

9. *Иванчев Г.* Дитизон и его применение. М.: Издатинлит, 1961, 450 с.
10. *Shulz R.C., Hollander R., Kern W.* Makromol. Chem., 1960, v. 40, p. 16—24.
11. *Kinoshita M., Shulz R.C.* Ibid., 1968, v. 111, p. 137—145.
12. *Первова И.Г., Юшкова О.Г., Липунова Г.Н., Моргалюк В.П., Мельник Т.А., Липунов И.Н.* Сорбцион. и хроматогр. процессы, 2002, т. 2, вып. 5—6, с. 616—620.
13. *Липунов И.Н., Юшкова О.Г., Островская В.М., Первова И.Г., Липунова Г.Н.* Там же, 2001, т. 1, вып. 2, с. 288—289.
14. *Островская В.М., Лямина О.И., Куприянова Т.А., Юшкова О.Г.* Сер. критич. технологии. Мембраны, 2001, № 11, с. 32—35.
15. *Островская В.М., Лямина О.И., Юшкова О.Г., Липунов И.Н.* Там же, 2001, 12, с. 14—17.
16. *Островская В.М., Лямина О.И., Куприянова Т.А., Юшкова О.Г.* Труды 25 ГОСНИИ МО РФ, 2002, с. 243—245.
17. *Островская В.М., Иванов О.В.* Высокочистые вещества, 1987, № 4, с. 176—181.
18. *Kurusu Y., Yoshida H., Okawara M.* Makromol. Chem., 1971, v. 143, p. 73—85.
19. Патент ЧССР 214302. Kanovec J. Опубл. 01.06.84.
20. *Grote M., Kettrup A.* Vom Wasser, 1979, Bd. 53, S. 185—188.
21. *Grote M., Kettrup A.* Z. Anal. Chem., 1980, Bd. 300, № 4, S. 280—285.
22. *Первова И.Г., Липунов И.Н., Юшкова О.Г., Липунова Г.Н.* Сорбцион. и хроматогр. процессы, т. 1, вып. 5, с. 870.
23. *Липунов И.Н., Мельник Т.А., Первова И.Г., Жданова Е.Г.* Там же, 2003, т. 3, вып. 6, с. 680—687.
24. *Липунов И.Н., Мельник Т.А., Первова И.Г., Липунова Г.Н., Маслакова Т.И., Сигейкин Г.И.* Там же, 2003, т. 3, вып. 3, с. 292—298.
25. *Yano T., Ide P., Tobeta V.* Talanta, 1976, v. 23, № 6, p. 457—459.
26. *Tanaka H., Chikuma M., Harada A.* Ibid., 1976, v. 23, № 6, p. 489—491.
27. *Howard A.G., Arbab-Zabar M.H.* Ibid., 1979, v. 26, № 9, p. 895—897.
28. *Chow A., Buksak D.* Can. J. Chem., 1975, v. 53, № 9, p. 1373—1377.
29. *Grote M., Wedge P., Kettrup A.* Z. Anal. Chem., 1980, Bd. 300, № 5, S. 369—377.
30. *Grote M., Shwalk A., Kettrup A.* Ibid., 1982, Bd. 313, № 4, S. 297—303.
31. *Grote M., Shwalk A., Hueppe V.* Ibid., 1983, Bd. 316, № 2, S. 247—252.
32. *Grote M., Kettrup A.* Ibid., 1979, Bd. 295, № 5, S. 366—368.
33. *Липунова Г.Н., Первова И.Г., Липунов И.Н.* Высокомол. соед. Сер. Б, 1997, т. 39, № 9, с. 1523—1526.
34. *Lipunova G.N., Pervova I.G., Lipunov I.N.* Polymer Science. Ser. B, 1997, v. 39, № 9—10, p. 325—328.
35. *Липунов И.Н., Первова И.Г., Липунова Г.Н.* Межвуз. сб. научн. тр. Теория и практика сорбционных процессов. Воронеж, 1997, с. 108—116.
36. *Lipunov I.N., Pervova I.G., Lipunova G.N.* In: of abstracts of Trans-Mediterranean Colloquium on heterocyclic Chemistry. Marseille, France, 2000, p. 112.
37. *Первова И.Г., Липунов И.Н., Юшкова О.Г., Маслакова Т.И., Липунова Г.Н.* Сорбцион. и хроматогр. процессы, 2001, т. 1, вып. 1, с. 6—11.
38. *Первова И.Г., Липунова Г.Н., Мельник Т.А., Липунов И.Н., Сигейкин Г.И.* Ж. прикл. химии, 2003, т. 76, вып. 7, с. 1088—1091.
39. *Островская В.М., Фомин Н.А.* Высокочистые вещества, 1987, № 4, с. 183.
40. *Мельник Т.А., Первова И.Г., Маслакова Т.И., Липунова Г.Н., Липунов И.Н.* Ж. неорг. химии, 2006, т. 51, № 6, с. 986-991.
41. *Брайнина Х.З., Стожко Н.Ю., Алешина Л.В., Липунова Г.Н.* Ж. аналит. химии, 2003, т. 58, № 10, с. 1078—1084.
42. *Стожко Н.Ю., Липунова Г.Н., Маслакова Т.И., Алешина Л.В., Брайнина Х.З.* Там же, 2004, т. 59, № 2, с. 202—208.
43. *Стожко Н.Ю., Инжеватова О.В., Колядина Л.И., Липунова Г.Н.* Там же, 2005, т. 60, № 2, с. 187—192.

УДК 612.12:66.067

Высокоселективные гемо- и энтеросорбционные системы на основе полимерных ионитов

Ю. А. Лейкин, Т. А. Черкасова, И. В. Кумпаненко, А. В. Рошин

ЮРИЙ АЛЕКСЕЕВИЧ ЛЕЙКИН — доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой технологии защиты биосферы Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева (РХТУ им. Д.И. Менделеева). Область научных интересов: синтез полимерных сорбентов, физико-химические закономерности сорбционных процессов. E-mail leykina@atom.ru.

ТАТЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА ЧЕРКАСОВА — кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник кафедры технологии защиты биосферы РХТУ им. Д.И. Менделеева. Область научных интересов: направленный синтез полимерных сорбентов и исследование их свойств. E-mail tachertz@yandex.ru.

ИЛЬЯ ВЛАДИМИРОВИЧ КУМПАНИНКО — доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией физико-химических исследований поверхности и процессов полимеризации Института химической физики им. Н.Н. Семенова РАН (ИХФ РАН). Область научных интересов: физическая химия полимеров. E-mail ivkumpan@chph.ras.ru

АЛЕКСАНДР ВИКТОРОВИЧ РОШИН — доктор технических наук, профессор, заведующий отделом проблем химической безопасности ИХФ РАН. Область научных интересов: системный анализ, прикладная экология. E-mail alexr2003@mail.ru

125047 Москва, Миусская пл., д. 9, РХТУ им. Д.И. Менделеева, факс (495)200-42-04.

119991 Москва, ул. Косыгина, д. 4, ИХФ РАН, тел./факс (495)939-71-18.

Введение

В критических ситуациях под влиянием химических веществ, экстремальных механических, термических или радиационных воздействий, а также вследствие инфицирования в организме человека возникает нарушение гомеостаза и развивается состояние «токсической травмы», обусловленное наличием в крови и плазме токсичных веществ эндо- и экзогенного происхождения и их метаболитов. В то же время рост и интенсификация жизнедеятельности человека в экологической системе планеты порождает встречную эволюцию вирусов, специализирующихся на эксплуатации биоресурсов человеческого организма. Уже сегодня известно не менее 1500 вирусных генотипов, способных поражать клетки человека. Актуальным доказательством служит внезапно появившийся особо опасный штамм вируса птичьего гриппа H_5N_1 [1].

Вещества эндогенного происхождения, преимущественно низко- и высокомолекулярные продукты метаболизма белковой или полисахаридной природы, в случае недостаточного функционирования органов выведения нарушают основные компенсаторные системы организма. Токсичные вещества экзогенного происхождения, в основном «ксенобиотики», попадая в организм из загрязненной окружающей среды (перорально, ингаляционно, перкутанно), могут приводить к нарушению важнейших систем жизнеобеспечения.

Для выведения токсичных агентов используются средства эфферентной медицины (медицины выведения). В практике экстракорпоральной очистки биологических жидкостей организма в основном используются следующие методы: гемодиализ, гемо-, лимфо-, ликворосорбция и плазмоферез. Эти методы позволяют очистить биологические жидкости организма от различных токсичных веществ и их комплексов с белками, а также от почечных и печеночных метаболитов.

Сорбционные методы очистки наиболее распространены ввиду простой техники их проведения и экономической доступности. Применяемые в сорбционных методах сорбенты (в основном активные угли), как правило, неселективны или слабоселективны, обладают слабым бактерицидным действием и в ряде случаев не позволяют снизить концентрацию ксенобиотиков до нормы. Эти же недостатки свойственны и используемым в настоящее время в медицинской практике полимерным сорбентам. Из полимерных сорбентов медицинского назначения следует отметить такой вид систем, как полимер-полимерные комплексы, представляющие собой особый класс полимеров, образующихся в результате соединения макромолекул с различными по природе функциональными группами посредством водородных или ионных связей. В научной литературе наиболее широко представлены материалы об исследовании и применении интерполиэлектролитных комплексов в качестве носителей биологически активных веществ (БАВ) [2].

В настоящей статье приведены результаты исследований по разработке селективных сорбентов на основе гранулированных и нетканых сорбционных и ионообменных материалов, а также сорбентов, обладающих бактерицидным действием широкого спектра.

Лигандообменные сорбенты для сорбции эндогенных метаболитов

Сорбция в нативных средах в плане практического ее проведения выдвигает ряд сложных специфических проблем, вызванных многокомпонентностью и метастабильностью биологических систем и физиологических жидкостей организма [3].

Одной из важнейших задач, стоящих перед практической медициной, является непосредственное извлечение из крови экзо- и эндогенных токсинов для поддержания гомеостаза в случае снижения или полной потери функции органов, ответственных за выведение токсичных веществ (печени, почек). Основное препятствие широкому применению многих нейтральных сорбентов и ионитов для извлечения из крови токсичных веществ, нарушающих гомеостаз, связано с метастабильным характером системы крови и с ее несовместимостью с чужеродными поверхностями. Контакт нативной крови с такими поверхностями приводит к активации ее свертывающей системы, выделению фибрина, капсулированию гранул сорбента фибрином и, наконец, к тромбозу крови в адсорбционной колонке. Кроме того, гемосорбции сопутствуют такие опасные явления, как сорбция и разрушение наиболее чувствительных форменных элементов крови (эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов).

Первые попытки применения ионообменных смол для целей гемосорбции не были успешными [4]. Нахождение немодифицированных ионитов непосредственно в кровяном русле приводило к указанным выше осложнениям, связанным с быстрым (10–15 мин) тромбообразованием в колонке, наполненной сорбентом, даже при условии предварительного введения большой дозы антикоагулянта (гепарина).

Одно из первых решений проблемы совместимости системы сорбент–кровь было предложено Чангом [5], и оно состояло в использовании микрокапсулированных сорбентов, заключенных в тонкую полимерную оболочку, которая предотвращает контакт активной поверхности сорбента с кровью, не препятствуя проникновению метаболитов малой молекулярной массы к активным местам сорбции. Однако с увеличением молекулярной массы извлекаемого вещества скорость сорбции снижается из-за диффузионного сопротивления оболочки гранулы. Ситовой эффект оболочки практически не допускает сорбцию метаболитов большой и средней молекулярной массы, что лишает метод гемосорбции на микрокапсулированных сорбентах основных преимуществ перед системой «искусственная почка».

Следует отметить, что ряд метаболитов в кровяном русле связывается в прочные комплексы высокоэффективными полифункциональными комплексонами-белками [6], содержащимися в крови в большой концентрации. В этих случаях метаболит сорбируется гемосорбентом опосредованно через медиатор—альбумин. Подобной «медиаторной» сорбции подвержено большинство исследованных токсичных веществ (тяжелые металлы, билирубин, метгемоглобин, желчные кислоты, фенолы и т.п.). Эффективное связывание альбумином различных веществ приводит к значительному увеличению молекулярной массы сорби-

руемого комплекса альбумин-метаболизит. Данное обстоятельство определяет дополнительные жесткие требования к пористой структуре и внешней поверхности гемосорбентов, которые должны обеспечивать эффективную диффузию молекул большой и средней молекулярной массы. При этом активные группы гемосорбента должны давать более устойчивые связи и комплексы с извлекаемым токсичным веществом, чем комплексоны такого эффективного полифункционального сорбента, как альбумин. Все эти требования должны выполняться при обязательном сохранении тромборезистентности и отсутствии травмирования форменных элементов крови на активной поверхности гемосорбента.

К настоящему времени известно применение в мировой практике лишь немодифицированных [7] и капсулированных [8] активных углей и нейтральных сополимеров [9—11]. Несмотря на некоторую травму форменных элементов, колонки с модифицированными активными углями не тромбировались при условии предмедикаментозного введения в организм больного антикоагулянта — гепарина [12, 13]. Существенно большие осложнения возникли при использовании ионообменных смол — сульфокатионитов [14—16] и анионитов [16] с группами четвертичных аммониевых оснований при высоком их содержании и большой активной поверхности анионитов.

В настоящей работе предложено иное, отличное от микрокапсулирования, решение задачи синтеза ионообменных смол катионитов и анионитов для извлечения биологически активных компонентов непосредственно из крови и из биологических жидкостей организма, таких как плазма, лимфа, ликвор (спинномозговая жидкость).

При решении проблемы придания ионитам совместимости с кровью и тромборезистентности мы придерживались гипотезы блокирования активных групп участков внешней поверхности ионитов, в качестве которых использовали полимеры типа полиамфолитов природной и синтетической природы с химически привитым на их поверхность альбумином. Этот модификатор позволил достичь совместимости ионитов с кровью и предотвратить сорбцию и разрушение форменных элементов. В случае монополярных ионитов их ионогенные группы блокируются молекулами модификатора с группами противоположного заряда.

Что касается сорбентов для очистки плазмы, практически не содержащей форменных элементов крови, то они значительно менее критичны в отношении совместимости, и это облегчает решение проблемы плазмосовместимости сорбентов в случае системы кровь — сорбент.

Нами разработаны простые и технологичные способы придания плазмосовместимости сорбентов, позволяющие получать плазмосорбенты различного назначения, которые наряду с основными функциональными качествами не обладают ситовым действием — резким снижением сорбции биологически активных веществ средней и большой молекулярной массы, например, некоторых токсинов и иммуноглобулинов, вплоть до ДНК и РНК [17].

Предложено два основных направления синтеза гемосорбентов (см. схему): поликонденсация в геле на

поверхности макропористых ионитов (процессы 1—11) и введение в иониты различных химических групп, фиксирующих биологически активные компоненты (процессы 12—29).

Метод поликонденсации в структуре макропористых ионитов позволяет проводить направленную модификацию широкого спектра полимеров введением биологически активных модификаторов. Этим методом можно получать гемосорбенты на основе функциональных ионитов (сульфокатионитов и сильноосновных анионитов с группами четвертичных аммониевых оснований), не травмирующих форменные элементы крови при времени контакта более 3 ч, что достаточно для насыщения ионита в наиболее эффективном сорбционном режиме.

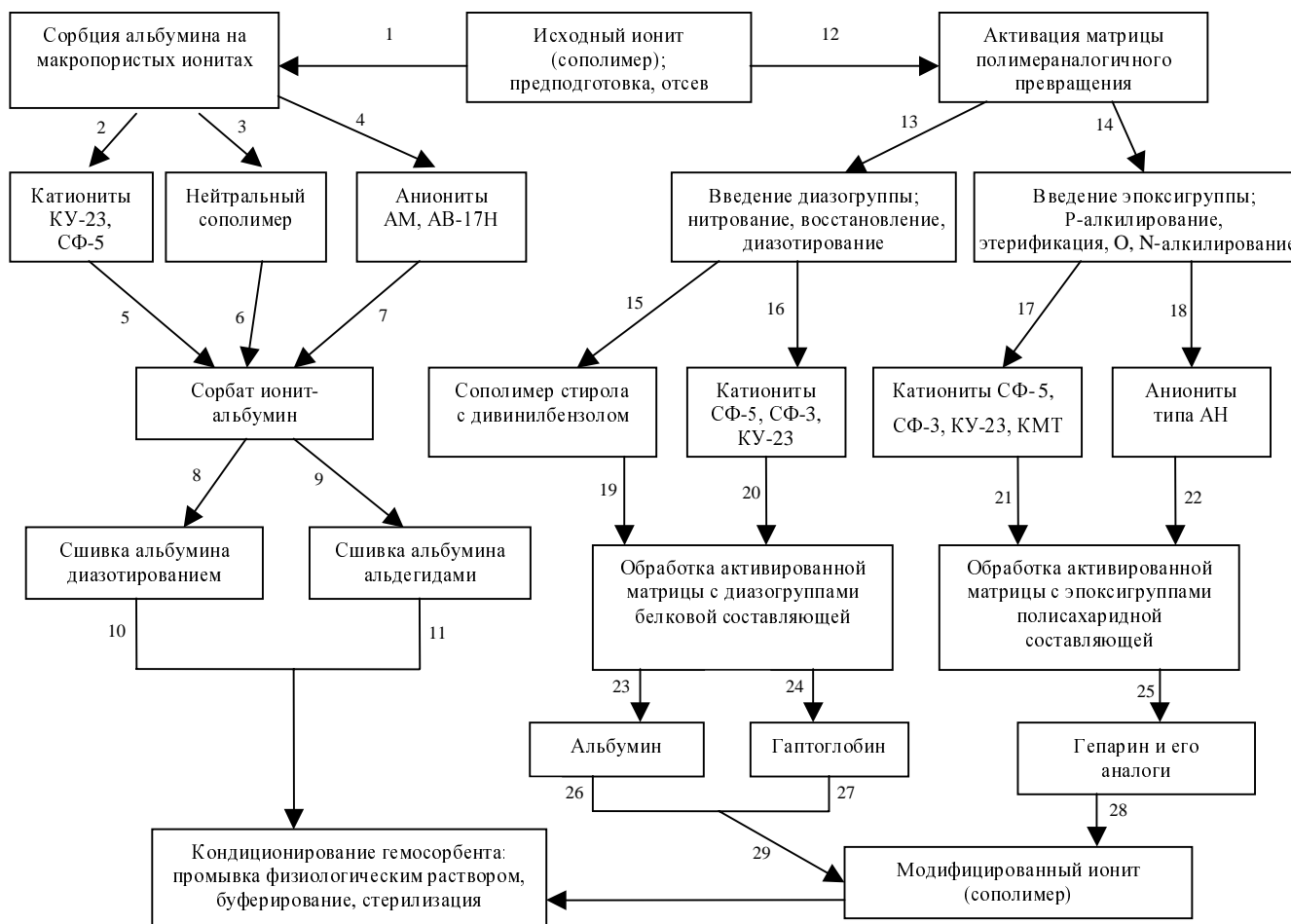
Сорбированный на сульфокатионитах альбумин показал аномально высокую устойчивость к температурным и химическим воздействиям. При стерилизации гемосорбента в жестком температурном режиме (кипячение) его тромборезистентные свойства не изменяются.

Разработанные способы введения и фиксации альбумина (процессы 1—11) в промышленные макропористые сорбенты предполагают сорбцию альбумина на ионите в наиболее активной H^+ -форме для катионитов (реакция 2) и HCO_3^- - и OH^- -формах для анионитов (реакция 4). Коэффициенты диффузии альбумина, сорбированного на сильноосновных и сильнокислотных ионитах, составляют порядка 10^{-6} cm^2/c при энергии активации менее 8—16 кДж/моль, что хорошо согласуется с литературными данными по сорбции белков на макропористых ионитах.

Способ активации полимерной матрицы, основанный на диазотировании (реакции 15, 16), наиболее эффективно работает в кислотных средах. Метод обеспечивает получение тромборезистентных катионитов на основе промышленных макропористых катионитов типа KV-23, модифицированных полистиролсульфокислотой, [полимер]— SO_3H , и катионитов типа СФМ с группами модифицированной монозамещенной полистиролфосфоновой кислоты — $P(=O)(OH)X$. Для модификации сильноосновных анионитов более перспективен способ сшивки сорбированного альбумина альдегидами.

В настоящее время проводятся расширенные исследования функциональных свойств гемо- и плазмосорбентов, полученных модификацией некоторых промышленных ионитов (отечественных и ионитов фирмы «Purolite»). В клинических условиях изучается возможность применения гемосорбентов для извлечения ионов калия, аммония, биогенных аминов, липидов различной плотности, С-реактивного белка из плазмы крови больных с заболеваниями, характеризующимися повышенным содержанием этих компонентов в крови.

В табл. 1 приведены первичные результаты экспериментов по извлечению ионов калия из плазмы в статическом режиме. Условия экспериментов: содержание калия в исходной плазме 2,01 ммоль/л, объем образца плазмы 25 мл, время контакта сорбента с плазмой 4 ч. Уже первые результаты свидетельствуют о перспективности предлагаемого подхода: модифицированные сорбенты приобретают совместимость с



Принципиальная схема синтеза и подготовки тромборезистентных гемосорбентов для сорбции эндогенных метаболитов

кровью и тромборезистентность и при этом практически сохраняются их сорбционные характеристики по ионам калия. Наибольшую способность к извлечению ионов калия показали модифицированные сульфированные сополимеры стирола и дивинилбензола фирмы «Purolite» (образцы серии С 100Е).

Этот же подход был использован для создания модифицированных катионитов, предназначенных для перорального применения в качестве энтеросорбентов.

Испытания плазмо- и энтеросорбентов проводились на реальных образцах плазмы. Плазма в данном случае использовалась как биологическая жидкость,

содержащая ионы калия и имитирующая среду организма. В качестве основы для энтеросорбента были исследованы модифицированные слабокислотные и сильнокислотные промышленные катиониты в H^+ - и Na^+ -формах. Результаты экспериментального определения емкости исследованных энтеросорбентов по калию на фоне 0,14 М раствора хлорида натрия приведены в табл. 2. Как видно, наилучшие показатели по емкости и избирательности к калию имеют сульфополистирольные катиониты типа РСФ 100Е и карбоксильные катиониты С 105Е в модификации, разрешенной к применению для очистки пищевых про-

Таблица 1

Результаты эксперимента по извлечению ионов калия из плазмы гемосорбентами.

Концентрация K^+ в исходной плазме ($C_{исх}$) 2,01 ммоль/л

| Сорбент | Навеска сорбента, г | Концентрация K^+ в плазме после сорбции (C_k), ммоль/л | $C_k/C_{исх}$ | Статическая обменная емкость сорбента, ммоль/г |
|----------------|---------------------|--|---------------|--|
| KУ-23, H^+ | 0,350 | 1,44 | 0,72 | 0,041 |
| КС-5, H^+ | 0,494 | 1,80 | 0,90 | 0,01 |
| КС-5, ТФ | 0,568 | 1,63 | 0,81 | 0,02 |
| С 100-Е, H^+ | 0,684 | 0,79 | 0,39 | 0,045 |
| С 100-Е, ТФ | 0,768 | 0,91 | 0,45 | 0,036 |

Таблица 2

Результаты эксперимента по извлечению ионов K^+ энтеросорбентами

| Марка сорбента | Концентрация K^+ в плазме после сорбции, ммоль/л | $C_k/C_{исх}$, % | Статическая обменная емкость сорбента, ммоль/г | Количество извлеченного K^+ , ммоль | |
|--|--|-------------------|--|---------------------------------------|--------------------|
| | | | | за 1 прием в день | за 3 приема в день |
| <i>Концентрация K^+ в исходной плазме 3,62 ммоль/л</i> | | | | | |
| PFC 100E | 2,79/2,58 | 22,9/28,7 | 0,128/0,166 | 1,0/1,2 | 2,9/3,7 |
| C 105 E | 2,82/2,87 | 22,1/20,7 | 0,094/0,158 | 0,7/1,2 | 2,1/3,6 |
| СФ-5 | 3,03/3,1 | 16,3/14,4 | 0,081/0,111 | 0,6/0,8 | 1,8/2,5 |
| СФМ-1 | 3,02/3,09 | 16,6/14,6 | 0,079/0,115 | 0,6/0,9 | 1,8/2,6 |
| <i>Концентрация K^+ в исходной плазме 8,02 ммоль/л</i> | | | | | |
| PFC 100E | 5,39/5,54 | 32,8/30,9 | 0,379/0,393 | 2,8/2,9 | 8,5/8,8 |
| C 105 E | 5,55/5,59 | 30,9/30,3 | 0,244/0,385 | 1,8/2,9 | 5,5/8,7 |
| СФ-5 | 4,34/5,09 | 45,9/36,6 | 0,239/0,177 | 1,8/1,3 | 5,4/4,0 |
| СФМ-1 | 4,61/4,69 | 42,4/41,6 | 0,146/0,209 | 1,1/1,6 | 3,3/4,7 |
| <i>Концентрация K^+ в исходной плазме 14,41 ммоль/л</i> | | | | | |
| PFC 100E | 10,25/10,54 | 28,9/26,9 | 0,630/0,619 | 4,7/4,6 | 14,2/13,9 |
| C 105 E | 11,48/11,58 | 20,3/19,6 | 0,394/0,612 | 3,0/4,6 | 8,9/13,8 |
| СФ-5 | 11,59/13,58 | 19,6/5,8 | 0,397/0,242 | 3,0/1,8 | 8,9/5,4 |
| СФМ-1 | 13,04/13,27 | 9,5/7,9 | 0,213/0,302 | 1,6/2,3 | 4,8/6,8 |

Примечание: в записи через косую первое числовое значение относится к сорбенту в H^+ -форме, второе — в Na^+ -форме.

дуктов и лекарственных препаратов. При режиме приема три раза в день по 15 мл оба катионита обеспечивают мягкое снижение уровня калия в крови больного.

Конечной целью проводимых исследований является разработка метода очистки плазмы непосредственно в ходе плазмофереза, что предполагает возможность вернуть больному собственную очищенную плазму. Синхронизация сорбционной очистки и отбора плазмы позволяет в значительной мере избежать потерь важнейших биологически активных веществ, фактически удаляемых при плазмоферезе. Кроме того, применение плазмофереза позволяет избежать введения в организм больного донорской плазмы, что может привести к ряду осложнений в постпериоде и к изменению иммунного статуса организма.

Бактерицидные сорбенты на основе полимерных ионитов

Разработка нерастворимых полимерных сорбентов, обладающих высокой биоцидной активностью, позволяет решить ряд проблем, возникающих в различных областях медицины, в том числе для развития эффективной антибактериальной терапии, которая особенно важна в условиях чрезвычайных ситуаций.

Биоцидный препарат, включенный в твердую фазу полимера, имеет то очевидное преимущество перед растворимой его формой, что он не выделяет в очищаемую среду дополнительных веществ, и это особенно актуально для медицины выведения. Очистка крови и биологически активных жидкостей может быть осуществлена на обычных сорбционных колонках, задерживающих и разрушающих вредные микроорганизмы.

С точки зрения проблем, возникающих при чрезвычайных ситуациях, очень важно иметь бактерицидные сорбенты, обладающие бактерицидным действием широкого спектра и универсально действующих, в частности, на такие инфекции, как сибирская язва, ящур и некоторые другие высокопатогенные микроорганизмы.

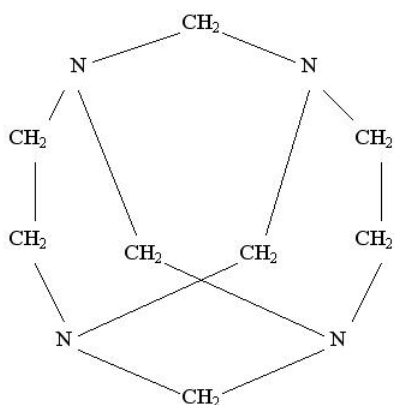
Для того чтобы добиться уничтожения широкого круга высокопатогенных микроорганизмов в крови, необходимо обеспечить в ней высокую концентрацию бактерицида. Однако существует предел повышения этой концентрации ввиду токсического эффекта бактерицида. При использовании полимера в качестве подложки для нанесения на него бактерицида можно получить существенное увеличение его эффективной концентрации в крови без ущерба для организма. Молекулы бактерицидного вещества удерживаются на поверхности полимерной подложки за счет достаточно прочных связей различной природы и могут пролонгировано вымываться в кровь, обеспечивая в ней контролируемую концентрацию бактерицида.

Осуществить закрепление веществ, обладающих терапевтической, в частности, бактерицидной активностью на поверхности полимерного сорбента, достаточно прочное и без потери биологической активности — непростая задача. Описано множество методов ее решения [18], каждый из которых учитывает специфические свойства как полимерной подложки, так и наносимого вещества.

В нашем исследовании разрабатывался метод нанесения биоцидного вещества на модифицированные полимерные иониты, хорошо зарекомендовавшие себя как основа для создания сорбентов, предназначенных для медицинской практики. Были приготовлены об-

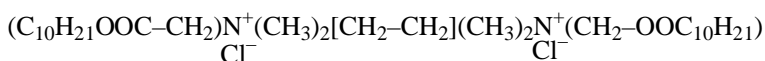
разцы бактерицидных сорбентов на основе сульфокатионита марки PFC100 E (фирма «Purolite») гелевой структуры. Этот катионит представляет собой стирол-дивинилбензолный сульфированный сополимер, выпускается в виде сферических гранул, имеет высокую обменную емкость (не менее 4,5 мэкв/г).

В качестве биоцидного вещества-модификатора использовали теотропин и этоний. Теотропин (действующее вещество азаадамтан) обладает широким спектром вирулицидного и бактерицидного действия в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий, включая споровые формы и микоплазмы. Молекула теотропина содержит четыре третичных атома азота, соединенных между собой попарно мостиками из четырех метиленовых и двух этиленовых групп:



Дезинфицирующая активность теотропина обусловлена его способностью проникать в бактериальные клетки и вирусы, взаимодействовать с аминокетонами пуриновых и пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот, блокируя их матрично-генетическую функцию. По уровню токсичности для человека и теплокровных животных теотропин относится к малотоксичным соединениям (IV класс опасности по ГОСТ 12.1.007—76).

Другой использованный нами модификатор — антибиотик этоний представляет собой продукт алкилирования и кватернизации N,N'-диметилэтилендиамина дециловым эфиром хлоруксусной кислоты:



Этоний относится к биогенным аминам, он хорошо сорбируется на катионообменных ионитах в стехиометрических и сверхстехиометрических количествах.

Модифицирование катионита теотропином проводили следующим образом. Через регенерированный сульфокатионит С 100Е в Н⁺-форме в колонке (емкость 7,89 м³, высота работающего слоя сорбента 3,1 см) пропускали водный раствор теотропина в исходной концентрации 10 мг/мл с объемной скоростью 2 мл/мин. Через определенные промежутки времени отбирали пробы раствора теотропина на выходе из колонки. Исходный, рабочий и конечный растворы анализировали по показателю рН, а твердую фазу — гравиметрическим методом с учетом влажности полимера.

Модификация ионитов этонием проводилась аналогично модификации теотропином.

Результаты испытаний бактерицидности

Полученные модифицированные гемосорбенты были испытаны на бактерицидность по отношению к стандартной тест-культуре *E.coli* (кишечная палочка), а также к *S.aureus* (золотистый стафилококк) и *B.anthraxis* (сибирская язва) с помощью луночного и колоночного методов. Для испытаний были взяты образцы бактерицидных сорбентов СБТ-2, СБТ-3 и СБТ-4, полученные модификацией сульфокатионита С 100Е теотропином, и образцы СБЭ-2 и СБЭ-4 с сорбированным антибиотиком этонием.

Испытания стандартным луночным методом проводились посевом культуры по стерилизованным чашкам Петри с питательной средой на основе глюкозы, дрожжевого экстракта, пептона, хлорида натрия и водопроводной воды; рН раствора смеси 7,0 — 7,4. В питательном слое с помощью сверл делали лунки, в которые вносили бактерицидные компоненты в заданных количествах. После выдержки в термощкафу при 28 °С в течение 2 сут. фиксировали зоны отсутствия роста культур с помощью компьютерной фотографии.

Результаты определения антимикробной активности луночным методом в статическом режиме представлены на рис. 1 и в табл. 3. Все испытанные бактерицидные сорбенты в большей или меньшей степени показали антимикробную активность. Наиболее значительные эффекты проявляют, как и следовало ожидать, образцы СБТ-2, СБТ-3 и СБЭ-4 с повышенным содержанием бактерицидного вещества.

Колоночным методом антимикробную активность определяли в динамических условиях. В качестве колонки использовали одноразовые инсулиновые шприцы, кончики которых предварительно заполняли стерильной силиконизированной стекловатой. В шприцы вносили по 0,5 г измельченного испытуемого бактерицидного сорбента и по 300 мкл стерильного физиологического раствора. В крышках пробирок «Эппендорф» емкостью 1,5 — 2,0 мл прорезали отверстия, в которые вставляли кончик шприца. Суспензию тест-культуры *E.coli* штамма К-12 по 0,5 мкл элюата наслаивали на поверхность сорбента. После прохождения микробной суспензии через столбик сорбента шприц переносили в другую пробирку. Высеивали 50 мкл элюата на чашки Петри с агаром, а оставшуюся часть повторно вносили в шприц с бактерицидным веществом. Процедуру повторяли восемь раз.

Проведено испытание антимикробной активности бактерицидных сорбентов СБТ-3, СБТ-4, СБЭ-4 в динамическом режиме по однократной схеме, не в режиме рецикла (рис. 2). Скорость прохождения микробной суспензии через столбик полимера в колонках различалась: время прохождения через сорбент СБЭ-4 — 2 мин, СБТ-3 — 1,5 мин, СБТ-4 — 30 с. Общее время контакта микробной взвеси с бактерицидным веществом составило 40 мин. Из рис. 2 видно, что после каждой последующей элюции (с 1 по 8) количество микробных клеток на единицу объема уменьшается, причем в большей степени при прохождении через столбик сорбента СБТ-4, в меньшей степени — через СБТ-3. При испытании сорбента СБЭ-4 уже после первой элюции рост микроорганизма при высеивании на чашки с мясопептонным агаром не наблюдался.

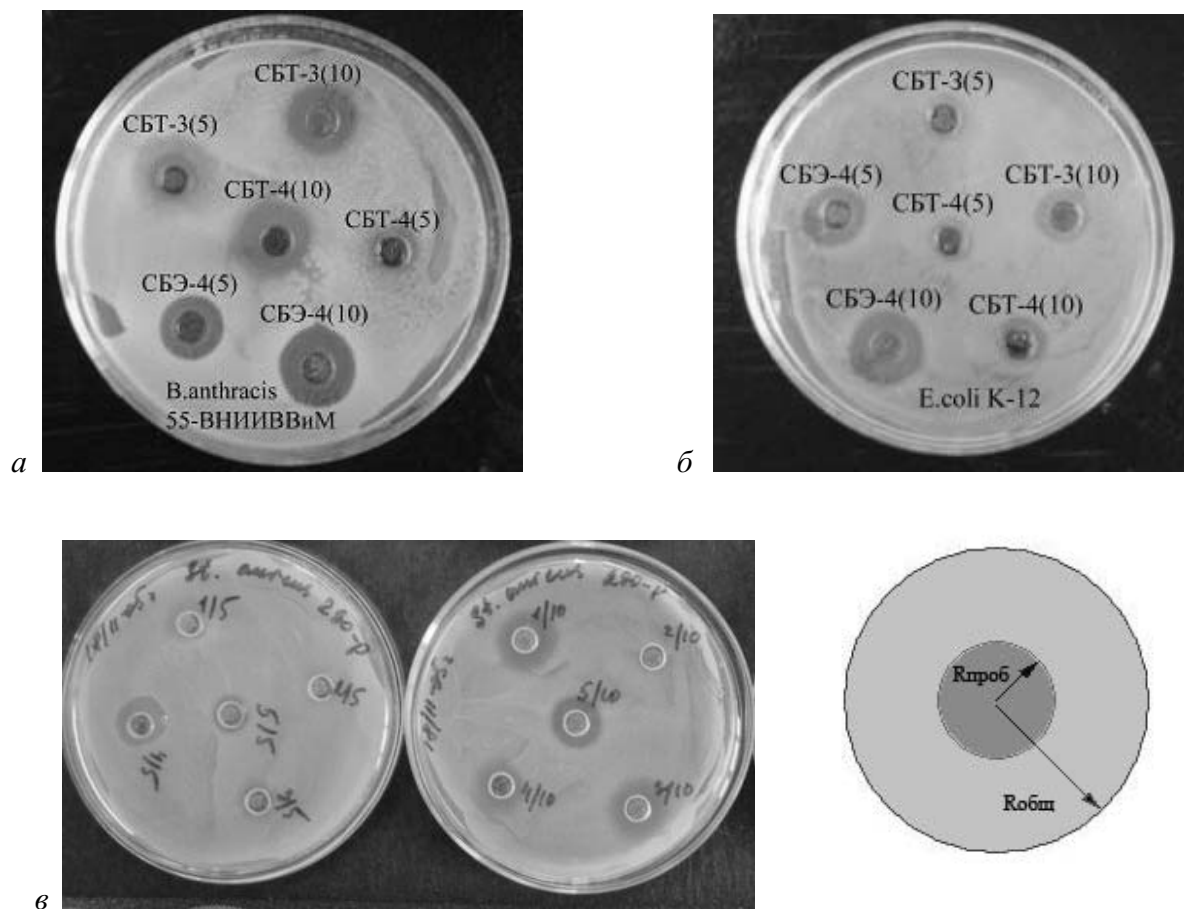


Рис. 1. Результаты испытаний бактерицидных сорбентов, модифицированных теотропином и этонием, луночным методом в статическом режиме:

а — *B.anthraxis*; б — *E.coli*; в — *S.aureus*. На рис. в через косую обозначены сорбент и навеска полимера; сорбенты: 1 — СБТ-2; 2 — СБЭ-2; 3 — СБТ-3; 4 — СБЭ-4; 5 — СБТ-4; навеска 5 и 10 мг; $R_{общ}$ — общий радиус пятна, $R_{проб}$ — видимый радиус пробы сорбента

Таблица 3

Результаты определения антимикробной активности препаратов луночным методом

| Бактерицидный сорбент | Содержание бактерицида, мг/г | Зона подавления роста культуры (диаметр, мм) | | |
|-----------------------|------------------------------|--|-----------------------|-------------------------------|
| | | <i>E.coli</i> K-12 | <i>S.aureus</i> 290-P | <i>B.anthraxis</i> 55 |
| СБТ-2 | 1356 | $\frac{2}{3}$ | $\frac{2}{4,5}$ | $\frac{3,5}{4,5}$ |
| | | | | |
| СБТ-3 | 1330 | $\frac{1,5}{2,5}$ | $\frac{0,5}{4,5}$ | $\frac{2,0/5,0^*}{4,0/7,0^*}$ |
| | | | | |
| СБТ-4 | 1000 | $\frac{1,0}{1,5}$ | $\frac{1,0}{3,0}$ | $\frac{3,0}{3,5}$ |
| | | | | |
| СБЭ-2 | 68 | $\frac{1,0}{3,0}$ | — | — |
| | | | | |
| СБЭ-4 | 500 | $\frac{3,0}{4,5}$ | $\frac{1,0}{3,0}$ | $\frac{3,0}{4,25}$ |
| | | | | |

Примечание: В записи через дробь в числителе — показатель активности навески сорбента в 5 мг, в знаменателе — в 10 мг. * 2,0/5,0 и 4,0/7,0 — зона полного подавления роста тест-культуры/зона частичного подавления роста

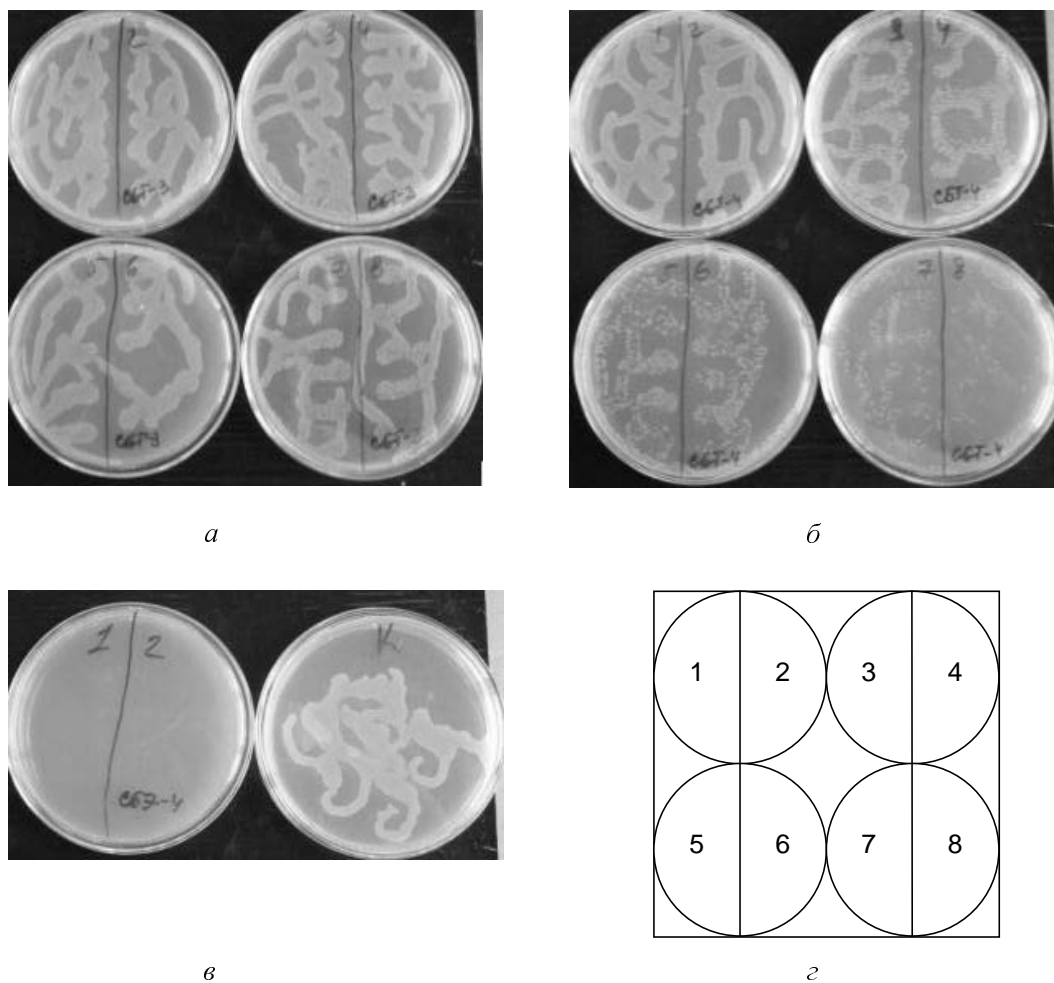


Рис. 2. Результаты испытаний бактерицидных сорбентов, модифицированных теотропином и этинием, колоночным методом в динамическом режиме:

а — СБТ-3; б — СБТ-4; в — СБЭ-4; г — номера элюции (1—8)

Таким образом, на основании результатов испытаний бактерицидных сорбентов можно заметить, что наибольшей антимикробной активностью обладает полимер, модифицированный этинием (СБЭ-4). Это показали оба метода — луночный и колоночный.

Проведенные предварительные исследования показали перспективность предложенного подхода к приданию сорбентным ионитам бактерицидных свойств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Serbin A.V. Ecological Congress International J., 1997, v. 1, № 2, p. 31—34.
2. Политова Н.К., Бешлей И.В. Вестн. ИБ, 2002, № 6, с. 9—12.
3. Лопухин Ю.М. Тр. II МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова, 1977, т. 80, вып. 17, с. 2—5.
4. Muirhead E., Reid H. J. Lab. Clin. Med., 1948, v. 33, p. 841—844.
5. Chang T.M.S. Artificial Cells. Springfield, Illinois, USA, Charles C. Thomas, 1972, p. 207.
6. Чегер С.И. Транспортная функция сывороточного альбумина. Бухарест: изд. Акад. Румынии, 1975.
7. Yatizidis H.A. Proc. Supor. Dialysis Transplant Assos., 1964, № 1, p. 83—84.
8. Chang T.M.S. J. Physiol. (Canada), 1969, v. 47, p. 1043—1045.
9. Artificial liver Support. Eds. R. Williams. J.M. Murray-Lyon. Wells, Tunbridge, Gr. Britain, 1975, p. 367.
10. Weston M.J., Gazzard B.F. Gut, 1974, № 5, p. 482—486.
11. Rosenbaum J.L., Winsten S., Kramer H.S. Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs, 1970, v. 16, p. 134—140.
12. Dunca G., Kolf W.J. Ibid., 1965, v. 11, p. 172—182.
13. Лопухин Ю.М., Машков О.А., Крылов К.П. и др. Эксперим. хирургия и анестезиол., 1977, № 4, с. 73—77.
14. Афанасьева П.А. Автореф. дисс. на соиск. канд.техн.наук ВНИИМТ, Москва, 1972.
15. Wilson R.A., Hoffman A.F., Kuster G.G.R. Gastroenterology, 1974, v. 66, p. 95—107.
16. Lopuchin U.M., Molodenkov M.N., Leykin U.A. e. a. Lancet, 1975, v. 22, p. 461.
17. Коваленко Н.А., Соколов Н.Н., Черкасова Т.А., Лейкин Ю.А., Вонский В.Е. Биоорг. химия, 1992, № 2, т. 18, с. 210—216.
18. Валуев Л.И., Валуева Т.А., Валуев И.Л., Платэ Н.А. Успехи биологической химии, 2003, т. 43, с. 307—328.