

М. Ш. МОГИЛЕВСКИЙ и И. С. КЛЮЧАРЕВА

## ВЛИЯНИЕ МЕХАНИЧЕСКОГО РАЗДРОБЛЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И АГАР-АГАРА НА ИХ СВОЙСТВА

(Представлено академиком А. И. Опариным 3 V 1952)

При изучении свойств гиалуроновой кислоты мы иногда пользовались препаратами полисахарида, растертыми до порошкообразного состояния, при котором утрачивалось обычное волокнистое строение его, напоминающее асбест.

Растворяя гиалуронаты в волокнистом состоянии и в растертом, порошкообразном виде, мы сделали наблюдение, что раздробление препаратов гиалуроната в ступке ведет к значительной потере ими наиболее характерных свойств — вязкости и муцинообразующей способности. Этот факт представляет интерес, так как он является, по видимому, результатом деполимеризации гиалуроната при механическом воздействии.

Отмеченное наблюдение имеет, кроме того, и практическое значение в связи с тем, что растворы гиалуроновой кислоты служат субстратом для определения энзиматической активности гиалуронидаз. Об активности последних судят по понижению вязкости и муцинообразующей способности растворов гиалуроната.

Задачу настоящей работы составило изучение влияния механического раздробления препаратов гиалуроната, а также и агар-агара на их свойства.

Препараты гиалуроната натрия выделялись из пупочных канатиков человека по методу Мак-Клина, Роджерса и Виллиамса (1). Общий азот препаратов составлял 3,2—4,5%. Они хорошо растворялись в воде.

Опыты ставились следующим образом. Одна из двух одинаковых навесок волокнистого препарата растворялась в определенном объеме воды, другая же до растворения растиралась в агатовой ступке в присутствии небольшого количества воды (0,5—1,5 мл) пестиком, нагруженным свинцовым грузом в 6100 г. К растертому препарату добавлялась вода до требуемого объема. Полученные растворы исследовались на вязкость и метахроматическую способность. Растворы гиалуроната исследовались, кроме того, на муцинообразующую способность и структурную вязкость.

Продолжительность раздробления препаратов гиалуроната в большинстве опытов варьировала от 5 до 15 мин. Для исключения влияния нагревания раздробление препаратов производилось в охлажденных ступках. Если раздробление длилось более 7—8 мин., оно прерывалось для повторного охлаждения ступки.

Результаты опытов суммированы в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что раздробление препаратов гиалуроната приводит к образованию ими растворов с низкой вязкостью, большей частью лишенных способности давать муциноподобные сгустки с белком при подкислении. Так, например, в опыте 3 раствор волокнистого препарата

## Влияние механического раздробления гиалуроната и агар-агара на их свойства

Исходный препарат	Продолжит. ра-стирания в мин.	Концен-трация в %	Муцино-образующ. способ-ность	Относит. вязкость	Аномалия вязкости (относит. %)
Гиалуронат кл-1 волокнист. . . . .	0	0,06	+	5,78	
" " растертый . . . . .	15	0,06	—	3,30	
Гиалуронат 17 волокнист. . . . .	0	0,065	+	5,65	
" " растертый . . . . .	12	0,065	+	3,10	
Гиалуронат гл волокнист. . . . .	0	0,14	+	17,0	
" " растертый . . . . .	15	0,14	—	4,0	
Гиалуронат 12 волокнист. . . . .	0	0,02	+	2,31	
" " растертый . . . . .	5	0,02	—	1,42	
Гиалуронат К-9 волокнист. . . . .	0	0,2	+	63,0	323,5
" " растертый . . . . .	30	0,2	—	3,4	1,03
Гиалуронат К-5 волокнист. . . . .	0	0,1	+	9,3	79,5
" " растертый . . . . .	30	0,1	—	1,58	4,3
Агар-агар 100 неизмельчен. . . . .	0	0,2		5,23	
" 100 измельчен. . . . .	90	0,2		3,70	
Агар-агар 101 неизмельчен. . . . .	0	0,1		2,0	
" 101 измельчен. . . . .	90	—		1,54	

гл имел относительную вязкость 17,0, в то время как раствор того же, но измельченного препарата, в той же концентрации, имел относительную вязкость 4,0, т. е. на 76,5% ниже вязкости раствора исходного препарата, и был лишен муцинообразующей способности. Аналогичные результаты были получены и в других опытах.

Табл. 1 показывает также резкое падение структурной вязкости в растворах полисахарида, образованных раздробленными препаратами гиалуроната. Так, если структурную вязкость раствора, образованного волокнистым препаратом К-9 (323,5), принять за 100%, то после раздробления он образовал раствор, структурная вязкость которого составляла лишь 0,3% (т. е. 1,03).

Необходимо отметить, что вязкость растворов гиалуроната, образованных раздробленными препаратами, не повышалась по мере хранения их, что свидетельствует о необратимости структурных изменений молекул полисахарида, наступивших при этом воздействии.

Представлялось интересным исследовать в этом отношении и другие полисахариды. Для этой цели мы взяли агар-агар.

Из табл. 1 видно, что свойства этого полисахарида также изменяются под влиянием механического воздействия. Так, в опыте № 7 0,2% раствор неизмельченного агар-агара (№ 100) имел относительную вязкость 5,23, а тот же препарат после раздробления его в ступке, взятый в такой же концентрации, образовал раствор с относительной вязкостью 3,70 (падение вязкости на 29,2%).

Мы исследовали также метахроматическую способность раздробленных препаратов обоих полисахаридов. Для опытов применяли тиазиновые красители — тионин и толуидиновый синий. Результаты опытов показали, что растворы, приготовленные из раздробленных препаратов гиалуроната, либо вовсе утрачивали способность окрашиваться метахроматически, либо обладали ею в слабой степени.

Растворы измельченных препаратов агар-агара обнаруживали те же явления.

Тот факт, что растворы, образованные волокнистыми и растертыми препаратами, резко отличались между собой по своим характерным свойствам при равных концентрациях полисахаридов в них, дает основание

полагать, что как муцинообразующая способность гиалуроната, так и способность гиалуроната и агар-агара окрашиваться метахроматически и образовывать высоковязкие растворы зависят в большей степени от структурных особенностей исходных препаратов, чем от концентрации их в растворе.

Параллелизм, существующий между двумя явлениями — деполимеризацией гиалуроната и утратой им метахроматической и муцинообразующей способности, наблюдался нами и при других воздействиях на растворы гиалуроната: после добавления к ним электролитов и после облучения их ультрафиолетом (2, 3).

Изменения свойств, получаемые при механическом воздействии на сухие волокнистые препараты гиалуроната, не имеют места при подобной обработке растворов этого полисахарида. Так, встряхивание растворов гиалуроната, образованных нативными препаратами, в течение продолжительного времени (вручную 50 мин. и на шюттель-аппарате 3 часа) не ведет к понижению вязкости их.

Механическое раздробление препаратов гиалуроната и агар-агара ведет, повидимому, к разрыву длинных цепей этих полимеров и образованию коротких цепочек с менее выраженной асимметрией.

При пользовании гиалуриновой кислотой как субстратом для определения активности гиалуронидаз следует избегать механического раздробления препаратов этого полисахарида.

Определения структурной вязкости растворов гиалуроната были выполнены в физико-химической лаборатории Ленинградского института переливания крови под руководством проф. А. П. Вишнякова по методу, принятому в упомянутой лаборатории (4). Считаю своим приятным долгом выразить здесь благодарность проф. А. П. Вишнякову.

Научно-исследовательский институт  
эпидемиологии и микробиологии  
им. Пастера

Поступило  
5 III 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> D. McClean, H. J. Rogers and B. W. Williams, *Lancet*, 1, 355 (1943).  
<sup>2</sup> М. Могилевский и Л. Коган, *Биохимия*, 13, № 5, 417 (1948). <sup>3</sup> М. Ш. Могилевский и А. Л. Лауфер, *ДАН*, 76, № 2, 239 (1951). <sup>4</sup> А. П. Вишняков. Диссерт., I Лен. мед. ин-т, 1946.