

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.12.2019.К/В.37/01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

МУЙДИНОВ НУРИЛЛО ТЎХТАРОВИЧ

**КОЛЛАГЕН ВА КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗА АСОСИДА
БИТИШМА ЖАРАЁНИГА ҚАРШИ КОМПОЗИЦИЯ ЯРАТИШ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

**КИМЁ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2020

**Кимё фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси
автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
по химическим наукам
Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)
on chemical sciences**

Мўйдинов Нурилло Тўхтарович

Коллаген ва карбоксиметилцеллюлоза асосида битишма жараёнига қарши
композиция яратиш..... 3

Муйдинов Нурилло Тухтарович

Создание противоспаечных композиций на основе коллагена и
карбоксиметилцеллюлозы..... 21

Muydinov Nurillo Tuhtarovich

Creation of anti adhesion compositions based on collagen and
carboxymethylcellulose..... 38

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works..... 41

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.12.2019.К/В.37/01 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

МУЙДИНОВ НУРИЛЛО ТЎХТАРОВИЧ

**КОЛЛАГЕН ВА КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗА АСОСИДА
БИТИШМА ЖАРАЁНИГА ҚАРШИ КОМПОЗИЦИЯ ЯРАТИШ**

02.00.10 – Биоорганик кимё

**КИМЁ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2020

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2017.3.PhD/К71 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Биоорганик кимё институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (Ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси (www.biochem.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот таълим тармоғида (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:	Тураев Аббосхан Собирханович кимё фанлари доктори, академик
Расмий оппонентлар:	Бобоев Бахром Нуруллаевич кимё фанлари доктори, профессор Тулаганов Абдуқодир Абдурахмонович фармацевтика фанлари доктори, профессор
Етакчи ташкилот:	Тошкент кимё-технология институти

Диссертация ҳимояси Биоорганик кимё институти ҳузуридаги DSc.02/30.12.2019.К/В.37/01 рақамли Илмий кенгашнинг 2020 йил «___» _____ соат ___ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63).

Диссертация билан Биоорганик кимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (___ рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83.Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: shsha2mail.ru).

Диссертация автореферати 2020 йил «___» _____ да тарқатилди.
(2020 йил _____ даги ___ рақамли реестр баённомаси)

Ш.И.Салихов
Илмий даражалар берувчи
илмий кенгаш раиси, б.ф.д., академик

Ш.А.Шомуротов
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби к.ф.д.

М.Б.Гофуров
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
қошидаги илмий семинар раиси, к.ф.д.

КИРИШ (Фалсафа доктори (PhD) диссертация аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда табиий ўсимлик ва ҳайвонот хом ашёлари асосида турли дори препаратлари ва тиббий воситалар ишлаб чиқариш муҳим амалий аҳамият касб этади. Чунки бундай хом ашёлар асосида олинган воситалар синтетик воситаларга нисбатан кам захарлилиги, биомосланувчанлиги, сўрилувчанлиги ва жароҳат битказувчи хусусияти юқори бўлади. Сўнгги йилларда ҳайвон хом ашёсидан ажратиб олинган коллаген асосида тиббиёт, фармацевтика ва косметология учун воситалар олиш бўйича тадқиқотлар ривожланмоқда. Бу, коллаген асосида олинган воситаларнинг юқори биомосланувчанлиги, организмда сўрилувчанлиги, аллергия чақирмаслиги, ножўя таъсирининг камлиги ва терапевтик самарадорлигига боғлиқ.

Бугунги кунда дунёда тери саноати чиқиндиларидан табиий тузилишини сақлаган коллаген ажратиб олиш, унинг хусусиятларини тадқиқ этиш, коллаген ва полисахаридлар асосида композициялар олиш ҳамда улар асосида янги тиббий воситалар яратиш бўйича тадқиқотлар олиб борилмоқда. Жумладан, тиббиёт амалиётида коллаген ва полисахаридлар асосида олинган турли тиббий воситалар (КолГара, Мезогел, Seprafilm ва бошқ.) қўлланилмоқда. Тадқиқотлар табиий биополимерлар асосида юқори самарали ва тиббий талабларга жавоб берувчи воситалар яратишга йўналтирилган. Хусусан, тери хом ашёсидан табиий тузилишини сақлаган коллаген ажратиб олиш, шунингдек, белгиланган хоссаларга эга композициялар олиш мақсадида уни полисахаридлар билан модификациялаш орқали улар асосида жарроҳлик амалиёти учун юқори самарадор, ножўя таъсири кам воситалар яратиш бўйича тадқиқотлар олиб борилмоқда.

Мамлакатимизда табиий хом ашёлар асосида юқори самарали тиббий воситалар яратиш ва уларни амалиётга жорий қилиш бўйича тадқиқотлар олиб бориш ва бунда инновацион ютуқлардан фойдаланишга алоҳида эътибор берилмоқда. Мазкур йўналишда амалга оширилган дастурий чора-тадбирлар асосида, аниқ натижаларга, жумладан, янгича ёндошувга асосланган, юқори самарадор дори воситалари ишлаб чиқаришнинг илмий асосларини яратишга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида (4-йўналиш) «Фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларининг арзон, сифатли дори воситалари билан таъминланишини яхшилаш» вазифалари белгилаб берилган¹. Бу борада белгиланган вазифаларни амалга оширишда коллаген асосида жарроҳлик амалиёти учун битишма ва яраларни даволаш хоссаларига эга бўлган, кам захарли янги тиббий воситаларни олиш муҳим аҳамият касб

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси» тўғрисидаги Фармони

этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегиясида», Президентнинг 2017 йил 7 ноябрдаги ПФ-5229-сон «Фармацевтика соҳасини бошқариш тизимини тубдан такомиллаштириш чоралари» фармонларида, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3552-сон «Фармацевтика соҳасини тезкор ривожлантиришнинг қўшимча чоралари» қарорларида ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Хорижий олимлар томонидан, қорамол терисидан коллаген ажратиб олиш, уни полисахаридлар билан модификациялаб тиббиёт ва фармацевтикада фойдаланиш учун препаратлар яратиш борасида тизимли тадқиқотлар олиб борилган. Жумладан, А.И. Сапожникова, М.П. Васильев, Л.П. Истранов, Л.В. Кухарева, С.А. Батечко, И.В. Кис, А.Н. Иванкин, И.А. Голотова, И.С. Шестаков, В.И. Чурсин, Л.В. Антипова, А.Н. Коновалов, М. Kurayanagi, А. Yamamoto, M.J. Albu ва Zhe Wangлар томонидан коллаген ажратиб олиш ва унинг асосида биополимер композициялар ишлаб чиқиш ҳамда уларнинг биологик фаолликларини ўрганиш бўйича илмий изланишлар олиб борилган.

Республикамизда мазкур йўналишда акад. А.С. Тураев, проф. А.А. Саримсоқовлар илмий тадқиқотлар олиб бориб, ижобий натижаларга эришишган. Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси Биоорганик кимё институтида қорамол терисидан табиий тузилишини сақлаган коллаген ажратиб олиш ва уни модификациялаш йўли билан белгиланган тиббий-биологик хоссаларга эга жарроҳлик буюмларини яратиш бўйича тизимли тадқиқотлар олиб борилмоқда. Бунда, асосий эътибор қорамол териси хом ашёсидан табиий уч спирал тузилишини сақлаган коллаген ажратиб олиш ва унинг полисахаридлар билан композицияси асосида биологик фаол тиббий воситалар яратишга қаратилган.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим ёки илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг И-ФА-2017-6-1 «Коллаген асосида «Биоплант» инъекцион препаратини ишлаб чиқаришни ташкил этиш» (2018-2019 йй.) мавзусидаги инновацион лойиҳаси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади коллаген ва полисахарид композициялари

асосида жарроҳлик плёнка воситаларини олиш ва уларнинг биологик фаоллигини аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

қорамол терисидан иккинчи ишқорий-тузли гидролизлаш усулида уч спирал тузилишини сақлаган коллаген сувли массасини ажратиб олиш ва унинг физик-кимёвий кўрсаткичларини аниқлаш;

табiiй коллаген сувли массаси ва полисахаридлар (Na-КМЦ, пектин) асосида композициялар олиш ҳамда уларнинг физик-кимёвий кўрсаткичларини аниқлаш;

табiiй коллаген ва полисахаридлар (Na-КМЦ, пектин) композициялари асосида плёнка намуналарини олишнинг мақбул шароитларини аниқлаш, уларнинг физик-кимёвий ҳамда механик хоссаларини ўрганиш;

плёнка намуналарининг фармако-токсикологик хусусиятларини ҳамда битишмада, куйганга қарши ва юз-жағ жарроҳлигидаги биологик фаоллигини ўрганиш;

табiiй коллаген ва полисахаридлар (Na-КМЦ, пектин) асосида олинган плёнкаларнинг меъёрий техник ҳужжатларини тайёрлаш.

Тадқиқотнинг объекти қорамол терисидан ажратиб олинган коллаген сувли массаси, Na-КМЦ (ПД 530, АД 85), цитрус пектини (–ОСН₃ гуруҳи миқдори 65%), глицерин, коллаген/Na-КМЦ ва коллаген/пектин композициялари, улар асосида олинган плёнкалар.

Тадқиқотнинг предмети қорамол терисидан ишқорий-тузли гидролизлаш усулида коллаген сувли массасини олиш, коллаген сувли массаси ва полисахаридлар (Na-КМЦ, пектин) асосида композициялар олиш, коллагеннинг сувли масса ва композициялар таркибида табiiй тузилишининг ўзгариши, эритмалар қовушқоқлиги, молекуляр катталиклари, морфологик тузилиш ҳамда биологик (битишмага, куйганга қарши ва юз-жағ жарроҳлиги) фаоллигининг тадқиқоти ташкил этади.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқот ишида кимёвий усуллар (ишқорий-тузли гидролизлаш, экстракциялаш, модификациялаш ва бошқ.), бирикмаларнинг кимёвий тузилишларини аниқлашда физик-кимёвий усуллар (ИК-спектроскопия, хроматография, электрофорез, реология, вискозиметрия, электрон микроскопия, ТГ, ДСК), биологик ва фармако-токсикологик тадқиқот усуллари қўлланилган.

Диссертация тадқиқотнинг илмий янгилиги куйидагилардан иборат:

қорамол терисидан ишқорий-тузли гидролизлаш усулида уч спирал тузилишини сақлаган коллаген ажратиб олишнинг мақбул гидролиз шароитлари аниқланган;

коллаген ва полисахаридлар (Na-КМЦ, пектин) асосида олинган композицияларни глицерин билан пластификациялаб, биологик фаол плёнкалар олинган;

коллаген ва полисахаридлар асосида олинган плёнкаларни жарроҳлик амалиётидан сўнг тўқималарнинг бирикишини олдини олувчи тўсиқ восита

сифатида қўллаш мумкинлиги аниқланган;

коллаген, Na-КМЦ ва глицерин асосидаги композицияга хлоргексидин антисептик препаратини қўшиш орқали яра битказувчи плёнка олинган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

қорамол терисидан табиий уч спирал тузилишини сақлаган коллаген ажратиб олиш усули ишлаб чиқилган;

коллаген ва полисахаридлар асосидаги композицияларни глицерин билан пластификациялаш орқали олинган плёнкаларнинг жарроҳлик амалиётидан кейин тўқималарнинг бирикиб қолишини олдини олишда, куйганга ва юз-жағ жарроҳлигида қўлланилувчи потенциал объектлиги аниқланган;

жарроҳлик амалиётидан кейин тўқималарнинг бирикиб қолишини олдини олишда қўлланиладиган коллаген, Na-КМЦ ва глицерин асосида олинган «КолКацел» плёнкаси учун меъёрий техник ҳужжатлари тайёрланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончилиги уларнинг замонавий физик-кимёвий тадқиқот усуллари қўллаш орқали олинганлиги билан тасдиқланади. Олинган маълумотларни статистик қайта ишлаш Стюдент критерияси ёрдамида ўртача қийматнинг ишончилиқ интервали оралик қийматларини ҳисоблаган ҳолда олиб борилди. Олинган натижаларнинг исботи мутахассисларнинг эксперт баҳолари, тадқиқот натижаларининг амалга оширилиши, уларнинг республика ва халқаро конференциялардаги муҳокамаси бўлиб, натижаларнинг рецензияланган илмий нашрларда чоп этилиши ва патент олинishi билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти коллаген сувли массаси ва полисахаридлар (Na-КМЦ ва пектин) асосида плёнка олиш усули таклиф қилинганлиги, органик эритувчиларсиз нейтрал муҳитда композиция олиш усуллари аниқланганлиги, плёнка таркибида коллагеннинг табиий тузилишини сақлаб қолиши аниқланганлиги, олинган плёнка намуналарининг жарроҳлик амалиётидан кейинги битишмаларни олдини олиши, куйиш жароҳатларини даволаш ва юз-жағ нуқсонларини бартараф қилиш хусусиятлари аниқланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, коллагеннинг сувли массасини ажратиб олиш усулидан фойдаланиб, унинг полисахаридлар билан композициялари асосида плёнка олиш усули аниқланди. Таклиф қилинган усуллар ҳамда аниқланган механизмлардан коллаген асосида суртма, гел ва плёнка кўринишидаги воситалар яратишда фойдаланиш мумкин. Тадқиқот натижалари коллаген асосида жарроҳлик амалиётидан кейинги битишмаларни олдини олувчи, куйиш жароҳатларини даволовчи ва юз-жағ нуқсонларини бартараф этувчи хусусиятларига эга восита яратилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Коллаген ва полисахаридлар (Na-КМЦ ва пектин) композициялари асосида олинган

плёнкалар ва уларнинг битишмага, куйганга ва юз-жағ жаррохлигида биологик фаолликларини тадқиқ қилиш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

терини ишқорий-тузли гидролизлаш, нейтраллаш, буферли экстракциялаш, иккинчи марта 60-120 дақиқа давомида гидролизлаш каби жараёнлари бўйича олинган натижалардан ФА-И11-Т010 рақамли «Коллаген асосида “ТЕМОГУБКА” гемостатик қопламасини ишлаб чиқаришни ташкил этиш» лойиҳасида қорамол терисидан ишқорий-тузли гидролизидан табиий структурасини сақлаган коллаген олишда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2020 йил 4 июндаги 4/1255-1150-сон маълумотномаси). Натижада коллагеннинг сувли массали субстанциясидан “ТЕМОГУБКА” гемостатик қопламасини олиш имконини берган;

коллаген ва полисахаридлар асосида олинган композициялардан Хитой Фанлар академияси Синьцзян физика ва кимё-техника институтининг “International Science and Technology Center Projects” лойиҳасида полисахаридлар асосида композициялар олишда фойдаланилган (Хитой Фанлар академияси Синьцзян физика ва кимё-техника институтининг маълумотномаси). Натижада полисахаридлар асосида янги биологик фаол композициялар олиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 3 та ҳалқаро ва 4 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 15 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 5 та мақола, жумладан, 5 таси Республика журналларида нашр этилган, шунингдек, 1 та патент олинган ва 2 та патент ихтироси учун талабнома топширилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 97 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурийлиги асослаб берилган, мақсад ва вазифалар, шунингдек тадқиқотнинг объект ва предмети ифодаланган, тадқиқотнинг Ўзбекистон Республикасида фан ва технологиялари ривожлантириш йўналишига мувофиқлиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг ишончлилиги асосланган, натижаларини амалиётга жорий этиш, чоп этилган ишлар ва диссертациянинг тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Коллаген таркиби ва тузилиши, ажратиб олиш усуллари, коллаген ва полисахаридлар асосида композициялар олиш, уларнинг биологик фаолликлари бўйича замонавий тадқиқотлар**» деб номланган биринчи бобида диссертация мавзуси бўйича илмий тадқиқотлар ва муаммонинг ўрганилганлик даражаси батафсил таҳлил қилинган, коллаген таркиби ва тузилиши, коллагеннинг ажратиб олиниши, коллагеннинг тиббиётда ишлатилиши, коллаген ва полисахаридлар асосида биоматериалларнинг олиниши, битишма ҳосил бўлиш механизмлари, куйганга қарши коллаген асосида олинган препаратлар, коллаген ва полисахаридлар асосида олинган плёнкаларнинг биологик фаолликлари бўйича замонавий тадқиқот натижалари келтирилган.

Диссертациянинг «**Коллаген ажратиб олиш, коллаген ва полисахаридлар асосида композициялар олиш, уларнинг физик-кимёвий ва биологик тадқиқ қилиш усуллари**» деб номланган иккинчи бобида тадқиқотларни олиб бориш босқичлари, уларнинг бажарилишида фойдаланилган материаллар ва усуллар, хусусан, қорамол терисидан ишқорий-тузли усулда коллаген ажратиб олиш, унинг молекуляр катталикларини ва тузилишини аниқлаш, коллаген ва полисахаридлар (На-КМЦ ва пектин) асосида композициялар олиш, композицияларнинг физик-кимёвий кўрсаткичларини аниқлаш, ушбу кўрсаткичлар асосида плёнка олишнинг мақбул усулини танлаш ва уларнинг физик-механик хусусиятларини аниқлаш, плёнка намуналарининг биологик фаолликларини аниқлаш усуллари келтирилган.

Диссертациянинг «**Коллаген ажратиб олиш, коллаген ва полисахаридлар асосида композициялар олиш, уларни физик-кимёвий хоссалари**» деб номланган учинчи бобида турли гидролиз вақтида қорамол терисидан коллаген ажратиб олиш, уларнинг аминокислота таркиби, молекуляр массаси ва қовушқоқлигини аниқлаш, коллаген ва полисахаридлар асосида композициялар олиш, уларнинг физик-кимёвий хоссаларини аниқлаш, композициялар асосида плёнка олиш, уларнинг структураси ва физик-кимёвий хоссаларини ўрганиш бўйича изланиш натижалари келтирилган.

Коллаген асосида тиббий воситалар олишда коллагеннинг табиий структурасини сақлаши муҳим ўрин тутди. Шунинг учун тери хом ашёларидан коллаген ажратиб олиш бўйича кўплаб изланишлар олиб борилган ва ҳозирда ҳам давом эттирилмоқда. Биоорганик кимё институти олимлари (А.С.Тураев, Т.Гулямов, А.Ю.Атажанов, О.И.Раджабов) томонидан қорамол терисидан «Коллаген субстанциясини олиш усули» яратилган ва ушбу коллаген субстанцияси асосида паренхиматоз қон кетишда қон тўхтатувчи гемостатик қоплама «Гемогубка» тиббиёт воситаси олинган. Улар томонидан, коллагенни сувсизлантириш жараёнида иккинчи гидролиз босқичи 60 дақиқа давомида олиб борилган ва 5,5-6,2% гача коллаген сақлаган сувли масса олинган. Бироқ, ушбу коллаген сувли массасининг технологик

жихатдан оқувчанлиги камлиги ва шаклга қўйишдаги қийинликликлар сабабли, тадқиқотларимизда ишқорий-тузли гидролизлаш усули бўйича коллаген ажратиб олишнинг иккинчи гидролиз вақтини танлаш борасида изланишлар олиб борилди. Тадқиқотларда коллаген сувли массасидан макбул физик-механик хоссали композицион плёнка олиш мақсадида 60, 80, 90, 120 дақиқа давомида, 18-23°C ҳароратда гидролизланди. Тадқиқот натижалари 1-жадвалда келтирилган.

1-жадвал

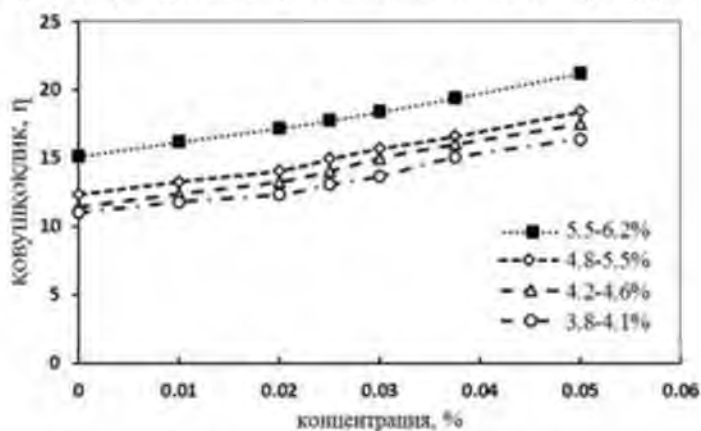
Коллаген сувли массасининг физик-кимёвий кўрсаткичлари

№	Иккинчи гидролиз вақти, дақиқа	Коллагеннинг сувли массадаги миқдори (г, %)	Солиштирама зичлиги (г/см ³)	6% сирка кислотада эрувчанлиги
1	60	5,5-6,2	0,295-0,310	эрийди
2	80	4,8-5,5	0,280-0,293	эрийди
3	90	4,2-4,6	0,262-0,278	эрийди
4	120	3,8-4,1	0,246-0,257	эрийди

1-жадвалда келтирилган натижалардан кўриниб турибдики, иккинчи гидролиз вақтининг ортиб бориши билан сувли масса таркибидаги коллаген миқдори $5,5-6,2 > 4,8-5,5 > 4,2-4,6 > 3,8-4,1$ ва унинг солиштирама зичликлари камайиши аниқланди. Жумладан, гидролиз вақти 60 дақиқа бўлган намуналар учун солиштирама зичлиги 0,295-0,319 г/см³, 80 дақиқа учун 0,280-0,293 г/см³, 90 дақиқа учун 0,262-0,278 г/см³ ва 120 дақиқа учун 0,246-0,257 г/см³ ни ташкил қилди.

Коллагеннинг табиий уч спирал структураси сақланганлигини исботловчи асосий катталиклардан бири бу унинг характеристик қовушқоқлигидир. Адабиётларда табиий тузилиши сақлаган коллагеннинг минимал характеристик қовушқоқлик қиймати 11 га тенг бўлиб, денатурацияланган коллаген учун бу қиймат 0,1 га тенглиги келтирилган.

Шунинг учун иккинчи гидролиз вақтининг ўзгариши коллагеннинг характеристик қовушқоқлигига таъсири ўрганилди (1-расм).



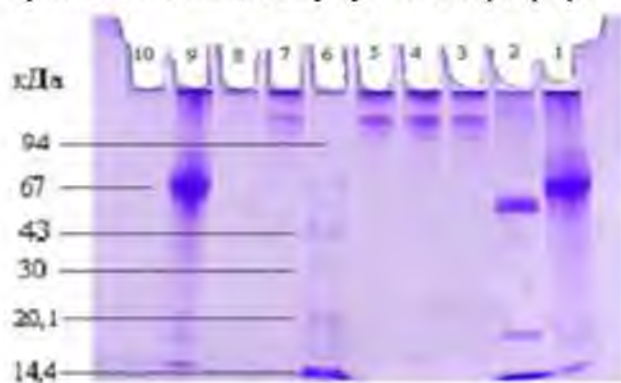
1-расм. Иккинчи гидролиз вақти турлича бўлган коллагеннинг 6% ли сирка кислота эритмаларидаги характеристик қовушқоқлиги

60 дақиқа давомида олиб борилган иккинчи гидролиз натижасида ажратиб олинган коллагеннинг характеристик қовушқоқлик қиймати

$[\eta]=15,15$ га тенг. Иккинчи гидролиз вақтининг ортиб бориши билан характеристик ковушқоклик кийматининг камайиши кузатилди ва тегишлича 80 дақиқада $[\eta]=12,35$: 90 дақиқада $[\eta]=11,42$: 120 дақиқада $[\eta]=11,02$ га тенглиги аниқланди. Олиб борилган барча тажрибаларда коллагеннинг табиий тузилишини сақланганлиги исботланди. Бирок, гидролиз вақтининг ортиб бориши билан коллаген ажратиб олиш унуми камайди. Бу коллагеннинг спираллашмаган қисмларининг узилишидан ташқари, гидролиз вақти ортиши билан табиий тузилишининг ҳам бузилиши билан изоҳланади. Шунинг учун иккинчи гидролизнинг мақбул вақти сифатида 80 дақиқа танланди.

Тадқиқотларимиз давомида қорамол терисидан ажратиб олинган коллаген таркибидаги аминокислоталар ЮССХ (юқори самарали суюқлик хроматографияси) усулида аниқланди ва уларнинг миқдори илмий адабиётларда келтирилган аналог усуллар билан (қорамол терисидан ажратиб олинган) қиёсий таққосланган ҳолда ўрганилди. Олинган натижаларга кўра, аминокислоталар миқдори деярли фарқ қилмаслиги аниқланди.

Адабиёт маълумотларига кўра коллаген уч спирал структура ҳолатидаги молекуляр оғирлиги 300 кДа атрофида бўлади. Коллагеннинг молекуляр оғирлигини аниқлаш учун электрофорез усулидан фойдаланилди (2-расм).



2-расм. Коллаген намуналарининг полиакриламид гелидаги электрофорези: 3, 4, 5, 7, 8 – коллаген намуналари; 6-st (94, 67, 43; 30; 20,1; 14,4 кДа)

Олинган натижалар асосида барча коллаген намуналарининг ўртача молекуляр оғирлиги 90-110 кДа эканлиги аниқланди. Бундан коллаген макромолекулалари учта α -занжирдан иборат бўлиб, ҳар бир α -занжирнинг ўртача молекуляр оғирлиги 100 кДа ни ташкил қилиб, умумий ҳолда ажратиб олинган коллагеннинг молекуляр оғирлиги 270-330 кДа оралиғига тўғри келади деб хулоса қилиш мумкин.

Коллаген сувли массаси қовушқоқ оқувчанлиги юқорилиги сабаб ундан биоматериал олиш имконияти йўқ. Шунинг учун тадқиқотларимизда коллагенга ўзаро мос келувчи биополимерлар билан композиция олиш мақсадида изланишлар олиб борилди. Биополимерлар сифатида полисахаридлардан Na-КМЦ ва цитрус пектини танланди. Тажрибалар нейтрал муҳитдаги коллаген сувли массасига органик эритувчиларсиз, турли масса нисбатларда қурук ҳолдаги полисахаридларни қўшиш орқали, коллаген-полисахарид аралашмасидан иборат оқувчан композициялар олинди (2-жадвал).

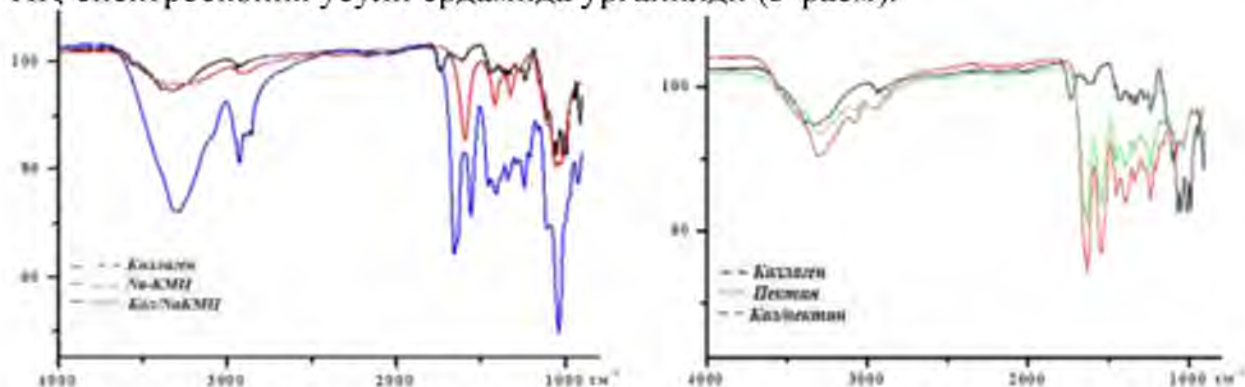
**Коллаген ва полисахаридлар (Na-КМЦ ва пектин)
композицияларининг хусусиятлари**

№	Коллаген, г	Na-КМЦ, г	Мухит, рН	Қовушқоклик, [η]
1	1	-	6,7	Оқувчан эмас
2	0,8	0,2	6,9	22606
3	0,7	0,3	7,4	236
4	0,6	0,4	7,6	81,48
Коллаген/пектин аралашмалари				
5	0,8	0,2	6,4	318
6	0,7	0,3	6,0	45,69
7	0,6	0,4	5,2	Суюқ эритма

Олинган натижаларга кўра, композиция намуналарида коллаген массасига нисбатан полисахаридлар миқдори ортиб бориши билан бўккан ҳолдаги қуюқ масса бир жинсли оқувчан ҳолатга ўтиб, қовушқокликнинг кескин камайиши кузатилди.

Шунингдек, турли нисбатларда олинган коллаген/полисахарид аралашмасидаги рН муҳити ўрганилганда; коллагенга нисбатан Na-КМЦ миқдори ортиши билан олинган композицияларда рН муҳитининг ҳам ошиши кузатилди. Лекин, коллаген/пектин билан олинган композицияларда рН муҳити пектин миқдорининг ортиб бориши билан кислотали муҳитга ўтиши аниқланди. Ушбу ҳолат, композиция олишда қўлланилган Na-КМЦ нинг (ПД-530, АД-85) рН=8.2, цитрус пектиннинг ($-OCH_3$ гуруҳи миқдори 65%) рН=4.6 га тенг эканлиги билан изоҳланади.

Композициялар таркибидаги коллагеннинг тузилишидаги ўзгаришлар ИҚ-спектроскопия усули ёрдамида ўрганилди (3-расм).

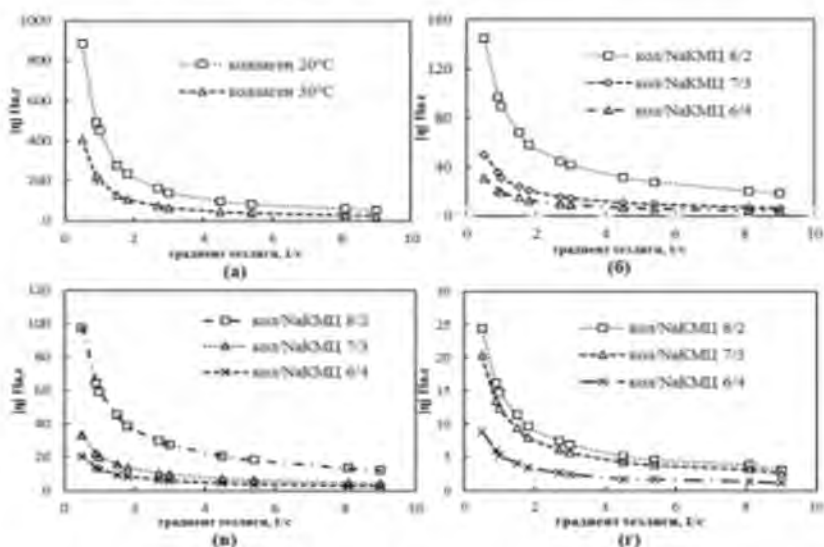


3-расм. Коллаген асосида олинган плёнкаларнинг ИҚ-спектрлари

Коллагеннинг ИҚ-спектрларида водород боғланишда иштирок этувчи эркин ва амид I, II, III N-H гуруҳларига мос келувчи ютилишлар 3326, 1635, 1552 ва 1261 cm^{-1} соҳаларда аниқланди. Коллаген/полисахарид композицияларининг ИҚ-спектрларида эса ушбу гуруҳларга хос ютилиш соҳаларида ўзгаришлар кузатилди. Жумладан, коллаген/Na-КМЦ учун ушбу ютилишлар мос равишда 3396, 1668, 1557, 1259 cm^{-1} соҳаларда кузатилди. Бу

эса коллаген ва полисахарид реакцион фаол марказлари ўзаро таъсирлашиши натижасида ион ва водород боғларининг ҳосил бўлганлигидан далолат беради.

Адабиётлардан маълумки, эритмадаги коллагеннинг денатурация ҳарорати 39°C га тенг, лекин унга полисахаридлар қўшиб олинган композицияларда унинг термик барқарорлиги ортиб, қовушқоқлиги камайганлиги аниқланган. Шунинг учун тадқиқотларимиз давомида коллаген ва полисахаридлар асосида олинган композицияларнинг реологик хусусиятларини ҳароратга боғлиқлиги ўрганилди. 4- ва 5-расмларда коллаген ва полисахаридлар (Na-КМЦ ва пектин) композицияларининг реологик хусусиятлари келтирилган.

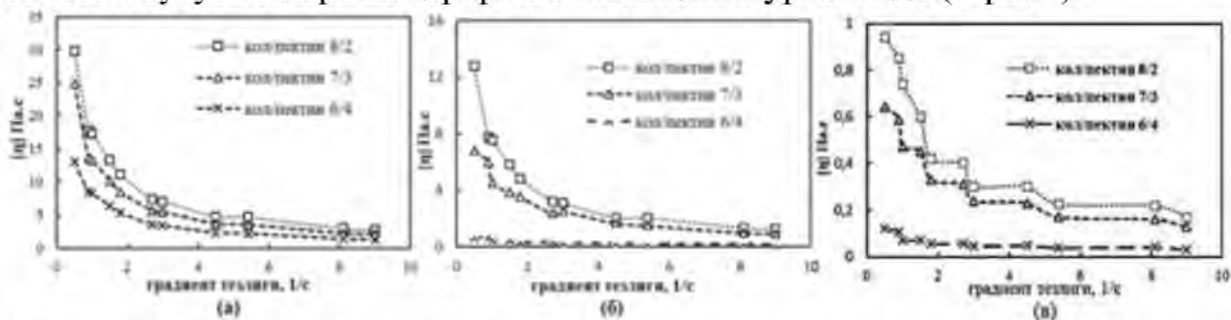


4-расм. Коллаген 20°C, 30°C, (а) ва коллаген/Na-КМЦ (8/2, 7/3, 6/4) 20°C (б), 30°C (в), 40°C (д) самарали қовушқоқликлари

Коллагеннинг 20°C ва 30°C даги эффектив қовушқоқлиги қиймати юқори (4-расм, а) бўлиб, ушбу шароитда коллагеннинг табиий тузилиши сақланиб қолганлиги билан изоҳланади, лекин 40°C ҳароратда коллагеннинг денатурацияга учраши натижасида самарали қовушқоқлигини аниқлаш имконияти бўлмади.

Коллаген сувли массасига қўшилган Na-КМЦ миқдорининг ортиб бориши билан композициянинг қовушқоқлиги нисбатан камайиб боради, лекин термик барқарорлиги эса ортиб бориши кузатилди (4 расм. б,в,г).

Шунингдек коллаген ва пектидан олинган композицияларининг ҳам реологик хусусиятларини ҳароратга боғлиқлиги ўрганилди (5-расм).



5-расм. Коллаген/пектин (8/2, 7/3, 6/4) композицияларининг 20°C (а), 30°C (б), 40°C (в) самарали қовушқоқлиги

5-расмдан келтирилган натижалардан кўришиб турибдики, коллаген сувли массасига пектин қўшилганда ҳам унинг термик барқарорлиги ортиб, самарали қовушқоқлиги камаяди. Коллаген/пектин композицияларнинг қовушқоқ оқувчанлиги коллаген/Na-КМЦ композицияларининг самарали қовушқоқлигидан кичик эканлиги аниқланди. Коллагенга нисбатан 40°C да композицияларнинг самарали қовушқоқлиги сақланиб қолганлиги аниқланди.

Тадқиқотларимизнинг кейинги босқичида коллаген ва полисахаридлар асосида олинган композициялардан плёнкалар олиш борасида изланишлар олиб борилди. Дастлаб коллаген асосида плёнка олинди, бироқ, коллагендан олинган плёнкалар сирти нотекис, қалин ва эластиклиги йўқ. Коллаген сувли массасига полисахаридларни: Na-КМЦ ва пектин қўшиш орқали ҳосил қилинган суюқ оқувчан масса асосида олинган плёнкалар коллаген асосида олинган плёнкага нисбатан эластиклик хусусияти яхши бўлсада, барча физик-механик хусусиятлар бўйича талабга жавоб бермайди. Жумладан, эластиклиги кам, шу билан бирга плёнкалар қалин ва дағал кўринишга эга бўлди. Шунинг учун бу камчиликларни бартараф этиш мақсадида плёнка олиш жараёнида композициялар таркибига глицерин қўшиш орқали пластификацияланди.

Коллаген ва полисахаридлар асосида олинган композициялар таркибига глицерин қўшиш орқали олинган плёнка намуналарининг қалинлиги аниқланди (3-жадвал).

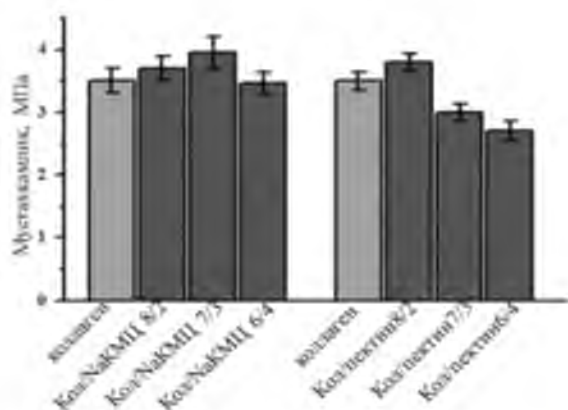
3-жадвал

Коллаген ва полисахаридлардан олинган плёнкаларнинг қалинлиги

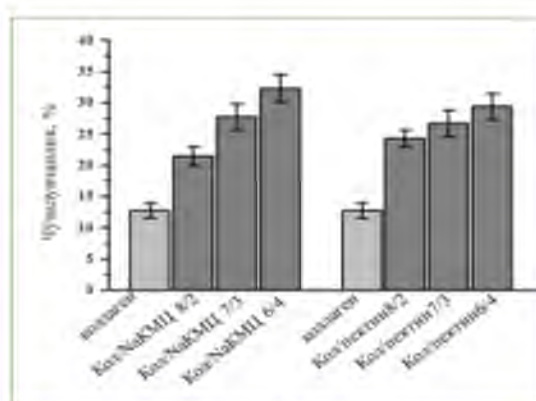
Намуналар	Қалинлиги, мкм	Намуналар	Қалинлиги, мкм
Коллаген	57	Коллаген	57
Коллаген/Na-КМЦ 8/2	14	коллаген/пектин 8/2	13
Коллаген/Na-КМЦ 7/3	12	коллаген/пектин 7/3	12
Коллаген/Na-КМЦ 6/4	11	коллаген/пектин 6/4	10

Юқоридаги жадвалдан кўришиб турибдики, коллаген сувли массаси қуригандан сўнг қалин, қаттиқ, мўрт ва синувчан плёнка ҳосил бўлди. Коллаген/Na-КМЦ ва коллаген/пектин композицияларининг яхши оқувчанлиги, қуригандан сўнг текис юза ҳосил қилиши сабабли қалинлиги камайди. Олинган плёнкаларнинг ўртача қалинлиги коллаген/Na-КМЦ 7/3 14 мкм ва коллаген/пектин 8/2 13 мкм эканлиги аниқланди.

Турли таркибли плёнкаларнинг физик-механик хусусиятлари, жумладан, мустаҳкамлиги ўрганилди.



(а)



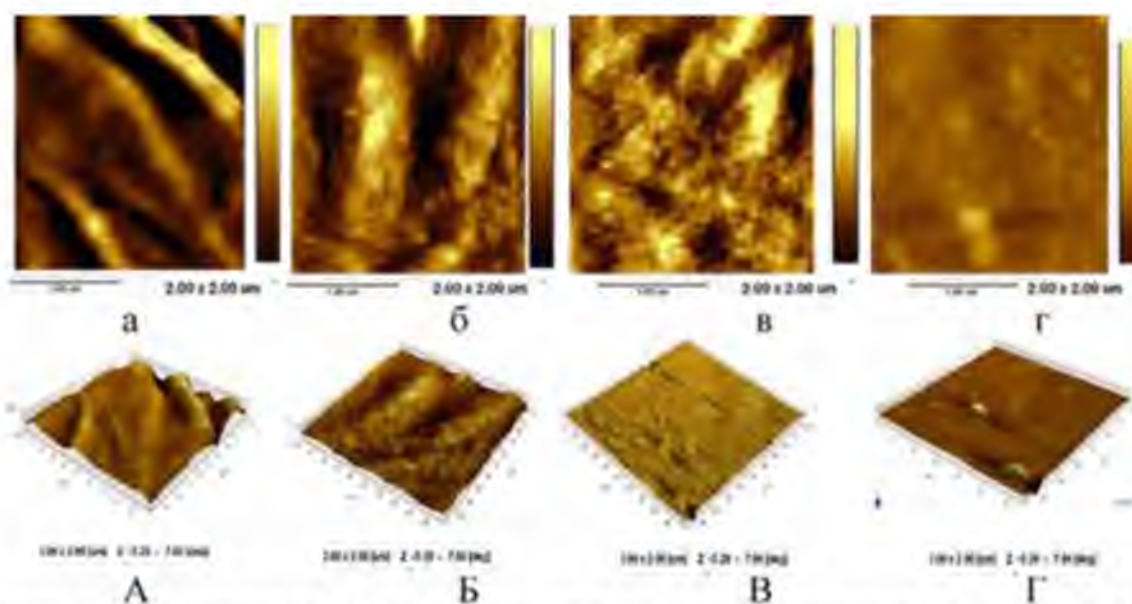
(б)

6-расм. Коллаген ва полисахаридлар асосида олинган плёнкаларнинг мустаҳкамлиги (а) ва чўзилувчанлиги (б). Маълумотлар ўртача ± стандарт бўйича коллагендан олинган плёнкага солиштирилган – $p \leq 0,05$, ($n = 6$).

6-расмда келтирилган натижалардан кўриниб турибдики, юкори мустаҳкамлик қиймати коллаген/Na-KMЦ 7/3 (3.95 МПа) ва коллаген/пектин 8/2 (3.9 МПа) нисбатлардаги композицияларга глицерин қўшиш орқали олинган плёнкаларда кузатилди. Лекин, композиция таркибидаги Na-KMЦ ва пектин миқдорларининг ортиб бориши билан плёнка мустаҳкамлиги камайиши кузатилди. Коллаген/Na-KMЦ 6/4 ва глицерин асосида олинган плёнканинг мустаҳкамлиги 3.47 МПа, коллаген/пектин 7/3, 6/4 нисбатларда ва глицерин қўшиб олинган плёнкалар мустаҳкамлиги эса мос равишда 3.0 МПа, ва 2.7 МПа эканлиги аниқланди.

Тадқиқотлар давомида плёнкаларнинг чўзилувчанлигига глицерин миқдорининг таъсири ўрганилди. Коллаген массасига турли миқдорда глицерин қўшиб плёнка намуналари олинди, лекин уни қуритиш жараёнида плёнка сирт юзасида глицериннинг ажралиб чиқиши кузатилди ва плёнканинг чўзилувчанлиги 17% ошмаслиги аниқланди. Коллаген/полисахарид композицияларига қўшилган глицерин миқдорининг ортиб бориши билан унинг асосида олинган плёнкаларнинг чўзилувчанлик қиймати ортиб бориши кузатилди. Плёнка намуналарининг чўзилувчанлигини аниқлаш натижалари асосида энг мақбул таркиб сифатида коллаген/Na-KMЦ 7/3 нисбатдаги композициясига 17% глицерин қўшиб олинган плёнка (чўзилувчанлиги 27.8%) ҳамда коллаген/пектин 7/3 нисбатдаги композицияга 17% глицерин қўшиб олинган плёнка (чўзилувчанлиги 26.7%) танлаб олинди.

Шунингдек, олинган плёнкаларнинг сирт тузилиши ва коллаген толаларининг ўзгариши АСМ (атом сканирловчи микроскоп) ёрдамида ўрганилди (7-расм).



7-расм. Плёнкаларнинг АСМ да олинган фазали ҳолати: (а) коллаген, (б) коллаген/Na-КМЦ 8/2, (в) коллаген/Na-КМЦ 7/3, (г) коллаген/Na-КМЦ 6/4 (2.00x2.00 μm).

АСМ уч ўлчовли (3d) расмлари: коллаген (А), коллаген/Na-КМЦ 8/2 (Б), коллаген/Na-КМЦ 7/3 (В), коллаген/Na-КМЦ 6/4 (Г)

7-расмда келтирилган тадқиқот натижаларидан кўриниб турибдики, коллаген сувли массасидан олинган плёнкада (а), коллаген фибрилл толалардан ташкил топган. Коллаген/Na-КМЦ 8/2 нисбатда олинган плёнкада коллаген фибрилл толалари йўғонлашган ва Na-КМЦ кириши натижасида ёйилган, толалар йириклашган (б). Коллаген/Na-КМЦ 7/3 нисбатда олинган плёнкада коллаген фибрилл толалари катталашган ва бўкиш ҳисобига текис ёйилган, толалар эса плёнка ҳажми бўйлаб тарқалган (в). Коллаген/Na-КМЦ 6/4 нисбатда олинган плёнкада эса коллаген фибриллари эриши ҳисобига фибрилл толалар йўқ бўлиб кетганлиги аниқланди (г).

АСМнинг 3d ўлчамли тузилишида коллагендан олинган плёнкаларнинг юза қисмлари нотекис ҳолатда (А), коллаген/Na-КМЦ композициясидан олинган плёнка намуналарида юза қисмининг текисланишини кўриш мумкин. Жумладан, коллаген/Na-КМЦ 8/2 нисбатдаги плёнкаларда фибрилл толалар бироз текисланган ва шишган (Б), коллаген/Na-КМЦ 7/3 нисбатдаги плёнка юзасида фибрилл толалар текисланган (В), коллаген/Na-КМЦ 6/4 нисбатдаги плёнкалар эса текис юза ҳосил қилган (Г).

Шунингдек, коллаген/пектин композицияси асосида олинган плёнкалар СЭМ (сканерловчи электрон микроскоп) усули ёрдамида ўрганилди. Натижалар коллаген сувли массасидан олинган плёнканинг юза қисмида нотекис, фибрилл толалар устма-уст жойлашган, йўғон ва бўртган ҳолда тузилганлигини кўрсатди. Коллаген/пектин 8/2 нисбатда олинган плёнка юзасида фибрилл толалар майда қисмларга бўлинган, плёнка юзаси нисбатан текис ва бир-хил тарқалганлиги, коллаген/пектин 7/3 ва коллаген/пектин 6/4 нисбатдаги композициялардан олинган плёнка юзаларида фибрил толалар йўқ бўлиб, бир жинсли, текис юза ҳосил бўлганлиги аниқланди.

Юқоридаги тадқиқотлар натижасида, коллаген/Na-KMЦ 7/3 ва коллаген/пектин 8/2 нисбатдаги композицияларига 17% глицерин қўшиб пластификациялаб олинган плёнка намуналарини физик-механик хусусиятлари бўйича энг мақбул таркиб эканлиги исботланди.

Диссертациянинг «Коллаген асосида олинган плёнкаларнинг биологик фаолликлари» деб номланган тўртинчи бобда коллаген ва полисахаридлар асосида олинган плёнкаларнинг жарроҳлик амалиётидан кейинги битишмаларни олдини олиши, организмдаги биосўрилувчанлиги, жароҳатларни битказиш фаолликлари ҳамда фармако-токсикологик хусусиятларига оид тадқиқот натижалари келтирилган.

Коллаген асосида олинган плёнкаларнинг жарроҳлик амалиётидан кейинги битишмаларни олдини олиш фаоллиги ва токсикологик хусусиятлари Биоорганик кимё институтининг «Фармакология» лабораториясида, қуйганга қарши биологик фаоллиги Ўсимлик моддалар кимёси институтида «Фармакология ва токсикология» лабораториясида, юз-жағ жарроҳлиги бўйича фаоллиги Тошкент давлат стоматология институти «Морфология» кафедраси ходимлари билан ҳамкорликда ўрганилди.

Плёнкаларнинг биосўрилувчанлиги каламушларда тери ости тўқимасига киска муддатли имплантация амалиёти ўтказиш орқали ўрганилди. Натижада, коллаген/NaKMЦ 7/3 ва коллаген/пектин 8/2 плёнкалари 3 ҳафтадан сўнг тўлиқ сўрилиб кетиши аниқланган.

Плёнкаларнинг битишма жараёнини олдини олиши бўйича тадқиқотлар каламушларда ўрганилди. Натижалар қуйидаги 4-жадвал ва 8-расмда келтирилган.

4-жадвал

in vivo шароитида плёнка намуналарини қўлланилишида битишма ҳосил бўлиш шкаласи бўйича баллари (n=6)

Плёнка намуналари	Баҳолаш шкаласи, балл						Баллар йиғиндиси	M±m*
	0	1	2	3	4	5		
Назорат	1	1	0	0	2	2	19	3,17±0,87
Кол/NaKMЦ 70/30 (П-1)	6	0	0	0	0	0	0	0
Кол/пектин 80/20 (П-2)	4	2	0	0	0	0	2	0

n=6; *p=0,005



8-расм. Тажриба хайвонларининг назорат гуруҳидаги (К-3) ва плёнка қўлланилгандаги (П-1 кол/NaKMЦ, П-2 кол/пектин 80/20) фотосуратлари

Келтирилган жадвал ва расмдан кўриниб турибдики, назорат гуруҳи ҳайвонларининг биттасида битишма ҳосил бўлмаган, лекин биттасида юпка (1 балл), иккитасида қалин (4 балл) ва иккитасида жуда қалин (5 балл) битишма ҳосил бўлди. П-2 плёнка қўлланилган гуруҳнинг иккита ҳайвонда кўр ичагининг гумбаз қисмида юпка плёнкасимон битишма (1 балл) ҳосил бўлди. Қолган ҳайвонларда битишма содир бўлмади. П-1 плёнкаси қўлланилган барча ҳайвонларда битишма ҳосил бўлмади (назорат гуруҳига нисбатан $p=0,005$), жароҳат юзаси ўз структурасини тўлиқ тиклади. Иккинчи ва учинчи гуруҳ ҳайвонларининг жароҳат юзасида оз миқдорда тиниқ гел кузатилди. Олинган натижалар айнан ушбу усул асосида битишмага қарши фаоллиги ўрганилган хорижда ишлаб чиқарилаётган Seprafilm™ дори воситаси билан таққосланганда, 2.5 марта кўп юқори фаоллик намоён қилиши аниқланган.

Плёнкаларнинг куйишга қарши фаоллигини ўрганиш мақсадида таркибига турли нисбатда хлоргексидин кўшиб плёнкалар олинди. Тадқиқотлар каламушларда сунъий куйиш чақирилган ҳолда ўрганилди. Назорат препарати сифатида Левомекольдан фойдаланилди. Олинган натижалар назорат гуруҳи ҳайвонларда куйган тери юзаси 48,8 кунда, левомеколь препарати қўлланилганда 32,5 кунда, плёнкалар қўлланилган гуруҳларда эса 26-30 кунда жароҳат битиши аниқланди.

Плёнканинг биосўрилувчанлигини морфологик ўрганиш тадқиқотлари жарроҳлик амалиётидан сўнг унинг жароҳатловчи ва ёт модда сифатида таъсир қилмаслиги аниқланди. Плёнканинг тўкималарга нисбатан ножўя таъсири ва яллиғланишга қарши хусусиятга эга эмас. Ушбу плёнкадан тери юзаси ва яра қавати остидаги тузилмаларни ўзаро боғлаш тенденциясига эга эканлиги аниқланди. Натижада клиникада юз-жағ соҳасидаги туғма нуқсонларни жарроҳлик усулида даволашни оптималлаштириш ва жарроҳликдан кейин унинг тикланишини тезлаштириш учун қўллаш мумкинлигини кўрсатди.

Шунингдек плёнкаларнинг ўткир захарлилиги ўрганилганда LD_{50} қиймати ≥ 10000 мг/кг эканлиги аниқланди.

Олиб борилган тадқиқотлар натижасида коллаген/Na-КМЦ 7/3 асосида олинган плёнка физик-кимёвий, биологик ва фармакологик хусусияти жиҳатидан энг самарали деб танланди ҳамда битишмаларни олдини олишда ва куйиш натижасида ҳосил бўлган жароҳатларни давлash учун «КолКацел» деб номланди. «КолКацел» воситаси учун стандартлаш усуллари ва олиш технологияси ишлаб чиқилди, ҳамда ихтиро учун патент олинди.

ХУЛОСАЛАР

1. Қорамол терисидан ишқорий-тузли гидролизлаш усулида кўшимчаларсиз, табиий структураси сақланган коллаген сувли массасини ажратиб олишнинг энг мақбул шароити аниқланди ва буферли

экстракциялашдан сўнг иккинчи гидролиз жараёнини 5 % NaOH ва 80 г/л Na₂SO₄, 80 дақиқа давомида олиб бориш тавсия этилди.

2. Коллагеннинг полисахаридлар - Na-КМЦ ва цитрус пектинлари билан кимёвий мувофиқлиги турли нисбатларди тадқиқ этилиб, композиция таркибида Na-КМЦ ва пектин миқдорининг ошиши, макромолекулалар орасида чуқур ўзаро таъсирлашуви ва коллагеннинг уч спирал тузилиши йўқолиши натижасида фибрилляр тузилишнинг парчаланишига олиб келиши аниқланди.

3. Турли нисбатлардаги коллаген:полисахарид композицияларини шаклга қуйишнинг асосий имкониятлари тадқиқ қилинди, коллаген:Na-КМЦ=7:3 ва коллаген:пектин=8:2 масса нисбатларида олинган композициялар кимёвий мувофиқ ва улар асосида коллагеннинг дастлабки фибрилляр тузилишини сақловчи плёнкалар олиш мумкинлиги аниқланди.

4. Эксплутацион хусусиятларга (мустаҳкамлиги, чўзилувчанлиги, эгиливчанлик ва бошқ.) мос келувчи плёнка олиш мақсадида, композицияни глицерин билан пластификациялаш олиб борилди ва сувли композицияга нисбатан таркибида 17% масса оғирликда глицерин сақлаган композициядан жарроҳликда яроқли плёнкани шаклга қуйиш имконини бериши аниқланди. Таркибида 17% глицерин сақлаган коллаген:Na-КМЦ=7:3 ва коллаген:пектин=8:2 нисбатдаги композициялардан шаклга қуйиб олинган плёнкалар мос равишда 3,95 ва 3.9 МПа мустаҳкамликка, 27,8 ва 26,7% чўзилувчанликка ва мустаҳкамлик кўрсаткичларига эга бўлиб уларни жарроҳлик амалиётида қўллаш учун тавсия этилди.

5. Плёнкаларнинг фармако-токсикологик тадқиқотлари тирик организмга имплантация қилинган плёнкалар биомосланувчан, ножўя таъсирининг йўқлиги, плёнка қалинлигига боғлиқ ҳолда 15-20 кун давомида тирик тўлик сўрилиши, имплантация қилинган жойда 10 кундан сўнг хусусий коллаген фибрилларининг ҳосил бўлиши кўрсатди.

6. Илк бор, “Колкацел” савдо номи остида жарроҳлик плёнкаси ишлаб чиқилди ва қорин бўшлиғи жарроҳлигида битишмага қарши, туғма очилган танглайни жарроҳлик даволашда, йирингли яралар ва куйишда хлоргексидин (хлоргексидин миқдори 0,05%) билан биргаликда жароҳат битказувчи восита сифатида қўллашга тавсия этилди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.02/30.12.2019.К/В.37/01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИООРГАНИЧЕСКОЙ
ХИМИИ**

ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

МУЙДИНОВ НУРИЛЛО ТУХТАРОВИЧ

**СОЗДАНИЕ ПРОТИВОСПАЕЧНЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ
КОЛЛАГЕНА И КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ**

02.00.10 - Биоорганическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ
ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)
ПО ХИМИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Ташкент - 2020

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2017.3.PhD/K71.

Диссертация выполнена в Институте биоорганической химии.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.biochem.uz) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net).

Научный руководитель:	Тураев Аббасхан Сабирханович доктор химических наук, академик
Официальные оппоненты:	Бобоев Бахром Нуруллаевич доктор химических наук
	Тулаганов Абдукодир Абдурахмонович доктор фармацевтических наук, профессор
Ведущая организация:	Ташкентский химико-технологический институт

Защита диссертации состоится «___» _____ 2020 года в ___ часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.K/V.37/01 при Институте биоорганической химии (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии (зарегистрировано под № ___). (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: shsh@mail.ru).

Автореферат диссертации разослан: «___» _____ 2020 г.
(реестр протокола рассылки № «___» от _____ 2020 г).

Ш.И.Салихов
Председатель Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., академик

Ш.А.Шомуротов
Ученого секретаря Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.х.н.

М.Б.Гафуров
Председатель Научного семинара при Научном совете
по присуждению ученых степеней, д.х.н.

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В мире большое практическое значение имеет производства различных лекарств и медицинских изделий на основе натурального растительного и животного сырья. Поскольку средства, полученные на основе такого сырья, имеют малую токсичность, биодоступность, рассасываемость и ранозаживляющие свойства, по сравнению синтетическими средствами. В последние годы развивается исследования по получению на основе коллагена, выделенного из животного сырья, материалов для медицины, фармацевтики и косметологии. Это связано с тем, что материалы полученные на основе коллагена обладают высокой биодоступностью, рассасываются в организме, не вызывают аллергии, имеет низкие побочные эффекты и обладают высокой терапевтической эффективностью.

На сегодняшний день в мире ведутся исследования по выделению коллагена с нативными свойствами из отходов кожевенной промышленности, изучение его свойств, получение композиций на основе коллагена и полисахаридов а также создание новых медицинских изделия на их основе. В частности, в медицинской практике используются различные медицинские изделия на основе коллагена и полисахаридов (КолГара, Мезогель, Seprafilm и др.). Исследования направлены на создания высокоэффективных и отвечающих медицинским требованиям материалов на основе природных биополимеров. В том числе, проводятся исследования по выделению коллагена из кож сырья, с сохранением природной структуры, а также путем модификации его с полисахаридами, с целью получения композиций с заданными свойствами, создания высокоэффективных средств на основе композиции с низкими побочными действиями для хирургической практики.

В нашей стране особое внимание уделяется использованию инновационных достижений для разработки высокоэффективных медицинских изделий на основе натурального сырья и их внедрение в медицинскую практику. На основе программных мер, предпринятых в этом направлении, была создана научная основа, с новыми подходами, для производства высокоэффективных лекарственных веществ. В Стратегии развития Республики Узбекистан (4-направление) изложены задачи по «реализации мер по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности, улучшению обеспечения населения и медицинских учреждений недорогими, высококачественными лекарственными средствами и медицинскими изделиями». При реализации поставленных задач, важное значения имеет получения новых малотоксичных медицинских изделий на основе коллагена с противоспаечными и ранозаживляющими свойствами для хирургической практики.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики

Узбекистан № УП-4947 от 7 февраля 2017 года «Стратегия действия по пяти приоритетным направлениям развития Узбекистана в 2017-2021 годах», в Указе Президента № УП-5229 от 7 ноября 2017 года «О мерах по кардинальному совершенствованию системы управления фармацевтической отрасли», в Постановлении Президента Республики Узбекистан № ПП-3552 от 14 февраля 2018 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий Республики VI. «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. Зарубежными учеными проведены систематические исследования по выделению коллагена из кож сырья крупного рогатого скота, их модификации с полисахаридами и получение на их основе лекарственных препаратов для использования в медицине и фармацевтике.

В частности, А.И. Сапожниковой, М.П. Васильевим, Л.П. Истрановим, Л.В. Кухаревой, С.А. Батечко, И.В. Кис, А.Н. Иванкиним, И.А. Голотовой, И.С. Шестаковим, В.И. Чурсиним, Л.В. Антиповой, А.Н. Коноваловым, M.Kuraynagi, A. Yomamoto, M.J. Albu и Zhe Wang проведены научные исследования по выделению коллагена, разработки на его основе биополимерных композиций и изучение их биологической активности.

В нашей Республике научные исследование в этом направлении были проведены акад. А.С. Тураевым, проф. А.А. Сарымсаковым и получены положительные результаты. В Институте биоорганической химии Академии наук Республики Узбекистан ведутся систематические исследования по созданию хирургических изделий путем модификации коллагена широкого назначения и заданными медико-биологическими свойствами. При этом основное внимание уделяется выделению коллагена из кож сырья крупного рогатого скота, сохранением его нативной трехспиральной структуры и созданию биологические активных медицинских препаратов на основе композиций с полисахаридами.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высших учебных и научно-исследовательских заведений. Диссертационное исследование выполнено в рамках инновационного проекта Института биоорганической химии И-ФА-2017-6-1 «Организация производства инъекционного препарата «Биоплант» на основе коллагена» (2018-2019 гг.).

Целью исследования является получение хирургических изделий - плёночных материалов на основе композиции коллагена и полисахарида, исследование их биологической активности.

Задачи исследования:

выделение водной массы коллагена с трехспиральной структурой из кожи крупного рогатого скота путем вторичного щелочно-солевого гидролиза и установление физико-химических характеристик;

получение композиций на основе водной массы нативного коллагена и полисахаридов (Na-КМЦ, пектин) и установление физико-химических характеристик;

определение оптимальных условий получения образцов пленок на основе композиции нативного коллагена и полисахаридов (Na-КМЦ, пектин);

установление физико-химических и механических свойства образцов пленок полученных на основе нативного коллагена и полисахаридов (Na-КМЦ, пектин);

изучение фармако-токсикологических свойств образцов пленок на основе нативного коллагена и полисахаридов (Na-КМЦ, пектин) а также определения биологической активности при противоспаечной, противоожоговой и лицевой челюстной хирургии;

подготовка нормативно-технической документации пленки, полученной на основе нативного коллагена и полисахаридов (Na-КМЦ, пектин).

Объектами исследования являются водная масса коллагена выделенного из кож сырья крупного рогатого скота, Na-КМЦ (СП 530, СЗ 85), цитрусовый пектин (содержание $-OCH_3$ групп 65%), глицерин, композиции на основе коллаген/Na-КМЦ и коллаген/пектин, пленки на их основе.

Предметом исследования является получение водной массы коллагена из кож сырья крупного рогатого скота путем щелочно-солевого гидролиза, получение композиций на основе водной массы коллагена и полисахаридов (Na-КМЦ, пектин), изучение трехспиральной структуры коллагена в составе водной массы и композиций, вязкости растворов, молекулярных величин, морфологические строения, а также биологические свойства (противоспаечной, противоожоговой и для восстановительной лицевой челюстной хирургии).

Методы исследования. В исследовании использованы химические методы (щелочно-солевой гидролиз, экстракция, модификация и др.), физико-химические методы определения химического строения соединений (ИК-спектроскопия, хроматография, электрофорез, реология, вискозиметрия, электронная микроскопия, ТГ, ДСК), биологические и фармако-токсикологические методы.

Научная новизна диссертационного исследования состоит в следующем:

установлены оптимальные условия щелочно-солевого гидролиза выделения из кож сырья крупного рогатого скота коллагена с сохранением трехспиральной структуры.

на основе композиции коллагена и полисахаридов (Na-КМЦ, пектин) путем пластификации глицерином получены биологические активные пленки;

установлено, что пленки, полученные на основе коллагена и полисахаридов, можно использовать в качестве барьерного материала для предотвращения спаивания тканей после операции;

получена ранозаживляющая пленка посредством добавления антисептического препарата хлоргексидина в композицию на основе коллагена и Na-КМЦ.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

разработан метод выделения коллагена из кож сырья крупного рогатого скота, сохраняющий нативную трехспиральную структуру;

установлено, что пленки, полученные пластификацией глицерином на основе композиций коллагена и полисахаридов, являются потенциальными объектами для применения в профилактике после операционных спаек тканей, ожогов и операций на лице и челюсти;

подготовлено нормативно техническая документация для пленки «КолКацел» на основе коллагена, Na-КМЦ и глицерина, которая используется для предотвращения послеоперационных спаек тканей.

Достоверность результатов исследования подтверждается использованием современных физико-химических методов исследования. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием критерия Стьюдента путем расчета достоверного интервала среднего значения. Подтверждением полученных результатов являются оценки экспертов, внедрение результатов исследований, их обсуждение на национальных и международных конференциях, публикация результатов в рецензируемых научных публикациях и патентом.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследования заключается в том, что предложен способ получения пленки на основе водной массы коллагена и полисахаридов (Na-КМЦ и пектина), методы получения композиций в нейтральной среде без использования органических растворителей, установлена сохранение нативной структуры коллагена в составе пленки, установлены назначение полученных образцов пленки для использования после операционных спаек, лечения ожогов и устранения дефектов лица и челюсти.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что с использованием метода выделения водной массы коллагена, установлен способ получения пленок на основе композиций с полисахаридами. Предложенные методы, а также выявленные механизмы могут быть использованы для создания средств в виде мазей, гелей и пленок на основе коллагена. Результаты исследования позволили создать средство на основе коллагена, обладающее свойствами предотвращения послеоперационных спаек, лечения ожогов и устранения дефектов лица и челюсти.

Внедрение результатов исследования. На основе результатов научных исследований получения пленок, на основе композиций коллагена и

полисахаридов (Na-КМЦ и пектин) и установления их биологической активности при спайках, ожогов и лицевой хирургии:

результаты, полученные по щелочно-солевому гидролизу кожи, нейтрализации, буферной экстракции, проведению второго гидролиза в течение 60-120 минут, были применены в проекте ФА-И11-Т010 «Организация производства гемостатического покрытия “ТЕМОГУБКА” на основе коллагена. (справка №4/1255-1150 Академии наук Республики Узбекистан от 4 июня 2020 года). Результаты дали возможность получения гемостатического покрытия “ТЕМОГУБКА” на основе субстанции водной массы коллагена;

композиции полученные на основе коллагена и полисахаридов была использована для получение композиции на основе полисахаридов в проекте «International Science and Technology Center Projects» Синьцзянском институте физики и химической техники Китайской Академии наук (справка Синьцзянского института физики и химической техники КАН). Результаты дали возможность получение новых биологически активных композиции на основе полисахаридов.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены на 3 зарубежных и 4 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликованы 15 научных работ. Из них 5 научных статей, в том числе 5 в республиканских научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан, получен 1 патент и подано 2 заявки на получения патентных изобретений.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, выводов, списка использованной литературы приложений. Объем диссертации составляет 97 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность и востребованность темы, цели и задачи, а также объекты и предметы, приведено соответствие диссертационной работы направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, новизна и практическая значимость исследования, достоверность полученных результатов, внедрения результатов, опубликованность и структура диссертации.

В первой главе диссертации под названием «Состав и строение коллагена, методы выделения, получение композиции на основе коллагена и полисахаридов, современные исследования об их биологической активности» проанализированы научные исследования по теме диссертации и степень изученности проблемы, приведен состав и структура коллагена, выделение коллагена, применение коллагена в

медицине, получение биоматериалов на основе коллагена и полисахаридов, механизмы образования спайки, препараты, полученные на основе коллагена против ожога, результаты современных исследований по биологической активности пленок, на основе коллагена и полисахаридов.

Во второй главе диссертации «Выделение коллагена, получение композиций на основе коллагена и полисахаридов, физико-химические и биологические методы их исследования» приведены этапы проведения исследований, материалы и методы использованные при их выполнении, а именно, выделение коллагена из кожи крупного рогатого скота щелочно-солевым методом, установление его молекулярных параметров и структуры, получение композиций (Na-КМЦ и пектин) на основе коллагена и полисахаридов, определение физико-химических показателей композиций, выбор оптимального метода получения пленок на основе полученных показателей и определение их физико-химических характеристик, методы установления биологической активности образцов пленок.

В третьей главе «Выделение коллагена, получение композиций на основе коллагена и полисахаридов, их физико-химические свойства» приведен результаты по выделению коллагена из кожи крупного рогатого скота с различным временем гидролиза, их аминокислотный состав, установление молекулярной массы и вязкости, получение композиций на основе коллагена и полисахаридов, определение их физико-химических свойств, получение пленок на основе композиций, результаты по изучению исследования их структуры и физико-химических свойств.

При получении медицинских препаратов на основе коллагена важную роль играет сохранение его природной структуры. Проведены многочисленные исследования по получению коллагена из кожвенного сырья, они и продолжаются по сей день. Учеными Института Биоорганической химии (Тураев А.С., Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Раджабов О.И.) разработан «Метод получения субстанции коллагена» из кожи крупного рогатого скота и на основе субстанции коллагена получена гемостатическая губка «Гемогубка» для предотвращения паренхиматозных кровотечений. В процессе обезжоживания коллагена вторым гидролизом в течении 60 минут, получена водная масса, содержащая 4-6% коллагена. С целью получения композиционного биоматериала с более оптимальными физико-механическими свойствами на основе водной массы коллагена, полученной по данной технологии, продолжительность второго гидролиза составляет 60 мин и в результате получена водная масса, содержащая 5,5-6,2% коллагена. В связи с низкой текучестью технологической стороны водный массы коллагена и трудностью ее формования требовалось проведения исследования по определению времени второго щелочно-солевого гидролиза для выделения коллагена.

В исследованиях для получения композиционный пленки с оптимальными физико-механическими свойствами из водной массы коллагена был проведен

гидролиз в течение 60, 80, 90, 120 минут при температуре 18-23°C. Результаты исследования представлены в табл.1.

По результатам приведенной в табл. 1 видно, что при увеличении продолжительности времени второго гидролиза относительная плотность коллагена и его количество в водной массе уменьшается в порядке 5,5-6,2>4,8-5,5>4,2-4,6>3,8-4,1. Так, относительные плотности образцов с временем гидролиза составили: 60 мин 0,295-0,319 г/см³, 80 мин - 0,280-0,293 г/см³, 90 мин - 0,262-0,278 г/см³ и 120 мин - 0,246-0,257 г/см³.

Таблица-1

Физико-химические параметры водной массы коллагена

№	Время второго гидролиза, мин.	Количество коллагена в водной массе (г, %)	Относительная плотность (г/см ³)	Растворимость в 6%-ной уксусной кислоте
1	60	5,5-6,2	0,295-0,310	растворим
2	80	4,8-5,5	0,280-0,293	растворим
3	90	4,2-4,6	0,262-0,278	растворим
4	120	3,8-4,1	0,246-0,257	растворим

Одной из величин доказывающий сохранения трехспиральной структуре коллагена является характеристическая вязкость. Согласно литературным данным характеристическая вязкость нативного коллагена сохраненной структуры равно 11, а при денатурации это значения имеет 0,1.

Поэтому, нами исследовано влияние времени второго гидролиза на характеристическую вязкость коллагена (рис. 1)

Для коллагена выделенного после 60 минут второго гидролиза значение характеристической вязкости составляет $[\eta]=15,15$. С увеличением времени второго гидролиза наблюдалось уменьшения значения характеристической вязкости следующим образом, 80 мин $[\eta]=12,35$, 90 мин $[\eta]=11,42$ и 120 мин $[\eta]=11,02$ соответственно.

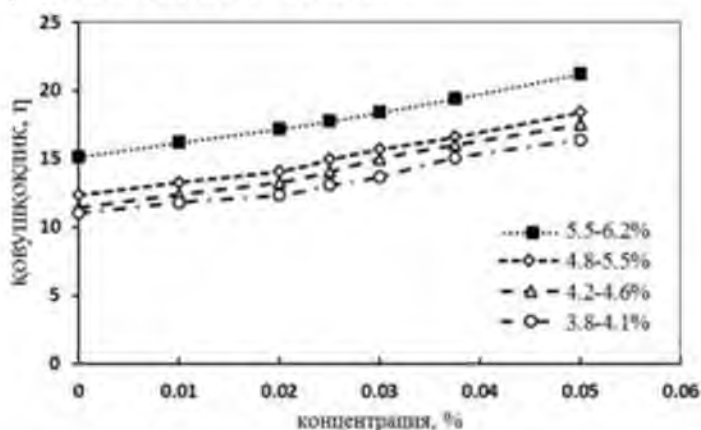


Рис.1. Характеристические вязкости коллагена в растворах 6%-ной уксусной кислоты полученные при различных времени вторичного гидролиза

Во всех проведенных экспериментах доказано, что коллаген сохраняет нативную структуру. Однако, с увеличением времени гидролиза при выделение происходит уменьшение выхода коллагена. Это объясняется тем, что при гидролизе наряду с разрывом не спиральных участков коллагена,

также происходит разрушение нативной структуры. По этим причинам, оптимальным временем второго гидролиза выбрано 80 мин.

В продолжении наших исследований сравнительно изучалось разнообразие аминокислотного состава и их количества в составе коллагена выделенной из кожи крупного рогатого скота с аналогичными литературными данными по методом ВЭЖХ. При этом установлено, что количество аминокислот почти не различаются.

По литературным данным, молекулярная масса коллагена с трехспиральной структурой составляет в пределах 300 кДа. Для определения молекулярную массу коллагена был использован метод электрофорез (рис.2).

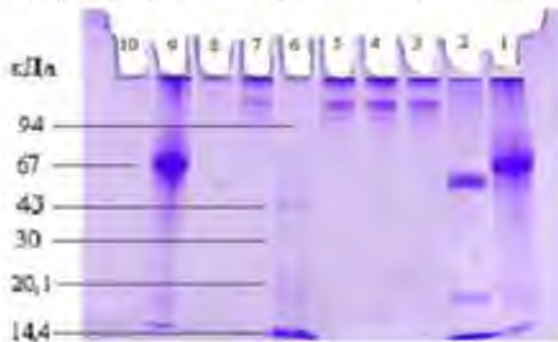


Рис.2. Электрофорез на полиакриламидном геле образцов коллагена: 3, 4, 5, 7, 8 – образцы коллагена; 6-st (94;67;43;30;20,1;14,4 кДа

На основании полученных результатов было определено, что средняя молекулярная масса всех образцов коллагена составляет 90-110 кДа. Поскольку макромолекулы коллагена состоят из трех α -цепей, каждый из которых имеет молекулярную массу α -цепи 100 кДа, можно сделать вывод, что в общей сложности выделенный нами коллаген имеет молекулярную массу 270-330 кДа.

Из-за высокой вязкости водной массы коллагена, из него невозможно получить биоматериал. Поэтому в нашем исследовании проводились исследования для получения композиции совместимыми биополимерами с коллагеном. В качестве биополимеров были выбраны полисахариды Na-КМЦ и цитрусовый пектин. В результате проведенных исследований получена текучая композиция состоящей из смеси коллаген-полисахарид, без применением органических растворителей, прибавлением сухих полисахаридов к водной массе коллагена в нейтральной среде (табл. 2).

Таблица-2

Свойства композиций коллагена и полисахаридов (Na-КМЦ и пектин)

№	Коллаген, г	Na-КМЦ, г	Среда, pH	Вязкость, [η]
1	1	-	6.7	Не текучий
2	0.8	0.2	6.9	22606
3	0.7	0.3	7.4	236
4	0.6	0.4	7.6	81.48
Смеси коллаген/пектин				
5	0.8	0.2	6.4	318
6	0.7	0.3	6.0	45.69
7	0.6	0.4	5.2	Жидкий раствор

Согласно полученным результатам, с увеличением количества полисахаридов относительно массы коллагена в образцах композиции наблюдалось переход от состояния набухания водной массы коллагена на гомогенную однородную массу и уменьшение вязкости.

Также при изучении pH среды в смеси коллаген/полисахарид полученной в разных соотношениях; с увеличением количества Na-КМЦ в полученных композициях по коллагену наблюдалось увеличения pH среды. Но, в композициях полученные на основе коллаген/пектин кислотность среды увеличивается при увеличении количества пектина. Это объясняется тем, что использованные в композиции Na-КМЦ (СП-530, СЗ-85) имел pH=8,2 а цитрусовый пектин (содержание $-OCH_3$ групп 65%) имел pH=4,6.

Изменения структуры коллагена в составе композиции изучали с помощью методом ИК-спектроскопии (рис.3).

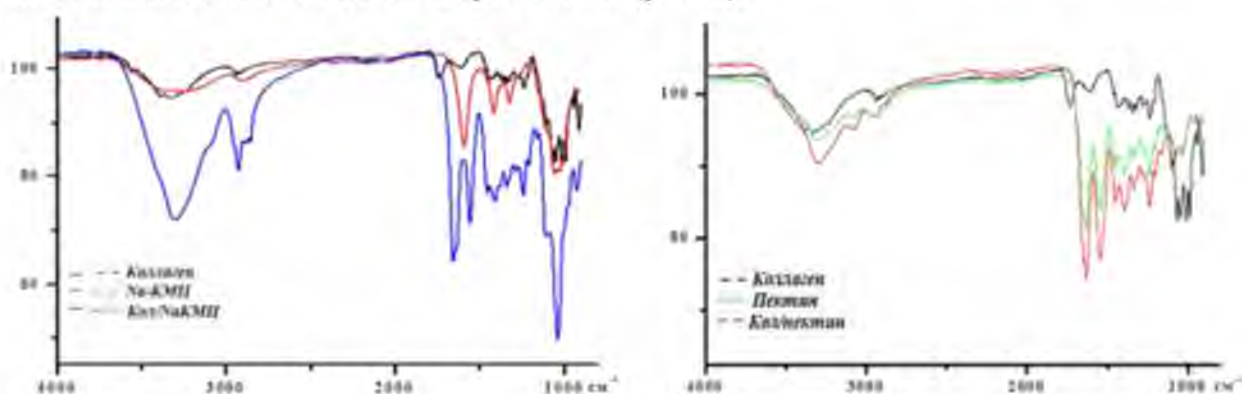


Рис.3. ИК-спектры пленок на основе коллагена

Поглощение свободных и амидных I, II, III N-H групп, участвующих в водородных связях, в ИК-спектрах коллагена обнаружено в областях 3326, 1635, 1552 и 1261 cm^{-1} . В ИК спектрах композиций коллаген/полисахарид наблюдались изменения в областях поглощения, специфичных для этих групп. В частности, для коллаген/Na-КМЦ эти поглощения наблюдались в областях 3396, 1668, 1557, 1259 cm^{-1} соответственно. Это указывает на образование ионных и водородных связей между активными реакционными центрами коллагена и полисахаридов.

Из литературе известно, что температура денатурации коллагена в растворе составляет 39°C, но было установлено, что в полученном композиции с добавлением полисахаридов, его термическая стабильность увеличивается, а вязкость уменьшается. Поэтому, в ходе наших исследований была изучена температурная зависимость реологических свойств композиций на основе коллагена и полисахаридов. В рисунках 4 и 5 приведены реологические свойства композиций на основе коллагена и полисахаридов (Na-КМЦ ва пектин).

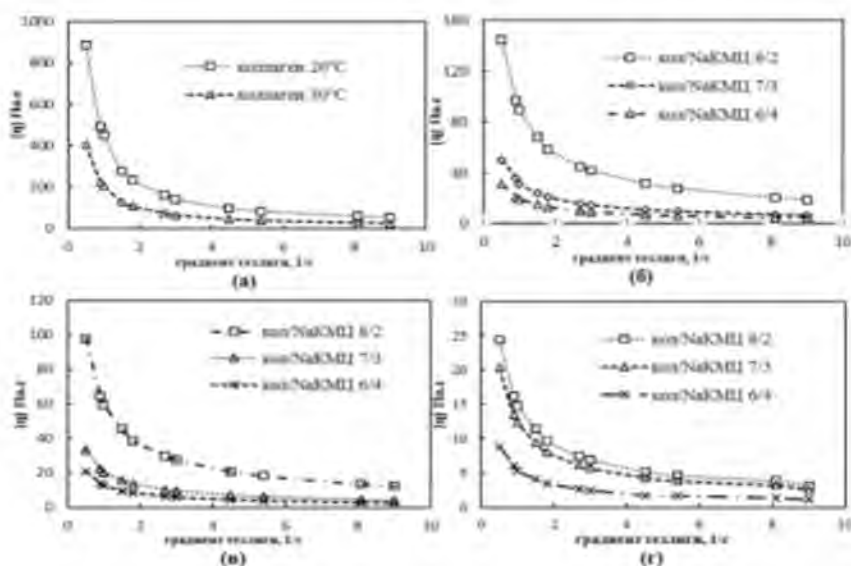


Рис.4. Эффективные вязкости коллагена 20⁰С, 30⁰С, (а) и коллаген/Na-КМЦ (8/2, 7/3, 6/4) 20⁰С (б), 30⁰С (в), 40⁰С (д)

Величина эффективной вязкости коллагена при температуре 20⁰С и 30⁰С высокая (рис. 4, а), что объясняется тем, что в этих условиях сохраняется нативная структура коллагена. но в результате денатурации коллагена при температуре 40⁰С, не было возможность определить эффективную вязкость. При увеличении количества Na-КМЦ в водной массе коллагена вязкость композиции уменьшается, а термическая стабильность увеличивается (рис. 4. б,в,г).

Также, была изучена температурная зависимость реологических свойств композиций на основе коллаген/пектин (рис.5).

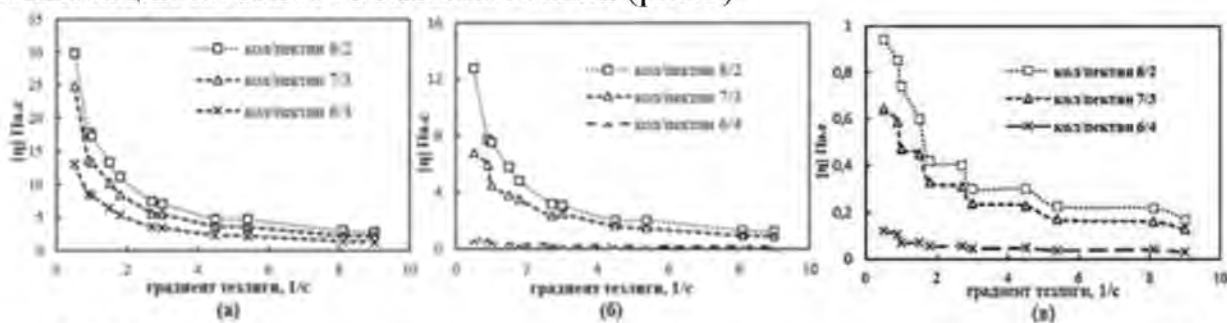


Рис.5. Эффективная вязкость композиций на основе коллаген/пектин (8/2, 7/3, 6/4) при 20⁰С (а), 30⁰С (б), 40⁰С (в).

Как видно из рис.5., при добавлении пектина в водную массу коллагена увеличивается термическая стабильность, уменьшается эффективная вязкость. Установлено, что вязкая текучесть композиций коллаген/пектин ниже чем эффективная вязкость композиций коллаген/Na-КМЦ. Эффективная вязкость композиций по отношению к коллагену сохраняется при 40⁰С.

На следующем этапе нашего исследования были проведены исследования по получение пленки из композиций на основе коллагена и полисахаридов. Сначала получены пленки на основе коллагена. Но их имели неравномерную

полость, оказались толстыми и не имели эластичность. При полечении пленок на основе жидкой текучей массы приготовленной прибавлением полисахаридов: Na-КМЦ и пектина в водную массу коллагена, они имели равномерной плоскости и эластичные свойства. Но, физикомеханические свойства пленок на основе коллаген/полисахарид не всегда отвечают требованиям. Так, они имели низкую эластичность, пленки были толстыми и грубыми. Для устранения этих недостатков при получении пленок в состав композиции добавлена глицерин как пластификатор.

Установлена толщина образцов пленок полученные добавлением глицерина в различных количествах в композиции на основе коллагена и полисахаридов (табл. 3).

Таблица-3

Толщине пленок полученные на основе коллагена и полисахаридов

Образцы	Толщина,мкм	Образцы	Толщина, мкм
Коллаген	57	Коллаген	57
Коллаген/Na-КМЦ 8/2	14	коллаген/пектин 8/2	13
Коллаген/Na-КМЦ 7/3	12	коллаген/пектин 7/3	12
Коллаген/Na-КМЦ 6/4	11	коллаген/пектин 6/4	10

Как видно из таблицы, после засухания водной массы коллагена образовался толстая пленка, который превратился в твердую и хрупкую. Толщина уменьшился за счет хорошей текучести и формирование плоскую поверхность после высыхания композиций на основе коллаген/Na-КМЦ и коллаген/пектин. Средняя толщина пленок коллаген/Na-КМЦ 7/3 составляет 14 мкм и для коллаген/пектин 8/2, 13 мкм.

Изучена физико-механические свойства различных пленок, а также их прочность.

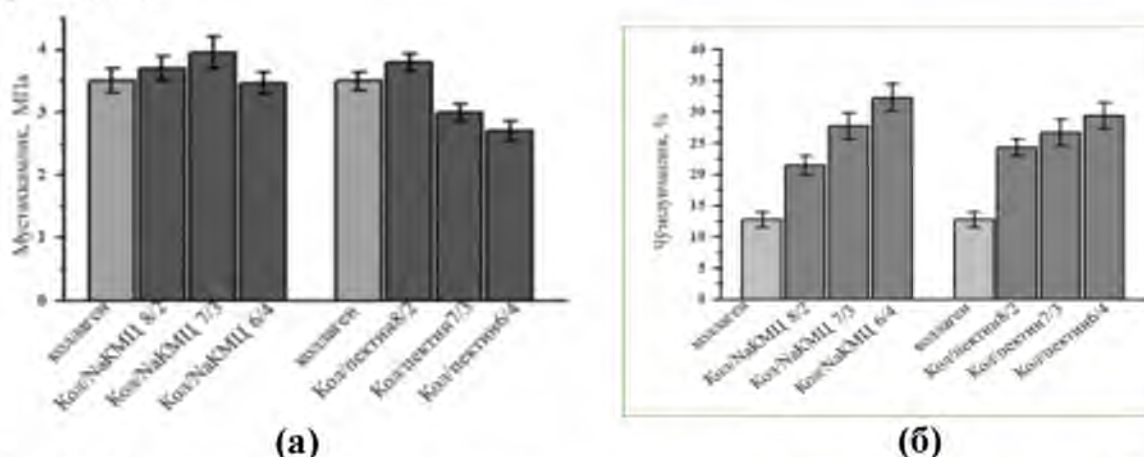


Рис.6. Прочность и удлинение пленок на основе коллагена и полисахаридов. Данные сравнены с средним \pm стандартным значением пленок полученные на основе коллагена – $p \leq 0,05$, (n = 6).

Как видно из рис.6., самое высокое значение прочности наблюдалось в пленках, полученных добавлением глицерина к композициям в соотношениях коллаген/Na-КМЦ 7/3 (3,95 МПа) и коллаген/пектин 8/2 (3,9 МПа). При

увеличении количества Na-КМЦ, пектин и глицерин в составе композиций, обнаружена уменьшение прочности плёнок. Прочность пленок на основе коллаген/Na-КМЦ 6/4 и глицерина составляет 3.47 МПа, а для пленок на основе коллаген/пектин в соотношениях 7/3, 6/4 и добавлением глицерина, составляет 3.0 МПа и 2.7 МПа, соответственно.

Удлинение пленок на основе коллагена составляет 17%, при увеличении количества глицерина значение удлинение также увеличивается.

В ходе исследования изучалось влияние содержания глицерина на удлинение пленок. Образцы пленки были взяты путем добавления различного количества глицерина к массе коллагена, но во время процесса сушки наблюдалось выделение глицерина на поверхность пленки, и было обнаружено, что удлинение пленки не превышало 17%. При увеличении количества глицерина добавленного к композициям коллаген/полисахарид, значение удлинение пленок, полученных на его основе, увеличилось. На основании полученных результатов определения удлинение образцов пленки, как наиболее оптимальный составом были выбраны пленка с 17% глицерина, добавленной к отношению коллаген/Na-КМТ 7/3 (удлинение 27,8%), и пленка с 17% глицерина, добавленной к соотношению коллаген/пектин 7/3 (удлинение 26,7%).

А также, с помощью АСМ (Атомно-силовой микроскоп) были изучены структура поверхности полученных пленок и изменения коллагеновых волокон (рис. 7).

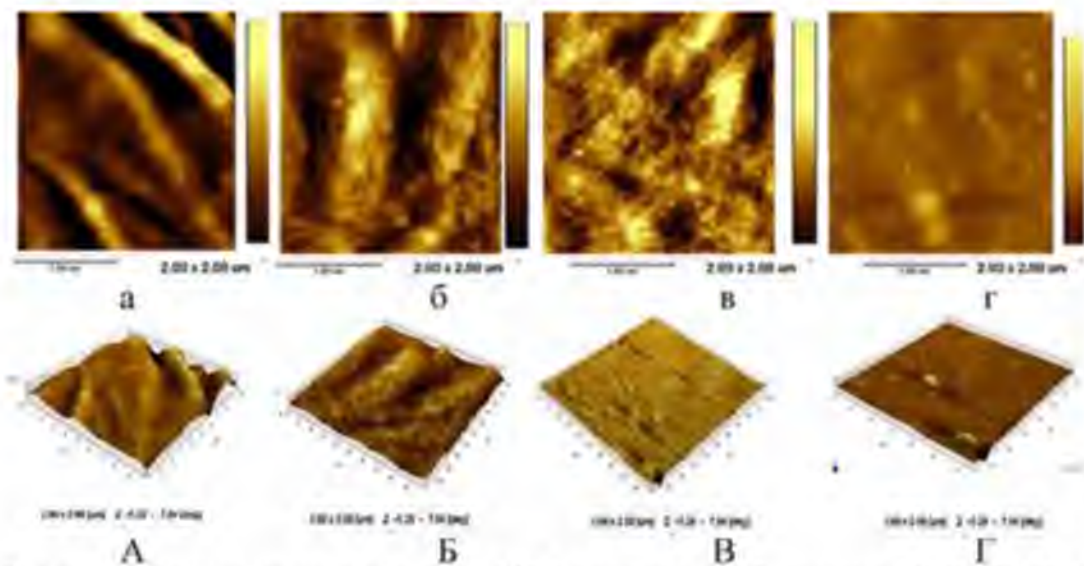


Рис.7. Фазовое состояние пленок снятое на АСМ: коллаген (а), (б) коллаген/Na-КМЦ 8/2, (в) коллаген/Na-КМЦ 7/3, (г) коллаген/Na-КМЦ 6/4 (2.00x2.00 μm). 3D фотографии АСМ: коллаген (А), коллаген/Na-КМЦ 8/2 (Б), коллаген/Na-КМЦ 7/3 (В), коллаген/Na-КМЦ 6/4 (Г)

Как видно из рисунки-7, в пленке полученного из водной массы коллагена (а), состоит из фибриллярных волокон коллагена. В пленке полученной на основе коллаген/Na-КМЦ при соотношении 8/2, фибриллы коллагеновых волокон утолщаются в результате проникновения Na-КМЦ волокна

увеличиваются и распространяются (б). В пленке полученной на основе коллаген/Na-КМЦ при соотношении 7/3, фибриллы коллагеновых волокон увеличиваются и равномерно распределяются вследствие набухания, и волокна распределяются по размеру пленки (в). При соотношениях коллаген/Na-КМЦ 6/4 было обнаружено, что вследствие полного растворения волокон коллагена разрушается фибриллярность (г).

В 3d структуре АСМ можно увидеть, что поверхностные части пленок полученного из коллагена, неравномерны (А), в образцах пленки полученных на основе композиции коллаген/Na-КМЦ поверхностной части выравниваются (Б). В частности, в пленках с соотношением коллаген/Na-КМЦ 8/2 фибриллярные волокна слегка сплющены и набухшие (Б), в пленках с соотношением коллаген/Na-КМЦ 7/3 на поверхности пленки фибриллярные волокна выравнены (С), в пленках в соотношении 6/4 коллаген/Na-КМЦ поверхность ровная (Г).

Также, с использованием методом СЭМ (сканирующей электронной микроскопии) были изучены пленки полученного на основе композиции коллаген/пектин. Результаты показали, что поверхность пленки, полученной из водной массы коллагена, неровной, волокна фибрилл наложены друг на друга и сформированы в виде плотной выпуклости. Фибриллярные волокна на поверхности пленки, полученные в соотношении коллаген/пектин 8/2, разделены на небольшие части, поверхность пленки относительно плоская и равномерно распределена. Поверхность пленки, полученная из композиций коллаген/пектин 7/3 и коллаген/пектин 6/4 найдена однородная, плоская поверхность.

В результате вышеуказанных исследований было доказано, что образцов пластифицированной пленки с добавлением 17% глицерина к композициям соотношениях коллаген/Na-КМЦ 7/3 и коллаген/пектин 8/2 оказалось наиболее оптимальными по физико-механическим свойствам.

В четвертой главе диссертации, **«Биологическая активность полученных пленок на основе коллагена»**, представлены результаты исследований по предотвращению пленок на основе коллагена и полисахаридов послеоперационных спаек, биорассасываемости в организме, ранозаживляющей активности и фармакотоксикологических свойств.

Противоспаечная активность после хирургических операции и токсикологические свойства пленки на основе коллагена исследованы в лаборатории «Фармакология» Института биоорганической химии, противоожоговая активность изучена в лаборатории «Фармакология и токсикология» Института химии растений, активность пленок в челюстно-лицевой хирургии изучено в сотрудничестве с сотрудниками кафедры «Морфологии» Ташкентского государственного института стоматологии.

Биорассасываемость пленок была изучена на крысах путем кратковременной имплантации в подкожных тканях. В результате было

обнаружено, что пленки коллаген/NaКМЦ 7/3 и коллаген/пектин 8/2 полностью рассасывались через 3 недели.

Исследования пленки по предотвращению спаек были изучены на крысах. Результаты представлены ниже в таблице 4 и на рисунке 8.

Таблица 4

Распределения баллов по шкале спайкообразования образцов пленок в условиях *in vivo* (n=6)

	Шкалы оценки, балл						Сумма баллов	M±m*
	0	1	2	3	4	5		
Контроль	1	1	0	0	2	2	19	3,17±0,87
Кол/NaКМЦ 70/30 (П-1)	6	0	0	0	0	0	0	0
Кол/пектин 80/20 (П-2)	4	2	0	0	0	0	2	0

n=6; *p=0,005



Рис.8. Фотографии контрольной группы подопытных крыс (К-3) и с применением пленок (П-1 кол/NaКМЦ, П-2 кол/пектин 80/20)

Как видно из приведенной таблицы и рисунка, у одного из животных контрольной группы спайка не была сформирована, но у одного была сформирована тонкая (1 балл), толстая (4 балла) и очень толстая (5 баллов) спакообразования. В группе которой была нанесена пленка П-2 у двух животных в купольной части слепой кишки образовалась тонкопленочная спайка (1 балл). У остальных животных спайка не наблюдалась. У всех животных, на которых была нанесена пленка П-1, спайка не образовывалась (p=0,005 относительно контрольной группы), и раневая поверхность полностью восстанавливала свою структуру. Небольшое количество прозрачного геля наблюдалось на раневой поверхности животных второй и третьей групп. Полученные результаты, на основе этого метода показали, что противоспаечная активность была в 2,5 раза выше, чем у зарубежного препарата Seprafilm™.

В целях изучения противожоговой активности пленок получены пленки с добавлением хлоргексидина в различных соотношениях. Исследования были проведены на крысах с искусственным введением ожогов. В качестве препарата сравнения использован Левомеколь. Полученные результаты

показали, что у животных контрольной группы обожженная поверхность кожи заживает через 48,8 дней, при использовании левомекола - через 32,5 дня, а в группе пленок - через 26-30 дней.

Морфологические исследования биорассасываемости пленки при использовании после операции показали, что она не является побочным и не относится постороннему веществу. Пленка не имеет побочных реакций на ткани и не обладает противовоспалительными свойствами. Было обнаружено, что эта пленка имеет тенденцию соединять структуры в дерму кожи и слоя раны. Полученные данные свидетельствуют о возможности применения для оптимизации хирургического лечения врожденных расщелин твердого неба и ускорения процессов регенерации послеоперационной раны.

Кроме того, была изучена острая токсичность пленок и обнаружено, что значение LD₅₀ составляет ≥ 10000 мг/кг.

В результате проведенных исследований пленка на основе коллаген/Na-КМЦ 7/3 выбран как самый эффективный по физико-химическим, биологическим и фармакологическим свойствам, и назван «КолКацел» для профилактики спайек и лечения ран образующихся в результате ожога. Разработаны методы стандартизации и технология разработки для препарата «КолКацел», а также получен патент на изобретение.

ВЫВОДЫ

1. Установлено оптимальное условие выделения водной массы коллагена без сопутствующих веществ, из кожи крупного рогатого скота, методом щелочно-солевого гидролиза, сохраняющий природную трехспиральную структуру и рекомендовано проведение вторичного гидролиза после буферной экстракции, в растворе 5 % NaOH и 80 г/л Na₂SO₄, в течение 80 минут.

2. Исследована химическая совместимость коллагена с полисахаридами -Na-КМЦ и цитрусовым пектином, при различных соотношениях и установлено, что увеличение содержания Na-КМЦ и пектина в композиции приводит к разрушению фибриллярной структуры коллагена, за счет глубокого взаимодействия между макромолекулами и потери трехспиральной структуры коллагена.

3. Исследована принципиальная возможность формирования пленок из композиций, полученных при различных соотношениях коллаген: полисахарид, установлено, что при массовых соотношениях коллаген:Na-КМЦ=7:3 и коллаген:пектин=8:2, полученные композиции химически совместимы и позволяет формирование пленок на их основе, с сохранением фибриллярной структуры исходного коллагена.

4. С целью получения пленок, с соответствующими эксплуатационными свойствами (разрывная прочность, удлинение, гибкость и другие), исследована пластификация композиций с глицерином и установлено, что

глицерин в составе композиции при содержании 17 массовых % от водной композиции позволяет формирование пленок на их основе, пригодных для хирургических целей. Пленки, сформованные из композиций, полученных при соотношениях коллаген:Na-КМЦ = 7:3 и коллаген:пектин=8:2, содержащие 17 массовых % глицерина, имеют прочность 3,95 и 3.9 МПа, удлинение 27,8 и 26,7%, соответственно. Прочностные показатели полностью обеспечивают применение их в хирургической практике.

5. Проведены фармако-токсикологические исследования пленок показали, что пленки, имплантированные в живой организм, проявляют биосовместимость, не обладают побочными действиями на организм, полностью рассасываются в живом организме в течение 15-20 дней в зависимости от толщины пленок, также установлена, что через 10 суток на месте имплантации наблюдается образование собственных коллагеновых фибрилл.

6. Впервые разработана хирургическая пленка под товарным названием «КолКацел», которая рекомендована для применения в качестве противоспаечного материала, при абдоминальной хирургии, средства для хирургического лечения врожденных расщелин твердого неба, ранозаживляющего изделия в сочетании с хлоргексидином (содержание хлогексидина 0,05 %) при гнойных ранах и при ожогах.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 AT THE INSTITUTE OF BIOORGANIC
CHEMISTRY**

INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY

MUYDINOV NURILLO

**CREATION OF ANTI ADHESION COMPOSITIONS BASED ON
COLLAGEN AND CARBOXYMETHYLCELLULOSE**

02.00.10 – Bioorganic chemistry

**DISSERTATION ABSTRACT
FOR THE DOCTOR OF PHILOSOPHY ON CHEMICAL SCIENCES (PhD)**

Tashkent - 2020

The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B2017.3.PhD/K71.

The dissertation has been prepared at the Institute of Bioorganic chemistry.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council (www.biochem.uz) and on the website of «Ziyonet» information and educational portal (www.ziyonet.uz).

Scientific supervisor:	Turaev Abbaskhan Sabirkhanovich doctor of chemical sciences, academician
Official opponents:	Babaev Baxrom Nurillaevich doctor of chemical sciences
	Tulaganov Abduqodir Abdurahmonovich doctor of pharmaceutical sciences, professor
Leading organization:	Tashkent Institute of Chemical Technology

Defense will take place on _____ 2020 year ____ at the meeting of the Scientific council DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 of the Institute of Bioorganic Chemistry. Address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262-35-40, Fax: (99871) 262-70-63).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Institute of Bioorganic Chemistry (Address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262 35 40, Fax: (99871) 262 70 63)., e-mail:shsha@mail.ru).

Abstract of the dissertation is distributed on «__» _____ 2020.
(protocol at the register No _____ dated ____ 2020).

Sh.I.Salikhov
Chairman of scientific council on award of
scientific degrees, D.B.Sc., academician

Sh.A.Shomurotov
Acting Scientific secretary of scientific council on award of
scientific degrees, D.Ch.Sc.

M.B.Gafurov
Chairman of scientific seminar under scientific council
on award of scientific degrees, D.Ch.Sc.

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of the research work is obtaining a film product based on the composition of collagen and polysaccharide, the study of their biological activity.

The objects of the research work include the water mass of collagen extracted from the skin of raw cattle, Na-CMC (DP 530, DS 85), citrus pectin ($-OCH_3$ group content 65%), glycerin, compositions based on collagen/Na-CMC and collagen/pectin.

Scientific novelty of the research work:

the optimal conditions for alkaline-salt hydrolysis for the extrusion of collagen with a three-helix structure from the skin of raw cattle are established;

based on the composition of collagen and polysaccharides (Na-CMC, pectin) plasticized with glycerol and biological active films were obtained;

it was found that films obtained on the basis of collagen and polysaccharides can be used as a barrier material to prevent adhesion of tissues after surgery;

a wound healing film was obtained by adding an antiseptic preparation of chlorhexidine in a composition based on collagen and Na-CMC.

Implementation of the research results. On the basis of scientific results obtained on the study of composite films based on collagen and polysaccharides (Na-CMC and pectin) and their biological activity in adhesions, burns and face-jaw surgery:

the results obtained on alkaline-salt hydrolysis of the skin, neutralization, buffer extraction, the second hydrolysis within 60-120 minutes were applied in the FA-I11-T010 project “Organization of the production of hemostatic coatings “ТЕМОГУБКА” based on collagen” for production of collagen from the skin of cattle from alkaline-salt hydrolysis, which retains its natural structure (Reference No. 4/1255-1150 of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan dated June 4, 2020). The results made it possible to obtain a hemostatic coating “ТЕМОГУБКА” based on the substance of the collagen water mass;

collagen and polysaccharide-based compositions were used to obtain polysaccharide-based compositions in the International Science and Technology Center Projects project of the Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry of Chinese Academy of Sciences (reference from the Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, CAS). The results made it possible to obtain new biologically active compositions based on polysaccharides.

The structure and volume of the thesis. The content of the dissertation consists of introduction, four chapters, conclusions, list of references and appendices. The volume of the dissertation is 97 pages.

ЭЪЛОН КИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Муйдинов Н.Т., Раджабов О.И., Халилова Г.А., Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Тураев А.С. Биополимерная композиция для лекарственных пленок // Доклады Академии наук РУз. 2017. №6. С.52-56. (02.00.00. №8).

2. Гулямов Т., Раджабов О.И., Атажанов А.Ю., Муйдинов Н.Т., Халилова Г.А., Тураев А.С. Способ выделения коллагена и создание препаратов на его основе пленок // Доклады Академии наук РУз. 2017. №6. С.52-56. (02.00.00. №8).

3. Муйдинов Н.Т., Халилова Г.А., Раджабов О.И., Гулямов Т., Тураев А.С. Исследование процесса получения водорастворимых композиций на основе коллагена и природных биоматериалов // Узбекский химический журнал. Ташкент. 2018. № 6. –С.59-63. (02.00.00. №6).

4. Муйдинов Н.Т., Раджабов О.И., Халилова Г.А., Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Тураев А.С. Коллаген асосида олинган плёнкаларнинг структурасини ва реологик хоссаларини ўрганиш // Фармацевтика журнали. Тошкент. 2018. №3. –Б.69-72. (02.00.00. №2).

5. Муйдинов Н.Т., Фомина М.А., Раджабов О.И., Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Тураев А.С. Оценка противовоспалительной активности *in vivo* коллагеновых пленок 1 и 2 // Инфекция, иммунитет и фармакология. Ташкент. 2020. №2. –С.87-91.

6. Патент РУз № IAP 05873. Гулямов Т., Муйдинов Н.Т., Атажанов А.Ю., Жумаева Ш.Х., Шомуротов Ш.А., Раджабов О.И., Тураев А.С. «Способ получения аппликационного средства». 20.06.2019. // Расмий ахборотнома. –2019. –№7.

II бўлим (II часть; Part II)

1. Муйдинов Н.Т., Шомуротов Ш.А., Раджабов О.И., Гулямов Т., Тураев А.С. Коллагенни диальдегид карбоксиметилцеллюлоза билан модификациялаш // Ёш олимлар ахборотномаси. Тошкент, 2018. №2(1). –Б.52-64.

2. Муйдинов Н.Т., Гулямов Т., Раджабов О.И., Баратов К.Р., Атажанов А.Ю., Тураев А.С. Противовоспалительная активность пленок на основе коллагена // Актуальные проблемы химии природных соединений. Ташкент, 2019. –С. 111.

3. Муйдинов Н.Т., Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Султонов М.С. Получение ранозаживляющего препарата на основе биополимеров // Ёш олимлар-илмий амалий конференция. Тошкент. 2015. –Б. 346-347.

4. Билдириш хати. Талабноманинг қайд рақами: № IAP 20180588. Гулямов Т., Муйдинов Н.Т., Атажанов А.Ю., Раджабов О.И., Тураев А.С. «Способ получения комбинированного биоматериала на основе коллагена и пектин» // Хужжат келиб тушган сана: 05.12.2018.

5. Билдириш хати. Талабноманинг қайд рақами: № IAP 20180857. Гулямов Т., Халилова Г.А., Муйдинов Н.Т., Атажанов А.Ю., Раджабов О.И., Тураев А.С. «Способ получения комбинированного биоматериала» // Хужжат келиб тушган сана: 05.12.2018.

6. Муйдинов Н.Т., Раджабов О.И., Гулямов Т., Тураев А.С. Полимерные пленки на основе коллагена // Международная научная конференция «Лекарственные препараты на основе природных соединений» Ташкент. 2018. –С.30-31.

7. Muypdinov N.T., Radjabov O.I., Gulyamov T., Turaev A.S., Atadzhanov A.Yu., Khasanov Sh.M., Yuldashev U.A. Studying role of collagen-film in the wound healing process // XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Shangai. 2019. –P.152.

8. Раджабов О.И., Гулямов Т., Муйдинов Н.Т., Атажанов А.Ю., Тураев А.С. Изучение процесса обезвоживания коллагена // Международная конференция молодых ученых «Наука и инновации». Ташкент. 2019. –С. 290-291.

9. Муйдинов Н.Т., Раджабов О.И., Гулямов Т., Тураев А.С. Полимерные плёнки на основе коллагена // Сборник тезисов международной научной конференции «Лекарственные препараты на основе природных соединений». Ташкент. 2018. –С. 30-31.

Автореферат «Ўзбекистон кимё журнали» тахририятида тахрирдан
ўтказилди.

Босишга рухсат этилди 08.06.2020 й. Бичими 60x84 1/16 Офсет қоғози. Ризограф усулда.
Times гарнитураси. Шартли босма табағи 2.75.
Адади 10 нусхада. Буюртма № 15/08.

“IMPRESS MEDIA” МЧЖ босмахонасида чоп этилди. Манзил: Тошкент ш., Қушбеги
кўчаси, 6 уй.

