ISNN 3030-3907

2026
JUNE
ISSUE - 6
VOLUME -8

DEVELOPMENT OF SCIENCE

scientific journal



Development of science

Ilmiy jurnal

IYUN 2026
Issue - 6, VOLUME – 8

ISSN 3030 -3907

Ilmiy jurnal OAK rayosatining 2024 yil 27 sentabrdagi 361-son qaroriga asosan 02.00.00 kimyo fanlari hamda 2025 yil 12 fevral 367- son qaroriga asosan 05.00.00 texnika fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD) va fan doktori (DSc) ilmiy darajasiga talabgorlarning dissertatsiya ishlari yuzasidan dissertatsiyalari asosiy ilmiy natijalarini chop etish tavsiya etilgan milliy ilmiy nashrlar ro‘yxatiga kiritilgan.

BOSH MUHARRIR:
Temirov Alisher Hoshim o‘g‘li – texnika fanlari falsafa doktori (PhD),Dotsent.
TAHRIRIYAT KENGASH RAISI:
Fozilov Sadriddin Fayzullayevich – texnika fanlari doktori, professor
TAHRIRIYAT KENGASH A’ZOLARI

TEXNIKA FANLARI/ TECHNICAL SCIENCES/ ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

Bozorov G‘ayrat Rashidovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor
Abdurahmonov Olim Rustamovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor
Adizov Bobur Zamirovich
O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi Umumiy va noorganik kimyo instituti, professor
Hayitov Ruslan Rustamjonovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor
Jumayev Qayum Karimovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor.
Berdiyev Dorob Murodovich
Islom Karimov nomidagi Toshkent Davlat Texnika Universiteti, professor
Maxmudov Rafiq Amonovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor.
Tilloyev Lochin Ismatilloyevich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Raxmonov Qahramon Sanakulovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Barakayev Nusratullo Rajabovich
Islom Karimov nomidagi Toshkent Davlat Texnika Universiteti, professor.
Jo‘rayev Xayrullo Fayziyevich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor.
Panoyev Erali Rajabboyevich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Ataullayev Sherzod Nabiullyevich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Murodov Malik Negmurodovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Axmedova Ozoda Bahronovna
Islom Karimov nomidagi Toshkent Davlat Texnika Universiteti.
Safarov Bahri Jumayevich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Xaydarov Axtam Amonovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Safarov Jasur Alijon o‘g‘li
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.

KIMYO FANLARI/ CHEMICAL SCIENCES/ ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Axmedov Voxid Nizomovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor
Umarov Baqo Bafoyevich
Buxoro Davlat Universiteti, professor
Kodirov Abduaxad Abduraximovich
Qarshi davlat Universiteti, professor
Qurbonov Mingniqul Jumagulovich
Qarshi davlat Universiteti, dotsent
Turemuratov Sharibay Naurizbaevich
O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi Qoraqalpog‘iston bo‘limi Bosh ilmiy kotibi, professor
Tursunov Kaxor Shonazarovich
Qarshi davlat Universiteti, professor
Do‘stov Hamro
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor
Panoyev Nodir Shavkatovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Olimov Bobur Bahodir o‘g‘li
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Kasimov Sherzod Abduazimovich
Termiz Davlat Universiteti, professor.
Aliqulov Rustam Valiyevich
Termiz Davlat Universiteti, professor
Tropov Xamza Tursunovich
Samarqand Davlat Universiteti, professor

IQTISODIYOT FANLARI/ ECONOMICS/ ЭКОНОМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Nizamov Aslitdin Badreddinovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor.
Boboyev Akmal Choriyevich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor.
Ergashxojayeva Shaxnoza Djasurovna
Toshkent davlat iqtisodiyot universiteti, professor
Saidaxmedova Nodira Ilxomovna
Toshkent davlat iqtisodiyot universiteti, professor
Muxsinov Bekzod Toxirovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Shakarov Qulmat Ashirovich
Renessans ta'lim universiteti,dotsent.
Jumaeva Zulfiya Qayumovna
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Norova Salomat Yusupovna
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Avezova Shaxnoza Maxmudjonovna
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Jalilov Jamshid G‘anijonovich
Toshkent davlat iqtisodiyot universiteti, dotsent
Xasanova Gulruh Djumanazarovna
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.

PEDAGOGIKA FANLARI/ PEDAGOGICAL SCIENCES / ПЕДАГОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Siddiqova Sadoqat G‘afforovna
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Zoyirov Erkin Xalilovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, DSc, professor
Gaffarov Feruz Hasanovich
Puchon Universiteti, *professor*
Ruziyev Davron Yuldashevich
Buxoro Davlat Universiteti, professor
Muradova Firuza Rashidovna
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor.
Yunusova Gulandon Samiyevna
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor.
To‘xtayeva Zebo Sharifovna
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, professor.
Navro‘zova Gulchixra Nigmatovna
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Uzoqova Laylo Polvonovna
Buxoro muhandislik – texnologiya instituti, dotsent.
To‘raqulova Marjona Qiyom qizi
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Muradova Zarina Rashidovna
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Murodov Sanjar Aslonovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent.
Shodiyev Jahongir Jo‘raqulovich
Buxoro Davlat Texnika Universiteti, dotsent
Gaffarov Laziz Hasanovich
Buxoro muhandislik – texnologiya instituti, dotsent.

Tahririyat a’zolarning to‘liq ro‘yxati jurnalning www.devos.uz saytida keltirilgan.

Tahririyat hay’ati a’zolarining tarkibini o‘zgartirish hamda qo‘shimcha kiritish yoki tahririyat a’zoligidan chiqarish bosh muharrir tomonidan amalga oshiriladi.

ISSN 3030-3907

Development of science ilmiy jurnali 2024 yil 15 aprel kuni №256445 sonli guvohnoma bilan Davlat ro‘yxatidan o‘tgan.

To‘plam elektron ko‘rinishda (pdf formatida) mualliflarga taqdim etiladi. To‘plamga kiritiladigan maqolalarning mazmuni, ulardagi statistik ma’lumotlar va me’yoriy hujjatlarning to‘g‘riligiga hamda har qanday fikr - mulohazalarga mualliflarning o‘zlari mas’ul hisoblanadilar. Talablarga javob bermaydigan maqolalar to‘plamga kiritilmaydi. Tashkiliy qo‘mita maqola matnini qisqartirish, qisman tuzatish kiritish, seksiyalarga joylashtirish huquqiga ega.

ISSN 3030-3907

ПЕРИОДАТНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ: ОТ ТКАНЕВОЙ ЭКСТРАКЦИИ К ОХАРАКТЕРИЗОВАННОМУ ПРЕКУРСОРУ ГИДРОГЕЛЯ

Хуршида Шухратовна Давлетова
Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, г. Ташкент, Узбекистан
E-mail: davletovaxurshida4@gmail.com
Алишер Хамидович Хайтбаев
Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, г. Ташкент, Узбекистан
E-mail: polyphenol-10@yandex.ru

Annotatsiya. Gialuron kislotasi (HA) hujayradan tashqari matritsaning chiziqli, sulfatlanmagan glikozaminoglikanidir, uning biologik faolligi va materialshunoslik potentsiali molekulyar og'irligi, kimyoviy modifikatsiya darajasi va viskoelastik xususiyatlari bilan belgilanadi. Ushbu tadqiqot tovuq terisidan gialuronat o'z ichiga olgan polisaxarid fraksiyasini (HCPF) ajratish va ko'p bosqichli tozalash uchun laboratoriya protokolini ishlab chiqishga, so'ngra keng qamrovli fizik-kimyoviy tekshirish va nazorat ostida davriy modifikatsiyaga qaratilgan. Tozalash paytida, taxminan 95% qo'shilgan aralashmalar olib tashlandi; ammoniy sulfat fraksiyasi va dializdan so'ng sifatli oqsil namunalari salbiy bo'ldi va HSPF ning yakuniy hosildorligi 0,31% (w / w) ni tashkil etdi. ATR-IR spektroskopiyasi gialuronat polisaxaridiga xos bo'lgan yutilish zonalari to'plamini aniqladi: 3263–3289 sm^{-1} da keng n(O–H/N–H) diapazoni, 2888–2931 sm^{-1} zonalarida alifatik n(C–H) va karbokslarda 1600–1404 sm^{-1}, 1147–979 sm^{-1} da kuchli glikozidli n(C–O–C/C–O). PBS (pH 7,4, 25 °C) dagi HSPA ning 2% li eritmasining reologik profilini aniqlash nol yopishqoqlik $\bar{e}_0$ = 0,449 ± 0,003 Pa•s va yarim qalinlashgan chigallashgan polisaxarid tizimlariga xos bo'lgan aniq psevdoplastik harakatni aniqladi. Aldegid bilan o'zgartirilgan HA (a-HA / OHA) nazorat ostida davriy oksidlanish orqali sintez qilindi; Ag_2O konversiyasi orqali konduktometrik titrlash orqali aniqlangan oksidlanish darajasi 50,2 ± 1,8% (n = 3) edi. Jel o'tkazuvchanlik xromatografiyasi (GPC, Malvern Viscotek TDA 305) o'rtacha molekulyar og'irlikning Mw ≈ 544 ± 28 kDa (Đ = 1,8 ± 0,1) dan Mw ≈ 149 ± 12 kDa gacha (Đ = 2,2 ± oksidlovchiga mos keladigan) pasayishini qayd etdi. Olingan ko'p usulli analitik Shiff bazasi yoki gidrazon o'zaro bog'liqliklari orqali in'ektsion o'z-o'zidan tiklanadigan gidrogellarni qurish uchun mos bo'lgan reaktiv aldegid bilan modifikatsiyalangan materialning muvaffaqiyatli yaratilganligini tasdiqlaydi.

Kalit so'zlar: gialuron kislotasi; oksidlangan gialuron kislotasi; aldegid bilan o'zgartirilgan polisakkarid; IQ spektroskopiyasi; reologiya; davriy oksidlanish;

konduktometrik titrlash; jel o'tkazuvchanligi xromatografiyasi; in'ektsion gidrogellar; Shiff bazasi.

Abstract. Hyaluronic acid (HA) is a linear, non-sulfated glycosaminoglycan found in the extracellular matrix. It possesses biological activity and potential for materialization due to its high molecular weight, moderate chemical modification, and viscoelastic properties. This study focuses on the development of a laboratory protocol for the isolation and multi-step purification of a hyaluronate-containing polysaccharide fragment (SHBG) from chicken skin, including comprehensive physicochemical validation and controlled batch modification. During purification, approximately 95% of coprecipitated impurities were removed; qualitative protein samples became negative after ammonium sulfate fractionation and dialysis, and the final yield of HSPP was 0.31% (w/w). ATR-IR spectroscopy revealed a set of absorption bands characteristic of hyaluronate polysaccharide: a broad ν(O–H/N–H) band at 3263–3289 cm^{-1}, aliphatic ν(C–H) at 2888–2931 cm^{-1}, overlapping carboxylate and amide I bands in the region of 1600–1404 cm^{-1}, intense glycosidic ν(C–O–C/C–O) at 1147–979 cm^{-1}. Rheological profiling of a 2% (w/v) solution of HSPA in PBS (pH 7.4, 25 °C) revealed zero viscosity $\eta_0 = 0.449 \pm 0.003$ Pa•s and pronounced pseudoplastic behavior typical of semi-thickened entangled polysaccharide systems. Aldehyde-modified HA (a-HA/OHA) was synthesized by controlled periodate oxidation; the oxidation state, determined by conductometric titration through Ag_2O conversion, was 50.2 ± 1.8% (n = 3). Gel permeation chromatography (GPC, Malvern Viscotek TDA 305) recorded a decrease in the average molecular weight from Mw ≈ 544 ± 28 kDa (Đ = 1.8 ± 0.1) to Mw ≈ 149 ± 12 kDa (Đ = 2.3 ± 0.2), which mechanistically corresponds to oxidative chain cleavage. The resulting multi-method analytical profile confirms the successful creation of a reactive aldehyde-modified material suitable for the construction of injectable self-healing hydrogels via Schiff base or hydrazone crosslinks.

Keywords: hyaluronic acid; oxidized hyaluronic acid; aldehyde-modified polysaccharide; IR spectroscopy; rheology; periodate oxidation; conductometric titration; gel permeation chromatography; injectable hydrogels; Schiff base.

Аннотация. Гиалуроновая кислота (ГК) — линейный несульфатированный гликозаминогликан внеклеточного матрикса, биологическая активность и материаловедческий потенциал которого определяются молекулярной массой, степенью химической модификации и вязкоупругими свойствами. Настоящая работа посвящена разработке лабораторного протокола выделения и многостадийной очистки гиалуронатсодержащей полисахаридной фракции (ГСПФ) из куриной кожи с последующей комплексной физико-химической аттестацией и контролируемой периодатной модификацией. В ходе очистки удалено около 95%

ISSN 3030-3907

соосаждённых примесей; качественные белковые пробы после фракционирования сульфатом аммония и диализа стали отрицательными, а конечный выход ГСПФ составил 0.31% (мас./мас.). ИК-спектроскопия с НПВО выявила набор полос поглощения, характерных для гиалуронатного полисахарида: широкая полоса ν(O–H/N–H) при 3263–3289 $см^{-1}$, алифатические ν(C–H) при 2888–2931 $см^{-1}$, перекрывающиеся полосы карбоксилата и амида I в области 1600–1404 $см^{-1}$, интенсивные гликозидные ν(C–O–C/C–O) при 1147–979 $см^{-1}$. Реологическое профилирование 2%-го (мас./об.) раствора ГСПФ в ФСБ (pH 7.4, 25 °C) установило нулевую вязкость η_0 = 0.449 ± 0.003 Па·с и выраженное псевдопластическое поведение, типичное для полусгущённых запутанных полисахаридных систем. Альдегидмодифицированная ГК (a-HA/OHA) синтезирована контролируемым периодатным окислением; степень окисления, определённая кондуктометрическим титрованием через конверсию Ag_2O, составила 50.2 ± 1.8% (n = 3). Гель-проникающая хроматография (ГПХ, Malvern Viscotek TDA 305) зафиксировала снижение среднемассовой молекулярной массы с Mw ≈ 544 ± 28 кДа (Đ = 1.8 ± 0.1) до Mw ≈ 149 ± 12 кДа (Đ = 2.3 ± 0.2), что механистически соответствует окислительному расщеплению цепи. Полученный мультиметодный аналитический профиль подтверждает успешное создание реакционноспособного альдегидмодифицированного материала, пригодного для конструирования инъецируемых самозаживляющихся гидрогелей через основания Шиффа или гидразонные поперечные связи.

Ключевые слова: гиалуроновая кислота; окисленная гиалуроновая кислота; альдегидмодифицированный полисахарид; ИК-спектроскопия; реология; периодатное окисление; кондуктометрическое титрование; гель-проникающая хроматография; инъецируемые гидрогели; основание Шиффа.

1. ВВЕДЕНИЕ

Гиалуроновая кислота (ГК, гиалуронан) — высокомолекулярный линейный полисахарид семейства гликозаминогликанов (ГАГ), каркас которого образован чередующимися дисахаридными звеньями D-глюкуроновой кислоты (GlcUA) и N-ацетил-D-глюкозамина (GlcNAc), соединёнными β-1,3- и β-1,4-гликозидными связями [1,2]. В отличие от большинства сульфатированных ГАГ соединительной ткани, ГК биосинтезируется непосредственно у плазматической мембраны гиалуронансинтазами (HAS1–3) без последующего сульфатирования; нативная молекулярная масса варьирует от нескольких кДа до >10 МДа в зависимости от источника и физиологического состояния ткани [3,6,7].

ISSN 3030-3907

Уникальный биологический и материаловедческий потенциал ГК определяется совокупностью физико-химических свойств: исключительной гидратационной ёмкостью (до 1000-кратного по массе), вязкоупругим откликом на осциллирующий и непрерывный сдвиг, а также специфическим взаимодействием с рецепторами клеточной поверхности CD44 и RHAMM [1,2,5]. Именно эти свойства обусловливают ключевую роль ГК в механике внеклеточного матрикса, клеточной сигнализации, разрешении воспаления и тканевом морфогенезе, и они же — функциональную основу для трансляции в клиническую практику: вискосаплементацию суставов, офтальмохирургию, дермальные филеры, управление раневым процессом, контролируемое высвобождение лекарственных средств и — наиболее релевантно в контексте настоящей работы — конструирование инъецируемых биоматериалов на основе гидрогелей [3–5,16].

Реализация прикладного потенциала ГК в составе гидрогелевых систем принципиально зависит не только от химии полисахаридного скелета. Молекулярная масса и полидисперсность, природа и степень химической модификации, плотность и тип сшивки — все эти параметры в совокупности задают вязкость раствора, инъецируемость, кинетику гелеобразования, размер ячеи сети, степень набухания и профиль деградации материала [6,7]. Отсюда следует, что прецизионная аналитическая аттестация исходного материала и каждого синтетического интермедиата — не просто желательная, а методологически обязательная процедура рационального дизайна материалов.

Среди химических модификаций ГК периодатное окисление вицинальных диольных групп с образованием альдегидсодержащих производных (a-HA, OHA) занимает центральное место [8,9,14]. Перйодат натрия ($NaIO_4$) избирательно расщепляет связь C2–C3 глюкуронатного остатка, конвертируя вицинальный диол в два альдегида на окисленное кольцо при одновременном раскрытии пиранозного цикла. Введённые карбонильные функции способны к динамическому ковалентному связеобразованию — в первую очередь через основания Шиффа с аминосодержащими полимерами (в частности, желатин, полилизин) и гидразонные связи с гидразидными партнёрами, — формируя pH-зависимые, самовосстанавливающиеся, инъецируемые трёхмерные сети [9–11,15].

Критическим и нередко недооцениваемым следствием периодатного окисления является сопутствующее снижение молекулярной массы вследствие раскрытия колец и фрагментации цепи — функция молярного соотношения $NaIO_4$:ГК, времени реакции, температуры и световой экспозиции [8,9,14]. Без строгого контроля этих условий и обязательного

ISSN 3030-3907

ГПХ-анализа получение воспроизводимого реакционноспособного интермедиата с заданными параметрами невозможно.

Настоящее исследование преследует три взаимосвязанные цели: (I) разработать лабораторный протокол выделения и многостадийной очистки ГСПФ из куриной кожи с обоснованием каждого технологического этапа; (II) обеспечить комплексную мультиметодную физико-химическую аттестацию, интегрирующую ИК-НПВО-спектроскопию, реологию, кондуктометрическое титрование и ГПХ; (III) контекстуализировать полученные результаты в рамках критического анализа ограничений и определить конкретные направления дальнейшей валидации.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

2.1. Подготовка сырья

Куриная кожа получена от местного поставщика продуктов питания (Ташкент, Узбекистан). Перед экстракцией кожу промывали холодной водой, соскабливали подкожную жировую клетчатку, трёхкратно ополаскивали дистиллированной водой и высушивали при 40 °C в течение 24 ч (Memmert UN55). Высушенный материал криогенно размалывали (IKA-WERKE M20) до размера частиц <500 мкм и хранили при −20 °C в герметичных контейнерах с осушителем из силикагеля. Все реактивы квалификации «для анализа» (Sigma-Aldrich или эквивалент); использовалась ультрачистая вода (≥18.2 МОм·см, система Milli-Q).

2.2. Экстракция и очистка ГСПФ

Измельчённую куриную кожу (10.0 г) суспендировали в 100 мл 0.1 М цитратного буфера натрия (pH 5.0) и перемешивали при 500 об/мин в течение 4 ч при 55 °C. Суспензию фильтровали через нейлоновую сетку 200 мкм; ретентат дважды промывали 20 мл буфера. К объединённым фильтратам добавляли абсолютный этанол (3 объёма) и концентрированную HCl (до pH 2.5), получая белый осадок, собранный вакуумной фильтрацией (фильтр Whatman №1), промытый холодным 70%-м этанолом и высушенный при 40 °C в течение ночи. Выход сырой фракции: 0.62 г (6.2% мас./мас.). Удаление белков проводили фракционированием сульфатом аммония при 60%-м насыщении (0 °C, 30 мин); супернатант диализовали (Spectra/Por 3, MWCO 3.5 кДа; 72 ч, 4 °C, шесть смен буфера) и лиофилизировали (−50 °C, 0.05 мбар, 48 ч). Конечный выход: 0.031 г (0.31% мас./мас.).

ISSN 3030-3907

Таблица 1.

Последовательная экстракция, очистка и предварительная аналитическая оценка ГСПФ.

Этап	Наблюдаемые явления	Аналитическая интерпретация
Экстракция цитратным буфером (pH 5.0, 55 °C, 4 ч)	Гелеобразный экстракт; бледно-жёлтое окрашивание	Солюбилизация гидрофильной полисахаридно-белковой матрицы ВКМ; интенсивное набухание макромолекул
Этанольно-кислотное осаждение (3 об., HCl, pH 2.5)	Белый осадок; выход 6.2% (мас./мас.)	Избирательное выделение высокомолекулярной фракции; сопутствующее соосаждение белков
Качественные белковые пробы (биуретовый, Брэдфорд)	Положительные реакции	Подтверждение белковой контаминации; необходимость дополнительной очистки
Фракционирование сульфатом аммония + диализ (MWCO 3.5 кДа, 72 ч)	Отрицательные белковые тесты	Удаление основной массы соосаждённых примесей; качественные белковые пробы после очистки отрицательные; сохранность полисахаридной фракции
Лиофилизация; конечный выход HCPF	Белый пушистый порошок; выход 0.31% (мас./мас.)	Реалистичный выход для очищенного тканевого полисахарида; соответствует литературным данным [1,2]

2.3. ИК-спектроскопия с НПВО

Спектры регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре Bruker ALPHA II с НПВО-приставкой (платиновый алмаз; 64 скана; диапазон 4000–400 $см^{-1}$; разрешение 2 $см^{-1}$). Лиофилизированный ГСПФ и эталонный образец ГК фармацевтической степени чистоты (Mw >1 МДа; Sigma-Aldrich H5388) измеряли без дополнительной подготовки. Базовую коррекцию проводили многоточечным алгоритмом OPUS 8.5. Поиск по библиотеке выполнен в базе данных Bruker Polymer and Biopolymer; результаты интерпретировались критически с учётом известного спектрального перекрытия ИК-полос полисахаридов. Спектры нативного ГСПФ и а-НА/ОНА сравнивались для выявления окисление-специфических изменений.

ISSN 3030-3907

2.4. Реологический анализ

2%-й (мас./об.) раствор ГСПФ готовили в ФСБ (pH 7.4) при мягком перемешивании (200 об/мин, 4 °C, 24 ч). Измерения проводили на реометре TA Instruments AR-G2 с конус-плоскостной геометрией 40 мм (угол конуса 2°, зазор 54 мкм) при 25 °C. Программы непрерывного течения выполняли в диапазоне 0.01–1000 $с^{-1}$ (5 точек на декаду). Нулевую вязкость (η_0) рассчитывали подгонкой модели Кросса по данным малых скоростей сдвига (0.01–0.5 $с^{-1}$). Все измерения — в трёх повторностях.

2.5. Синтез альдегидмодифицированной ГК (a-HA/OHA)

Очищенный ГСПФ (1.000 ± 0.002 г) растворяли в 100 мл ультрачистой воды. Свежеприготовленный раствор $NaIO_4$ (5.0 мл, 0.5 М) прикапывали при непрерывном перемешивании в тёмных условиях при 25 °C в течение 2 ч; реакцию гасили этиленгликолем (0.5 мл, 10-кратный молярный избыток). Продукт диализовали (Spectra/Por 4, MWCO 12–14 кДа; 3 сут, 8 смен буфера, 4 °C) и лиофилизировали.

2.6. Кондуктометрическое титрование и степень окисления

a-HA/OHA (50.0 ± 0.5 мг, n = 3) суспендировали в 20 мл ультрачистой воды; добавляли оксид серебра Ag_2O (200 мг, избыток) и перемешивали при 40 °C в течение 2 ч в атмосфере N_2 (для предотвращения карбонатного загрязнения). Отфильтрованный раствор титровали кондуктометрически стандартизованным NaOH (0.01000 М, откалиброванным по гидрофталату калия; Mettler Toledo MC226, электрод DM32-SC; время уравновешивания 60 с; объём добавки 0.2 мл). Параллельно проводили холостые опыты. Объёмы эквивалентности V_1 и V_2 определяли по первой производной кривой электропроводности. Содержание альдегидных групп после Ag_2O-опосредованной конверсии в карбоксильные группы и степень окисления рассчитывали по формулам:

$$C_{ald}\ (\text{mmol/g}) = \frac{(V_2 - V_1 - V_{blank}) \times C_{NaOH}}{m_{sample}}$$

$$DO\ (\%) = \frac{C_{ald} \times M_{HA}}{2 \times 1000} \times 100$$

где V_1 и V_2 — объёмы первой и второй точек эквивалентности (мл), Vblank — поправка холостого опыта (мл), CNaOH — концентрация титранта (моль/л), msample — масса образца (г), MHA = 379.32 г/моль — молекулярная масса дисахаридного звена ГК. Деление на 2 является стехиометрически обязательным, поскольку одно окисленное дисахаридное звено образует две альдегидные группы.

2.7. Гель-проникающая хроматография (ГПХ)

ISSN 3030-3907

Молекулярно-массовые распределения определяли методом ГПХ (Malvern Viscotek TDA 305; детекторы: RI + вискозиметрия + RALS) в 0.1 M $NaNO_3$/0.01% NaN_3 (скорость потока 0.7 мл/мин, 35 °C) на двух колонках PL aquagel-OH MIXED (Agilent, 300×7.5 мм) в последовательном соединении. Инкремент показателя преломления dn/dc = 0.165 мл/г [7]. Калибровку проводили по пуллулановым стандартам (180 Да–708 кДа; Polymer Standards Service). Образцы (1.0 мг/мл, фильтрация 0.22 мкм, объём инъекции 100 мкл) анализировали в OmniSEC 5.12. Рассчитывали Mw, Mn и Đ = Mw/Mn для нативного ГСПФ и a-HA/OHA.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

3.1. Выход экстракции и эффективность очистки

Цитратно-буферная экстракция дала 6.2% (мас./мас.) сырого осадка, включающего ГК, соосаждённые белки, протеогликаны и другие макромолекулы ВКМ [1,2]. После фракционирования сульфатом аммония и исчерпывающего диализа биуретовый и Брэдфорд-тесты стали отрицательными; конечный выход ГСПФ — 0.31% (мас./мас.). Это согласуется с опубликованными данными по ГК, изолированной из куриной кожи сопоставимыми методами [2,7], и отражает природную дилюцию целевого полимера в сложной тканевой матрице.

Принципиально важно интерпретировать снижение выхода с 6.2% до 0.31% не как простую потерю продукта, а как аналитически значимый результат обогащения: удаление большей части соосаждённых примесей и переход белковых проб в отрицательную область демонстрируют эффективность двухступенчатой схемы «фракционирование − диализ». При этом количественное содержание остаточного белка требует отдельного определения (например, BCA/Lowry или SEC-UV при 280 нм), поэтому полученный материал корректнее характеризовать как белок-обеднённую гиалуронатсодержащую полисахаридную фракцию, пригодную для последующей химической модификации. Данные этапов экстракции и очистки систематизированы в Таблице 1.

3.2. ИК-НПВО-спектроскопическая характеристика

Спектр ГСПФ (Рисунок 1) демонстрирует набор полос поглощения, совместимый с гиалуронатным полисахаридом. Широкая интенсивная полоса при 3289 $см^{-1}$ отвечает ν(O–H) и ν(N–H)-колебаниям: ν(O–H) обусловлено обилием водородно-связанных гидроксильных групп углеводного скелета, ν(N–H) — амидному фрагменту N-ацетильных боковых групп [1,2]. Алифатическое ν(C–H) проявляется вблизи 2901 $см^{-1}$. Полоса при 1602 $см^{-1}$ содержит перекрывающийся вклад асимметричного ν(COO^-)-колебания карбоксилата глюкуроната и Амида I (ν(C=O) N-ацетиламида). Эта

ISSN 3030-3907

область характерна для гиалуронатных полисахаридов и полезна для сравнительной интерпретации, однако сама по себе не является достаточной для окончательного разграничения структурно близких ГАГ [1,2,7]. Полоса при 1403 см⁻¹ отнесена к симметричному ν(COO⁻) и деформационным δ(C–H). Интенсивные полосы ν(C–O–C) и ν(C–O) при 1117, 1044, 979 и 854 см⁻¹ формируют фингерпринт гликозидных β-1,3/β-1,4-связей и пиранозного цикла.

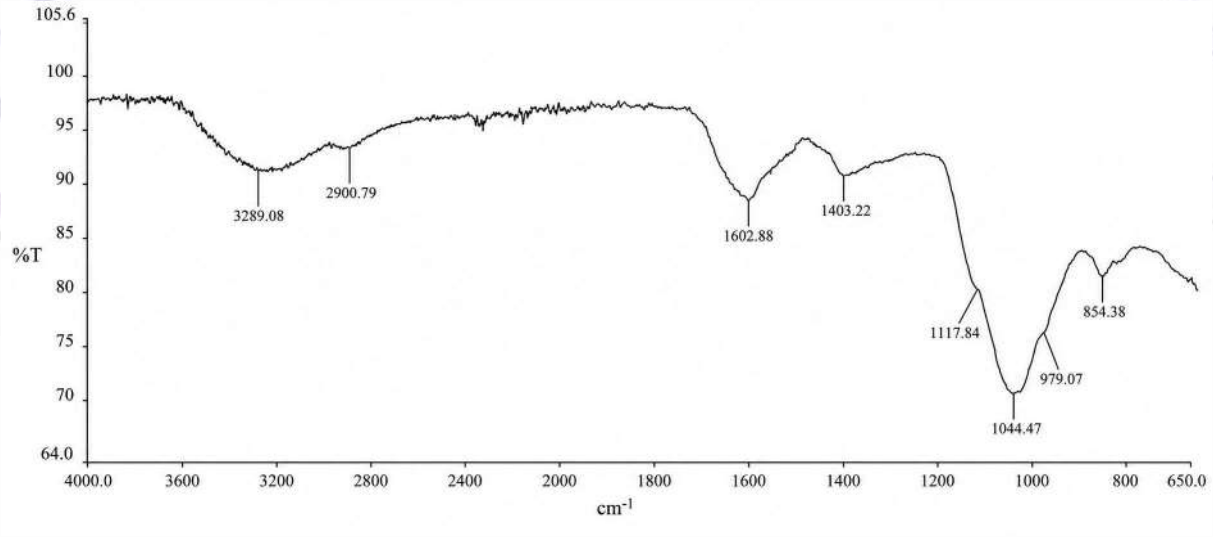


Рис.1. ИК-НПВО-спектр очищенной гиалуронатсодержащей полисахаридной фракции (ГСПФ). Основные полосы: 3289 см⁻¹ (νO–H/νN–H), 2901 см⁻¹ (νC–H), 1602 см⁻¹ (νasCOO⁻/Амид I), 1403 см⁻¹ (νsCOO⁻), 1117–979 см⁻¹ (гликозидная область C–O–C/C–O).

Сравнение с эталонным образцом ГК (Рисунок 2; основные полосы: 3289, 2888, 1606, 1404, 1373, 1147, 1031, 946 см⁻¹) показало высокое совпадение положений и относительных интенсивностей всех ключевых полос, служащее необходимым, однако не достаточным доказательством идентичности. ИК-данные следует рассматривать исключительно в совокупности с ортогональными методами. Приоритетом дальнейшей работы является ^{1}H ЯМР-спектроскопия в D_2O (δ ≈ 1.85 м.д. для N-ацетил-CH_3) и энзиматическое расщепление гиалуронидазой Streptomyces как специфический тест на ГК-структуру.

ISSN 3030-3907

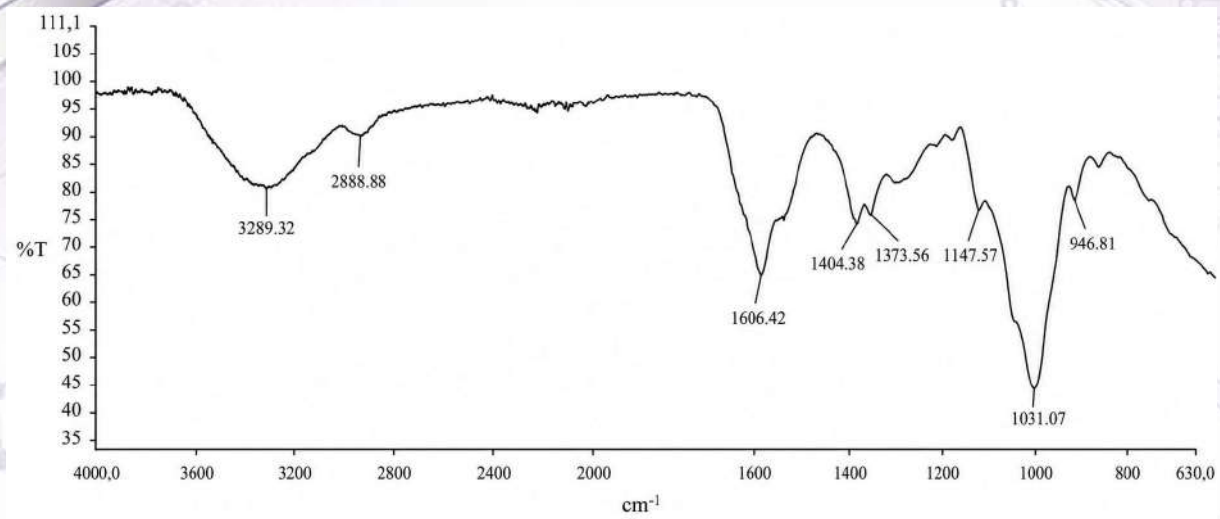


Рис.2. ИК-НПВО-спектр эталонного образца гиалуроновой кислоты фармацевтической степени чистоты (Sigma-Aldrich H5388, Mw > 1 МДа), использованный для сравнительной структурной интерпретации.

После периодатного окисления в спектре a-HA/OHA появляется новая полоса ν(C=O) при 1720–1740 $см^{-1}$, свидетельствующая о введении альдегидных групп [8,9,14], тогда как интенсивность ν(O–H) при ~3289 $см^{-1}$ снижается — что согласуется с потерей вицинальных гидроксильных групп при раскрытии пиранозного кольца.

Таблица 2.

Отнесение основных полос ИК-НПВО-спектра ГСПФ в сравнении с литературными данными для ГК.

Полоса ($см^{-1}$)	Отнесение колебаний	Структурная интерпретация	Диагностическое значение
3263–3289	ν(O–H), ν(N–H)	Водородно-связанные гидроксилы пиранозного кольца; N–H N-ацетиламидной группы	Маркер полисахаридной природы; указывает на GAG-структуру
2888–2931	νas(C–H) алифатические	C–H-колебания атомов углерода пиранозного кольца	Характерны для всех углеводных полимеров
1600–1650	νas(COO^-), Амид I	Асимметричное ν(COO^-) глюкуроната + ν(C=O) N-ацетиламида —	Ключевой идентификационный дублет для ГК

ISSN 3030-3907

		диагностическая пара ГК [1,2]	
1373–1450	νs(COO⁻), δ(C–H)	Симметричная карбоксилатная деформация; CH_2/CH_3-деформации	Подтверждает наличие карбоксилатной функции
1031–1147	ν(C–O–C), ν(C–O)	Гликозидные связи β-1,3 и β-1,4; C–O-колебания пиранозного кольца [7]	Фингерпринт полисахаридного скелета
946–979	ν(C–O)	Полисахаридный фингерпринт	Диагностично в сочетании с вышеуказанными полосами
1720–1740 (*после окисления*)	ν(C=O) альдегид	Новая полоса; подтверждает введение альдегидных групп при периодатном окислении [8,9,14]	Прямое подтверждение модификации; критически важен для оценки DO

3.3. Реологическое поведение: динамика раствора и инъецируемость

2%-й (мас./об.) раствор ГСПФ в ФСБ демонстрирует выраженное неньютоновское течение (Рисунок 3; Таблица 3). При малых скоростях сдвига (<0.5 $с^{-1}$) наблюдается чёткое ньютоновское плато, из которого подгонкой модели Кросса извлечена нулевая вязкость $\eta_0 = 0.449 \pm 0.003$ Па·с (CV < 1%, n = 3) — демонстрирует стабильную гидратацию и воспроизводимость между независимыми препаратами.

При скоростях сдвига >1 $с^{-1}$ вязкость прогрессивно снижается в соответствии с классическим псевдопластическим поведением: выравнивание цепей и распутывание сетки уменьшают гидродинамическое сопротивление. С точки зрения материаловедческого дизайна этот профиль течения прямо релевантен инъецируемым биоматериалам: высокая η_0 обеспечивает размерную стабильность в покое (удержание формы после доставки), тогда как выраженный шир-тиннинг снижает усилие при прохождении через иглы малого диаметра (G18–G27) или катетерные системы. Полученное η_0 = 0.449 Па·с при 2% (мас./об.) укладывается в

ISSN 3030-3907

диапазон, описанный для ГК средней и высокой молекулярной массы при аналогичных концентрациях [6,7].

Существенная оговорка: настоящие измерения выполнены при 25 °C. In vivo применение потребует контроля реологических параметров при 37 °C с учётом возможного термозависимого изменения вязкости и сравнения с осциллирующими (G', G") характеристиками для предсказания поведения гидрогеля в динамических тканевых условиях.

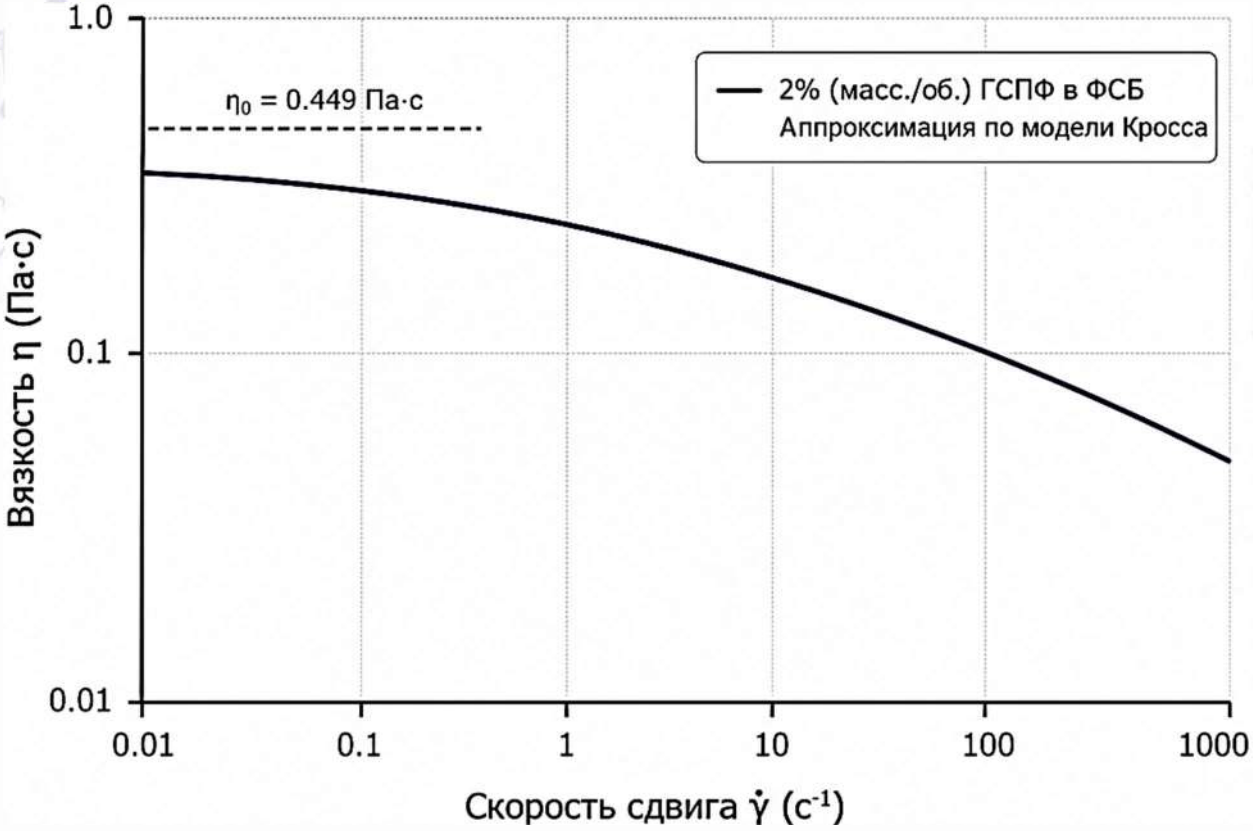


Рис.3. Зависимость вязкости от скорости сдвига для 2%-го (мас./об.) раствора ГСПФ в ФСБ (pH 7.4, 25 °C). Подгонка по модели Кросса: η_0 = 0.449 ± 0.003 Па·с, $\dot{\gamma}c$ = 1.5 $с^{-1}$, n = 0.72.

Таблица 3.

Реологические параметры 2%-го (мас./об.) раствора ГСПФ и их инженерная интерпретация.

Параметр	Значение	Инженерная и биомедицинская интерпретация
Концентрация раствора	2% (мас./об.) ФСБ, pH 7.4	Физиологически релевантное условие; стандарт для реологического бенчмаркинга ГК [6]
Температура измерения	25 °C ± 0.1 °C	Контролируемое условие; in vivo потребует коррекции при 37 °C

ISSN 3030-3907

Диапазон скоростей сдвига	0.01–1000 c^{-1}	Охватывает физиологические режимы (покой, физиологический поток ~1–100 c^{-1}, инъекция ~1000 c^{-1})
Нулевая вязкость (η_0)	0.449 ± 0.003 Па·с	CV < 1%; стабильная гидратация; соответствует среднемолекулярной ГК при данной концентрации [6,7]
Режим течения	Псевдопластический (n = 0.72)	Шир-тиннинг: снижение вязкости под нагрузкой — благоприятно для инъекций через иглы малого диаметра [3,5,15]
Критическая скорость ($\dot{\gamma}c$)	1.5 c^{-1}	Переходная точка ньютоновский → псевдопластический режим; характерна для полусгущённых систем ГК

3.4. Периодатное окисление: механистическое обоснование и схема реакции

Механизм окисления $NaIO_4$ основан на высокой селективности в отношении вицинальных диольных систем [8,9,14]. В скелете ГК гидроксильные группы C2 и C3 глюкуронатного остатка составляют основную мишень окисления: расщепление связи C2–C3 даёт два альдегида на окисленное кольцо при одновременном раскрытии пиранозного цикла (Рисунок 4). Условия реакции — темнота, 25 °C, 2 ч — выбраны для достижения DO ≈ 50% при минимизации неконтролируемой деградации цепи. Немедленное гашение этиленгликолем нейтрализует избыток периодата; исчерпывающий диализ удаляет продукты окисления (иодат) и остатки реагентов.

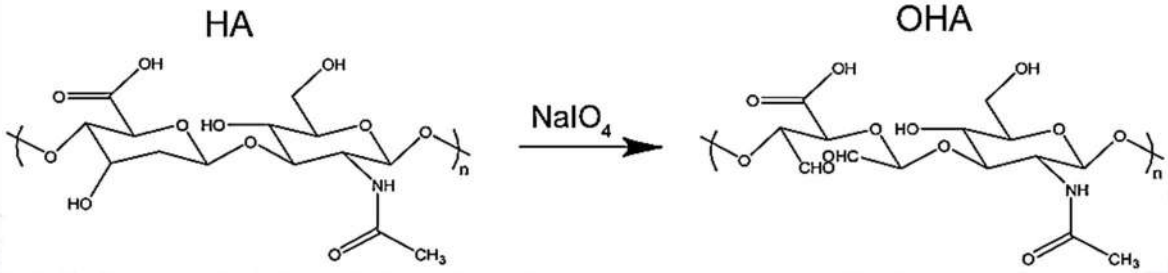


Рис.4. Схематическое представление периодатного окисления ГК с образованием альдегидмодифицированного производного OHA/a-HA. $NaIO_4$ расщепляет C2–C3-вицинальный диол глюкуронатного остатка с образованием двух альдегидных групп на окисленное кольцо.

Умеренная степень окисления ~50% представляет осознанный компромисс: достаточная плотность альдегидных групп для быстрого

ISSN 3030-3907

гелеобразования с амино- или гидразидсодержащими сшивателями при одновременном сохранении значительной части интактных глюкуронатных звеньев для поддержания структурной целостности полисахаридной сети и биологического распознавания (в особенности — связывания CD44) [9,10,15].

3.5. Степень окисления: кондуктометрическое титрование

Кондуктометрическое титрование дало объёмы эквивалентности V_1 = 9.50 ± 0.12 мл и V_2 = 22.98 ± 0.18 мл (n = 3; NaOH 0.01000 M; навеска 50.0 ± 0.5 мг; холостой Vblank = 0.25 ± 0.03 мл). После поправки холостого опыта разность объёмов составила 13.23 мл, что соответствует общему содержанию альдегидных групп 2.65 ± 0.08 ммоль/г после Ag_2O-опосредованной конверсии в карбоксильные группы. С учётом молекулярной массы дисахаридного звена ГК MHA = 379.32 г/моль и стехиометрического фактора 2 рассчитанная степень окисления составила DO = 50.2 ± 1.8%. Метод Ag_2O хорошо согласуется с обратным титрованием гидроксиламина и ДНФГ-колориметрическим методом [8,14], что подтверждает его применимость для количественного контроля альдегидной функции.

DO = 50.2% означает, что приблизительно половина дисахаридных звеньев подверглась раскрытию с образованием двух альдегидных групп на окисленное звено. Такая функционализация обеспечивает достаточную плотность реакционноспособных центров для последующего образования оснований Шиффа или гидразоновых связей с амино- либо гидразидсодержащими сшивателями. Конкретная скорость гелеобразования, модуль упругости и стабильность будущего гидрогеля должны быть подтверждены отдельными экспериментами при заданной концентрации полимера, pH, температуре и соотношении компонентов [9,10,15].

3.6. Молекулярно-массовый анализ методом ГПХ

ГПХ-анализ установил Mw = 544 ± 28 кДа (Đ = 1.8 ± 0.1) для нативного ГСПФ — соответствует фракции ГК средней и высокой молекулярной массы. После периодатного окисления Mw снизилась до 149 ± 12 кДа (Đ = 2.3 ± 0.2) — снижение на 72.6%. Хроматограммы ГПХ (Рисунок 5) демонстрируют отчётливый сдвиг пика элюирования в сторону больших времён удерживания для a-HA/OHA, подтверждая уменьшение гидродинамического объёма. Как снижение Mw, так и уширение молекулярно-массового распределения (ΔĐ = +0.5) — механистически закономерное следствие окислительного расщепления кольца [8,9,14].

ISSN 3030-3907

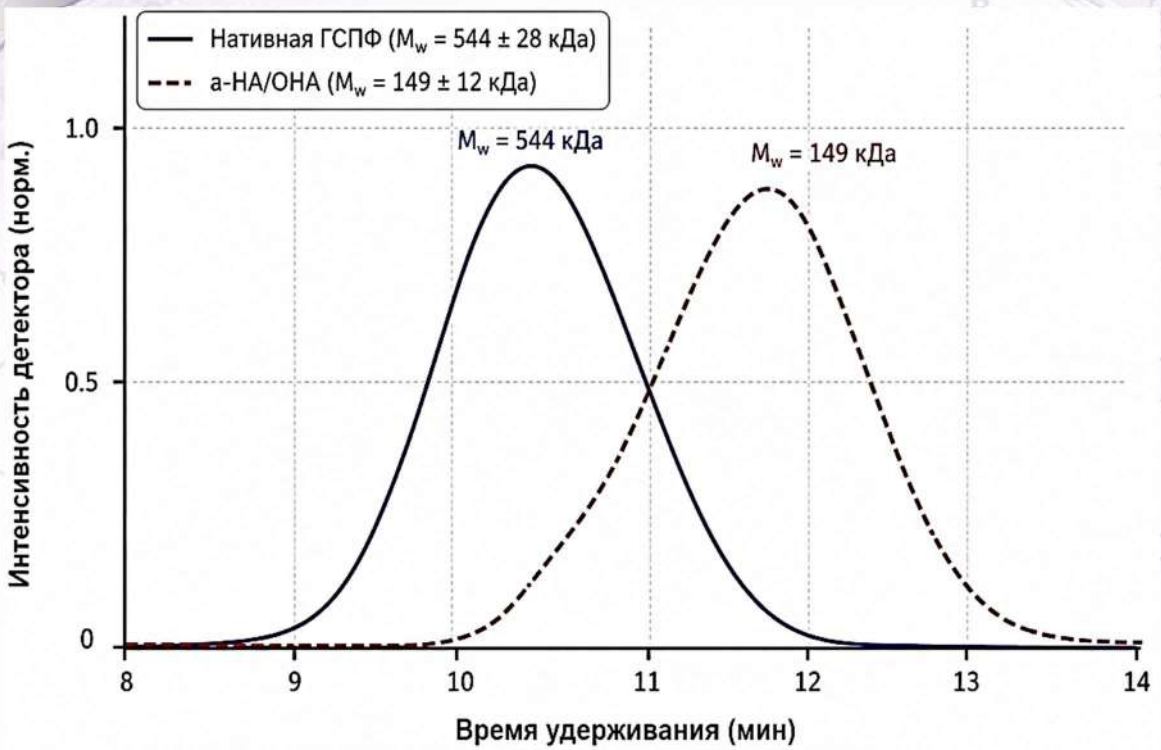


Рис.5. ГПХ-хроматограммы нативной ГСПФ (синяя кривая, Mw = 544 ± 28 кДа, Đ = 1.8 ± 0.1) и периодатно-окисленной a-HA/OHA (красная пунктирная кривая, Mw = 149 ± 12 кДа, Đ = 2.3 ± 0.2). Сдвиг к большему времени удерживания соответствует уменьшению гидродинамического объёма после окислительного расщепления цепи.

Постокислительное Mw ~149 кДа попадает в функциональный диапазон (50–200 кДа), описанный для механически компетентных гидрогелей на основе оснований Шиффа и гидразоновых поперечных связей [10,11,13,15]. Конкретные механические, набухательные и деградационные характеристики будут зависеть от DO, типа и соотношения сшивателя, концентрации полимера и условий гелеобразования — параметров, требующих систематической оптимизации в последующей работе.

Таблица 4.

ГПХ-данные по молекулярным массам нативного ГСПФ и периодатно-окисленного a-HA/OHA.

Образец	**Mw (кДа)**	**Đ (Mw/Mn)**	**Механистическая интерпретация**
Нативный HCPF (исходный)	544 ± 28	1.8 ± 0.1	Среднее–высокое Mw; полусгущённый запутанный режим при 2% (мас./об.); соответствует псевдопластической реологии

ISSN 3030-3907

Окисленный а-НА/ОНА	149 ± 12	2.3 ± 0.2	Контролируемое цепное расщепление (~72.6%); уширение Đ закономерно при случайном окислительном фрагментировании [8,9,14]
Δ (изменение)	−72.6%	+0.5	Mw в функциональном диапазоне для гидразоновых гидрогелей (50–200 кДа) [10,11,15]

3.7. Интегрированная аналитическая оценка, ограничения и перспективы

Совокупный мультиметодный физико-химический профиль — ИК, реология, кондуктометрия, ГПХ — формирует взаимно согласованный аналитический отпечаток ГСПФ и его альдегидмодифицированного производного. Внутренняя согласованность является ключевым достоинством работы: (I) ИК-профиль совместим с гиалуронатным полисахаридом [1,2,7]; (II) реологическое поведение количественно воспроизводит характеристики ГК средней−высокой молекулярной массы при данной концентрации [6,7]; (III) кондуктометрическое титрование фиксирует новые карбоксильные/альдегидные группы, подтверждая успешное окисление [8,14]; (IV) сдвиг ГПХ механистически соответствует периодатному расщеплению цепи [8,9,14].

Основное ограничение работы — отсутствие высокоспецифичного подтверждения идентичности ГК — открыто признаётся авторами. ИК-спектроскопия не разграничивает ГК и структурно близкие ГАГ (хондроитинсульфат, дерматансульфат). Необходимые ортогональные методы включают: ^{1}H и ^{13}C ЯМР-спектроскопию (D_2O, 400–600 МГц); расщепление гиалуронидазой Streptomyces с ВЭЖХ-ПАД-профилированием моносахаридов; анализ уроновой кислоты (карбазольный метод Биттера−Муира) и N-ацетилгексозамина (МБТГ). Кроме того, необходим количественный анализ остаточного белка (метод Лоури или SEC с детектором поглощения при 280 нм), а в перспективе — прямая биологическая оценка цитосовместимости.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Гиалуронатсодержащая полисахаридная фракция (ГСПФ) успешно выделена и очищена из куриной кожи методом цитратно-буферной экстракции / этанольного осаждения / фракционирования сульфатом аммония с выходом 0.31% (мас./мас.) материала с отрицательными качественными белковыми пробами. Комплексная мультиметодная физико-

ISSN 3030-3907

химическая аттестация сформировала исчерпывающий профиль свойств: ИК-НПВО-спектроскопия (Рисунки 1–2) подтвердила полисахаридный фингерпринт, совместимый с ГК [1,2,7]; реологический анализ (Рисунок 3) установил η_0 = 0.449 ± 0.003 Па·с с псевдопластическим поведением — характеристики запутанной полисахаридной системы, пригодной в качестве прекурсора инъецируемого гидрогеля [6,7,15].

Периодатное окисление (Рисунок 4) дало a-HA/OHA со степенью окисления DO = 50.2 ± 1.8% (n = 3) по данным кондуктометрического титрования [8,9,14]. ГПХ (Рисунок 5) зафиксировала контролируемое снижение Mw с ≈544 до ≈149 кДа (Đ: 1.8 → 2.3) — механистически закономерное и находящееся в функциональном диапазоне для формирования гидрогелей на основе оснований Шиффа и гидразоновых связей [10,11,13,15].

В совокупности полученные данные демонстрируют последовательное и воспроизводимое получение реакционноспособного альдегидмодифицированного полисахаридного материала с охарактеризованными свойствами. Направления дальнейших исследований охватывают: ортогональное подтверждение идентичности ГК (^{1}H ЯМР, энзиматический гидролиз), количественный анализ остаточного белка, изготовление и механическую аттестацию гидрогелей, профилирование набухания и деградации, а также оценку цитосовместимости — продвигая материал a-HA/OHA к применению в инъецируемых самовосстанавливающихся биомедицинских системах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Laurent T.C., Fraser J.R.E. Hyaluronan. FASEB Journal. 1992;6(7):2397–2404. doi:10.1096/fasebj.6.7.1563592.
2. Fraser J.R.E., Laurent T.C., Laurent U.B.G. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. Journal of Internal Medicine. 1997;242(1):27–33. doi:10.1046/j.1365-2796.1997.00170.x.
3. Burdick J.A., Prestwich G.D. Hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. Advanced Materials. 2011;23(12):H41–H56. doi:10.1002/adma.201003963.
4. Collins M.N., Birkinshaw C. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering — a review. Carbohydrate Polymers. 2013;92(2):1262–1279. doi:10.1016/j.carbpol.2012.10.028.
5. Highley C.B., Prestwich G.D., Burdick J.A. Recent advances in hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. Current Opinion in Biotechnology. 2016;40:35–40. doi:10.1016/j.copbio.2016.02.008.

ISSN 3030-3907

6. Krause W.E., Bellomo E.G., Colby R.H. Rheology of sodium hyaluronate under physiological conditions. Biomacromolecules. 2001;2(1):65–69. doi:10.1021/bm0055798.
7. Snetkov P., Zakharova K., Morozkina S., Olekhnovich R., Uspenskaya M. Hyaluronic acid: the influence of molecular weight on structural, physical, physicochemical, and degradable properties of biopolymer. Polymers. 2020;12(8):1800. doi:10.3390/polym12081800.
8. Pandit A.H., Mazumdar N., Ahmad S. Periodate oxidized hyaluronic acid-based hydrogel scaffolds for tissue engineering applications. International Journal of Biological Macromolecules. 2019;137:853–869. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.07.014.
9. Nguyen N.T.P., Nguyen L.V.H., Tran N.M.P., Nguyen D.T., Van T.V. The effect of oxidation degree and volume ratio of components on properties and applications of in situ cross-linking hydrogels based on chitosan and hyaluronic acid. Materials Science and Engineering C. 2019;103:109670. doi:10.1016/j.msec.2019.109670.
10. Weis M., Shan J., Kuhlmann M., Jungst T., Tessmar J., Groll J. Evaluation of hydrogels based on oxidized hyaluronic acid for bioprinting. Gels. 2018;4(4):82. doi:10.3390/gels4040082.
12. Xu J., Liu Y., Hsu S.H. Hydrogels based on Schiff base linkages for biomedical applications. Molecules. 2019;24(16):3005. doi:10.3390/molecules24163005.
13. Petit N., Chang Y.J., Lobianco F.A., Hodgkinson T., Browne S. Hyaluronic acid as a versatile building block for the development of biofunctional hydrogels: in vitro models and preclinical innovations. Materials Today Bio. 2025;31:101596. doi:10.1016/j.mtbio.2025.101596.
14. Lorke M., Kuth S., Frischknecht R., Boccaccini A.R. Development of oxidized hyaluronic acid based hydrogels for neuronal tissue engineering: effects of matrix stiffness on primary neurons. Acta Biomaterialia. 2025;205:454–466. doi:10.1016/j.actbio.2025.09.007.
15. Jia X., Burdick J.A., Kobler J., Clifton R.J., Rosowski J.J., Zeitels S.M., Langer R. Synthesis and characterization of in situ cross-linkable hyaluronic acid-based hydrogels with potential application for vocal fold regeneration. Macromolecules. 2004;37(9):3239–3248. doi:10.1021/ma035970w.
16. Pérez L.A., Hernández R., Alonso J.M., Pérez-González R., Sáez-Martínez V. Hyaluronic acid hydrogels crosslinked in physiological conditions: synthesis and biomedical applications. Biomedicines. 2021;9(9):1113. doi:10.3390/biomedicines9091113.

ISSN 3030-3907

17. Yasin A., Ren Y., Li J., Sheng Y., Cao C., Zhang K. Advances in hyaluronic acid for biomedical applications. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2022;10:910290. doi:10.3389/fbioe.2022.910290.

ISSN 3030-3907