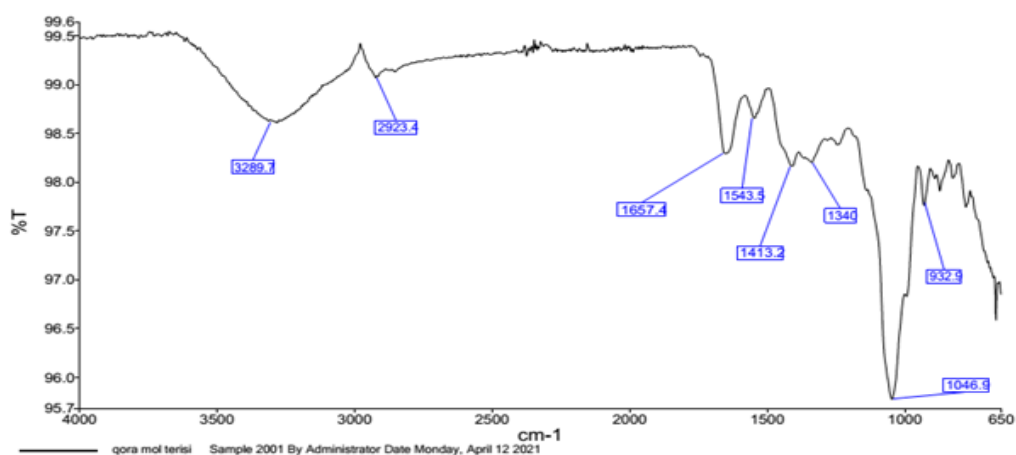
## **3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Мы использовали Фурье-спектрометр BRUKER (4000-450 см<sup>-1</sup>), анализ полного отражения FTIR проводили для характеристики функциональных групп и связей ГК из разных источников и сравнивали с инфракрасными спектрами (FT-IR) стандартной гиалуроновой кислоты. ИК-Фурье. ИК-спектры ГК бычьей ткани и яичной скорлупы приведены ниже (рисунок-1 и рисунок-2):

***Рисунок 1. ИК-спектры ГК полученный из тканей крупного рогатого скота***



**Рисунок 2. ИК-спектры яичной скорлупы с использованием физиологического растворов**



**Таблица-1** Следующие результаты были получены при ИК-спектрах бычьей ткани.

№	ИК-спектры стандартного ГК	ИК спектры ГК полученный из яичной скорлупы	ИК спектры ГК полученный из ткани скота	Функциональные группы
1	3349 $\text{cm}^{-1}$	3289.7 $\text{cm}^{-1}$	3272.8 $\text{cm}^{-1}$	-ОН
2	2925 $\text{cm}^{-1}$	2923.4 $\text{cm}^{-1}$	2933.7 $\text{cm}^{-1}$	-С-Н
3	1638 $\text{cm}^{-1}$	1657.4 $\text{cm}^{-1}$	1539 $\text{cm}^{-1}$	амид II
4	1409 $\text{cm}^{-1}$	1413.2 $\text{cm}^{-1}$	1403.2 $\text{cm}^{-1}$	-N-Н
5	1023 $\text{cm}^{-1}$	1046.9 $\text{cm}^{-1}$	1078.8 $\text{cm}^{-1}$	-C-O-C

### **ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. J.P. Chen. Functionalized temperature-sensitive copolymer for tissue engineering of articular cartilage and meniscus, *Colloids and Surfaces A*. 313-314 (2008) 254-259.
2. H. Tan, et al., Thermoresponsive injectable hyaluronic acid hydrogel for adipose tissue engineering, *Biomaterials* 30 (36) (2009) 6844-6853.
3. Park, S.N.; Lee, H.J.; Lee, K.H. & Suh, H., Biological characterization of EDC cross-linked collagen-hyaluronic acid matrix in dermal tissue restoration, *Biomaterials*, Vol.24, (2003) 1631-1641.
4. Balazs, E.A. (1967) *Ber. Dtsch. Ophthalm. Ges.* 68, 536—572