

И. Е. ЭЛЬПИНЕР и С. М. БЫЧКОВ

## ДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН НА ГИАЛУРОНОВУЮ И ХОНДРОИТИН-СЕРНУЮ КИСЛОТЫ

(Представлено академиком А. И. Опарным 31 X 1951)

Ультразвуковые волны обладают окислительным, восстановительным и деполимеризующим действием (1, 2). Оно установлено в отношении ряда биологически активных веществ: белков, аминокислот (3), нуклеиновых кислот (4), порфириновых соединений (5) и др. В настоящем сообщении приводятся данные о деградации под действием ультразвука высокополимерных кислых мукополисахаридов — гиалуроновой и хондроитин-серной кислот.

В последние годы в значительной мере выяснилось физиологическое значение названных мукополисахаридов (6-9). Как известно, гиалуроновая и хондроитин-серная кислоты широко распространены в межтканевом веществе, тканях и жидкостях животных организмов. Наличие этих клеток обуславливает ряд важных функций тканей и клеток. В организме мукополисахариды находятся, по видимому, в полидисперсном состоянии.

Использованная в этой работе гиалуроновая кислота выделялась из пупочного канатика человека по видоизмененной одним из нас (С. М. Бычков) прописи Мейера и Пальмера (10). Полученная калиевая соль указанной кислоты содержала 3,2% азота и 35% гексозамина. Препарат этот до его гидролиза не обладал восстановительной способностью.

По видоизмененной прописи Мейера и Смита (11) была изолирована из хрящевых колец трахеи быка в виде кальциевой соли хондроитин-серная кислота. Этот препарат содержал 3% азота и 27% гексозамина и обладал незначительной восстановительной способностью до гидролиза: 1 мл 0,4% раствора давал 0,5 мг редуцирующих веществ в пересчете на глюкозу.

Соли полисахаридных кислот растворялись в дистиллированной воде. Для озвучивания использовались 0,1% раствор гиалуроновой кислоты и 0,4% раствор хондроитин-серной кислоты. Озвучивание производилось при частоте генератора ультразвуковых волн в 500 000 гц; подводимая мощность ~ 5 вт/см<sup>2</sup>. Озвучивание осуществлялось в стеклянных колбах. Колбы с содержимым погружались в так называемый ультразвуковой фонтан, что сопровождалось бурным перемешиванием озвучиваемого раствора.

В данной работе определялась до и после озвучивания относительная вязкость растворов, производились качественные пробы на N-ацетилгексозамины (12) и гексозамины (13), а также проверялась восстановительная способность изучаемых растворов по Хагедорну — Иенсену. Разумеется, в последнем случае исключалась обработка гидроокисью цинка, поскольку в растворах отсутствовали белки.

Относительная вязкость растворов измерялась в вискозиметре Ост-вальда при атмосферном давлении и постоянной температуре водяного термостата (20°).

Как видно из рис. 1, относительная вязкость исследованных мукополисахаридов снижается уже после первых минут озвучивания. При дальнейшем воздействии ультразвуковыми волнами относительная вязкость продолжает непрерывно снижаться, а после 25—30-минутной экспозиции она достигает своего предела, приближаясь почти к вязкости воды. Снижение вязкости мукополисахаридов при данном воздействии носит стойкий характер. При стоянии вязкость не возвращается к прежним значениям, что исключает возможный тиксотропный эффект; снижение вязкости в этих случаях, вероятнее всего, обусловлено явлением деполимеризации озвучиваемых мукополисахаридов.

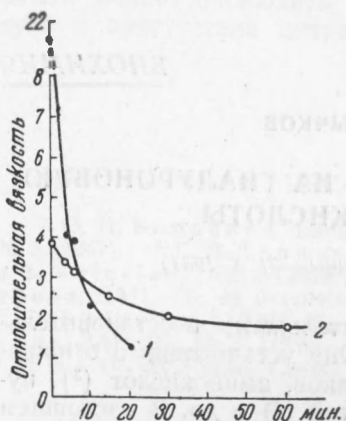


Рис. 1. Зависимость относительной вязкости водных растворов гиалуроновой и хондроитин-серной кислот от продолжительности озвучивания. 1 — 0,1% раствор гиалуроновой кислоты, 2 — 0,4% раствор хондроитин-серной кислоты. Частота ультразвуковых волн 500 000 гц, мощность ~ 5 вт/см<sup>2</sup>

Из приведенных в табл. 1 данных видно, что с увеличением продолжительности озвучивания постепенно нарастает интенсивность цветной реакции на N-ацетилгексозамин. При 2-часовой экспозиции ультразвука указанная реакция становится весьма интенсивной. Воздействие ультразвука на хондроитин-серную кислоту также сопровождается появлением положительной реакции на N-ацетилгексозамин. Однако усиление интенсивности данной реакции происходит медленнее, чем с гиалуроновой кислотой. Только после 3-часового озвучивания хондроитин-серной кислоты интенсивность этой реакции становится значительной.

Таблица 1

Реакция на N-ацетилгексозамины в озвученных растворах гиалуроновой и хондроитин-серной кислот

Вещество	До озвучивания	Продолжительность озвучивания в минутах									
		2-4	6-10	15	20	30	45	60	80	120	180
Гиалуроновая кислота	—	—	±		+	++				++++	
Хондроитин-серная кислота	—	±	±	±	±	+	+	+	+		+++

Примечание. Отсутствие знака означает, что при данной экспозиции определения не производились.

Реакция на неацетилированные гексозамины во всех исследованных случаях была отрицательной.

Результаты исследования восстановительной способности озвученных растворов представлены на рис. 2. Как видно из этого рисунка, при озвучивании раствора гиалуроновой кислоты сначала происходит медленное увеличение концентрации редуцирующих веществ, а затем,

с увеличением времени воздействия, наступает резкий подъем, сменяющийся более медленным увеличением количества этих продуктов. Аналогичный характер кривой накопления восстанавливающих веществ был установлен при озвучивании раствора хондроитин-серной кислоты.

Представляет интерес, что при воздействии ультразвуком на гиалуроновую кислоту в течение 2,5 час. образуются восстанавливающие вещества в количестве, соответствующем 70% тех же веществ, возникающих при кислотном гидролизе названной кислоты. При том же воздействии на хондроитин-серную кислоту количество восстанавливающих веществ не превышает 20% редуцирующих продуктов, освобождающихся при обычном кислотном гидролизе.

Создается впечатление, что хондроитин-серная кислота более устойчива по отношению к ультразвуковым волнам, чем гиалуроновая кислота. Это совпадает с тем фактом, что кислотное гидролитическое расщепление хондроитин-серной кислоты протекает медленнее, чем кислотный гидролитический распад гиалуроновой кислоты. Однако возможно, что при воздействии ультразвука на исследуемые полисахаридные кислоты образование восстанавливающих веществ происходит не только за счет разрыва связей между остатками гексозаминов и глюкуроновой кислоты, но может быть обусловлено дальнейшим разрушением появляющихся в озвучиваемом растворе гексозаминов и глюкуроновой кислоты.

Приведенные выше данные позволяют сделать вывод, что при воздействии ультразвуковых волн на гиалуроновую и хондроитин-серную кислоты происходит разрыв гликозидных связей между остатками N-ацетилгексозаминов и глюкуроновой кислоты.

Имеются указания<sup>(8)</sup> на существование в молекуле гиалуроновой кислоты связей между остатками N-ацетилгексозамина и глюкуроновой кислоты, отличающихся от гликозидной связи. Эти связи в молекуле гиалуроновой кислоты создают такие группировки, которые, будучи освобождены гиалуронидазой, могут непосредственно, без предварительного нагревания с содой, образовать окрашенное соединение с парадиметиламинобензальдегидом. Следует отметить, что при воздействии ультразвуковыми волнами на растворы гиалуроновой кислоты, так же как и на растворы хондроитин-серной кислоты, нам не удалось наблюдать образования окрашенного соединения с парадиметиламинобензальдегидом без предварительной обработки содой. На основании этих наблюдений можно высказать предположение, что распад гиалуроновой и, вероятно, хондроитин-серной кислот под влиянием ультразвуковых волн осуществляется несколько иным путем, чем при соответствующем их ферментативном расщеплении.

Итак, под влиянием ультраакустических колебаний происходит не только деполимеризация гиалуроновой и хондроитин-серной кислот. Распад этих веществ сопровождается также образованием продуктов, обладающих редуцирующими свойствами. Напомним, что распад веществ при озвучивании в большинстве случаев обусловлен, вероятно всего, появлением в растворе продуктов расщепления молекул воды (ОН, НО<sub>2</sub>, Н и др.), отличающихся большей реакционной способностью<sup>(14)</sup>. Естественно, что характер взаимодействия перечисленных

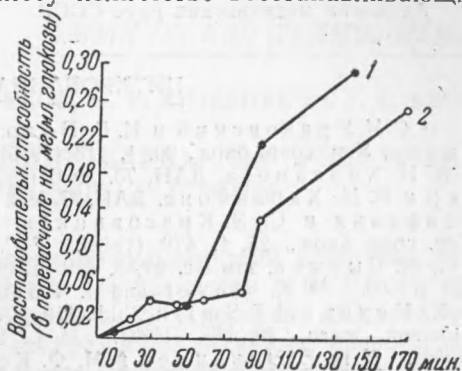


Рис. 2. Нарастание восстановительной способности гиалуроновой (1) и хондроитин-серной (2) кислот в зависимости от продолжительности озвучивания.

свободных радикалов с изученными полисахаридными кислотами будет в значительной степени зависеть от структуры и строения последних. Этим, возможно, объясняется несколько отличное поведение в поле ультразвуковых волн гиалуроновой и хондроитин-серной кислот.

Изложенные в настоящем сообщении результаты исследования должны быть учтены при суждении о механизме биологического действия ультразвуковых волн.

Лаборатория биохимии рака  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
26 X 1951

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> С. И. Уразовский и И. Г. Полоцкий, Усп. хим., **8**, 885 (1940). <sup>2</sup> И. Е. Эльпинер, Усп. совр. биол., **30**, 1, 113 (1950). <sup>3</sup> И. Е. Эльпинер, И. Б. Збарский и В. Н. Харламова, ДАН, **73**, № 6 (1950). <sup>4</sup> И. Б. Збарский, И. Е. Эльпинер и В. Н. Харламова, ДАН, **77**, № 3 (1951). <sup>5</sup> И. Е. Эльпинер, Л. А. Блюменфельд и С. Э. Красовицкая, ДАН, **79**, № 3 (1951). <sup>6</sup> С. М. Бычков, Усп. совр. биол., **25**, 1, 479 (1948). <sup>7</sup> С. М. Бычков, там же, **27**, 2, 297 (1949). <sup>8</sup> С. М. Бычков, там же, **27**, 3, 479 (1949). <sup>9</sup> С. М. Бычков, Усп. биол. хим., **1**, 456 (1950). <sup>10</sup> K. Meyer and I. Palmer, Journ. Biol. Chem., **114**, 689 (1936). <sup>11</sup> K. Meyer and E. Smith, *ibid.*, **119**, 507 (1937). <sup>12</sup> W. Morgan and L. Elson, Biochem. Journ., **28**, 988 (1934). <sup>13</sup> L. Elson and W. Morgan, *ibid.*, **27**, 1824, (1933). <sup>14</sup> И. Е. Эльпинер и М. Ф. Колесникова, ДАН, **75**, № 6 (1950).