

## РАЗРАБОТКА НОВЫХ ФТОРПОЛИМЕРСОДЕРЖАЩИЕ БИМЕДИЦИНСКИЕ КОМПОЗИЦИОННЫЕ СОРБЦИОННЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ: СИНТЕЗ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ

### ЯНГИ ФТОРПОЛИМЕРСОСЛИ БИОТИББИЙ КОМПОЗИЦИОН СОРБЦИОН НАНОМАТЕРИАЛЛАРНИ ИШЛАБ ЧИҚИШ: АЖРАТИШ ВА ҚЎЛЛАШ ИСТИҚБОЛЛАРИ

#### DEVELOPMENT OF NEW FLUOROPOLYMER-CONTAINING BIOMEDICAL COMPOSITE SORPTION NANOMATERIALS: SYNTHESIS AND APPLICATION PROSPECTS

*Муйдинов Махмуд Рахматович* – д.х.н., академик РАЕ  
Central Asian Medical University  
[mmuydinov@yandex.ru](mailto:mmuydinov@yandex.ru)

**Аннотация.** Для выделения и очистки биополимеров в неденатурирующих условиях были синтезированы композиционные сорбционные материалы, модифицированные наноразмерными слоями политетрафторэтилена, на основе пористых кремнеземов и оксида алюминия. Приведены примеры их использования для разделения различных смесей пептидов, белков и очистки нуклеиновых кислот из разных источников. Данные материалы сочетают механические свойства неорганической матрицы со специфическими сорбционными свойствами полимерной фазы. Они характеризуются биосовместимостью и повышенной гидролитической стабильностью в щелочных условиях. На примере синтеза гемосорбентов проведено сравнительное изучение сорбции белков различными видами модифицированных и немодифицированных гемосорбентов, а также их воздействия на белки плазмы. Показана целесообразность применения указанных сорбентов в лабораторной практике, поскольку они демонстрируют высокую селективность по отношению к нуклеиновым кислотам (ДНК и РНК) и белкам.

**Ключевые слова:** композиционные фторполимерсодержащие сорбенты, минеральные модифицированные гемосорбенты, хроматография биополимеров, разделение ДНК, РНК, белков.

**Annotatsiya.** Biopolimerlarni denaturatsiyalanmagan sharoitlarda ajratish va tozalash uchun g'ovakli kremniy va alyuminiy oksidi asosida asosida politetrafloroetilen (PTFE) bilan modifikatsiya qilingan kompozitsion sorbsion materiallar sintez qilindi. Ushbu materiallardan peptidlar, oqsillar aralashmalarini ajratish va turli manbalardan olingan nuklein kislotalarni tozalashda foydalanish misollari keltirilgan. Mazkur materiallar noorganik matritsaning mexanik xususiyatlarini va polimer fazaning maxsus sorbsion xususiyatlarini birlashtiradi. Ular biokompatibillik va ishqoriy sharoitlarda yuqori gidrolitik barqarorlik bilan ajralib turadi. Gemasorbentlar sintezi misolida modifikatsiyalangan va modifikatsiya qilinmagan gemasorbentlarning oqsillarni sorbsiyasi va plazma oqsillariga ta'siri bo'yicha taqqoslash tadqiqotlari o'tkazildi. Ushbu sorbentlarning laboratoriya amaliyotida qo'llanilishi maqsadga muvofiqligi isbotlandi, chunki ular nuklein kislotalar (DNA va RNA) va oqsillarga yuqori selektivlikni namoyon etadi.

**Kalit so'zlar:** kompozitsion PTFE-bilan modifikatsiyalangan sorbentlar, mineral modifikatsiyalangan gemasorbentlar, biopolimer xromatografiyasi, DNA, RNA, oqsillarni ajratish.

**Abstract.** For the isolation and purification of biopolymers under non-denaturing conditions, composite sorption materials modified with nanolayers of polytetrafluoroethylene (PTFE) were synthesized based on porous silica and aluminum oxide. Examples of their use in separating various mixtures of peptides, proteins, and purifying nucleic acids from different sources are provided. These

*materials combine the mechanical properties of an inorganic matrix with the specific sorption properties of the polymer phase. They are characterized by biocompatibility and enhanced hydrolytic stability under alkaline conditions. A comparative study of protein sorption using various types of modified and unmodified hemasorbents and their effects on plasma proteins was conducted using synthesized hemasorbents as an example. The feasibility of using these sorbents in laboratory practice has been demonstrated, as they exhibit high selectivity for nucleic acids (DNA and RNA) and proteins.*

**Keywords:** *composite PTFE-containing sorbents, mineral-modified hemasorbents, biopolymer chromatography, separation of DNA, RNA, proteins.*

Биотехнология играет важную роль в развитии биомедицинских наук, открывая новые горизонты для диагностики, лечения и понимания человеческого организма. Вопрос повышение уровня медицины стал еще одной причиной активного изучения и усовершенствования знаний в биотехнологии. Развитие и достижения биотехнологии тесно связаны и зависят от комплекса знаний не только биологических наук, но и многих других дисциплин такие как: химия как одна из важнейших наук способствующие рождению новых изобретений для качественной жизни человека и нанотехнологии создающие функциональных устройств в нанометровом диапазоне.

Нанотехнологии в медицине представляют собой создание и использование наномасштабных биосовместимых материалов и технологий для диагностики, лечения и мониторинга заболеваний. Особое значение имеет сочетание биологии и нанотехнологий, которое охватывает широкий круг технологических подходов, включая: применение нанотехнологических устройств и наноматериалов в биотехнологии; создание биотехнологических продуктов, свойства которых определяются размерными характеристиками (для объектов размером от 1 до 100 нм); использование биотехнологических подходов, основанных на принципе контролируемой самоорганизации наноструктур.

Основные направления современной биотехнологии включают разработку сорбционных материалов для их дальнейшего использования при создании высокоэффективных сорбентов, таких как: хроматографические сорбенты для биосепарации и биоанализа, матрицы для иммобилизации биополимеров и ферментов, биосовместимые гемосорбенты для гемосорбции и другие полезные продукты для народного хозяйства, медицины и ветеринарии. Разработка таких новых биомедицинских материалов предполагает их взаимодействие с биологическими объектами и занимает важное место в деятельности практически всех стран. Достижение превосходства в биотехнологии является одной из центральных задач экономической политики развитых стран.

В Узбекистане сегодня стоит задача создания научного потенциала, необходимого для развития нанотехнологий до уровня, позволяющего стране войти в число мировых лидеров, производящих конкурентоспособную продукцию с использованием нанотехнологий. Это требует, в первую очередь, подготовки специалистов для научной и инновационной деятельности в области нанотехнологий. Для достижения этой цели необходимо разработать и реализовать целевую государственную научно-техническую программу «Формирование в Узбекистане научного потенциала для развития нанотехнологий», которая будет направлена на достижение значимых результатов в отдельных направлениях научных исследований и разработок в этой области.

В области медицинской биотехнологии особенно актуальной является разработка сорбционных материалов с заданными свойствами. Модифицированные наноразмерными слоями политетрафторэтилена композиционные сорбционные материалы представляют собой перспективные биоматериалы. Они могут использоваться для одностадийного выделения нуклеиновых кислот из сложных биологических смесей (например, лизатов клеток и тканей, цельной крови, растительного сырья), для высокоэффективной хроматографии белков и

биополимеров, а также для создания биосовместимых гемосорбентов и других продуктов, востребованных в народном хозяйстве, медицине и ветеринарии.

Особенно перспективны композиционные полимерсодержащие сорбенты, которые сочетают механическую прочность, контролируемую пористость исходного носителя с уникальными сорбционными свойствами и биосовместимостью привитой фторполимерной фазы.

На протяжении последнего десятилетия одними из самых популярных сорбентов для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) биополимеров являются разработанные фирмой Toyo Soda Manufacturing композиционные сферические материалы типа TSK-GEL SW, имеющие размеры частиц  $10 \pm 2$  мкм и диаметр пор 130 Å, 240 Å и 450 Å. Способ получения и состав полимерного покрытия этих сорбентов не были опубликованы.

Значительным недостатком существующих сорбентов являются их низкая сорбционная емкость, высокая стоимость и химическая нестабильность. В отличие от них, синтезированные нами новые сорбционные материалы обладают рядом существенных преимуществ. Основные из них: высокая механическая прочность, проницаемость, химическая и термическая стойкость (в сравнении с сорбентами фирмы Toyo Soda Corp.), стабильность свойств в широком диапазоне значений pH (от 1 до 12), низкое сопротивление массообмену, устойчивость к гидравлическому и гидростатическому давлению (в сравнении с аналогами фирмы DuPont), а также высокая стойкость к воздействию высоких температур при стерилизации и к микробному разрушению. Кроме того, эти материалы легко регенерируются.

Нами разработаны новые методы нанесения фторполимерного слоя на поверхность исходных материалов. Этот слой образуется из политетрафторэтиленсодержащих наноструктур, привитых к поверхности твердых матриц, и его толщина составляет всего 2–10 нм. Для получения таких наноматериалов использованы радиационно-химический метод, обработка озоном, теломерами и перфторозонидами [1-5].

Процессы получения биосовместимых гидрофобных пористых кремнеземных наноматериалов (БПКН) изучались с использованием широкого спектра методов, включая низкотемпературную сканирующую калориметрию, ИК- и ЭПР-спектроскопию, адсорбционные и хроматографические методы, ртутную и водяную порометрию, электронную микроскопию, гравиметрию и элементный анализ. Для получения наноматериалов использовали радиационно-химический метод, обработку озоном, теломерами и перфторозонидами.

Сегодня мы умеем создавать на  $1 \text{ nm}^2$  поверхности неорганической матрицы от 3 до 5 активных центров (радикалов), прививать к ним от 100 до 200 мономеров тетрафторэтилена (ТФЭ) в виде растущего макрорадикала и дополнительно присоединять 1–2 молекулы другого соединения в форме долгоживущего макрорадикала. Эти процессы осуществляются за счёт образования ковалентных связей между фторполимерным макрорадикалом и матрицей. Все этапы данного процесса тщательно контролируются, что позволяет не только управлять структурой получаемого материала, но и адаптировать её к заданным параметрам.

Созданная технология открывает возможность целенаправленно манипулировать веществом на масштабах от одного до десяти нанометров. Это включает создание объектов и материалов с уникальными свойствами благодаря высокой точности структуры, достигаемой на атомарном и молекулярном уровнях. Мы можем не только точно определять свойства получаемых объектов, но и контролировать их с высокой степенью точности, обеспечивая перспективное применение в различных отраслях науки и техники.

Этот подход открывает путь к целенаправленному созданию наноструктур из отдельных молекул. Разработанные методы позволяют управлять процессами прививочной полимеризации тетрафторэтилена (ТФЭ) на поверхности пористых высокодисперсных матриц для придания им заданных свойств. Метод является универсальным и может использоваться для модификации материалов различной природы.

Этот процесс позволил нам впервые в мировой практике создать биосовместимые гидрофобные и пористые композиционные наноматериалы (БГПКН) с заранее заданными свойствами:

- регулируемые гидрофильность и гидрофобность;
- устойчивость к агрессивным средам с возможностью регулирования;
- заданная пористость и структура;
- избирательная сорбционная способность по ионным, токсичным и другим показателям;
- био- и гемосовместимость;
- возможность многократной регенерации сорбента.

Эти свойства открывают широкие перспективы для применения созданных материалов в различных областях науки и техники, включая медицину, экологию и промышленность.

Применение новых технологий модификации поверхности с использованием прививочной полимеризации наноразмерными слоями политетрафторэтилена (ПТФЭ) позволяет создавать биомедицинские материалы с повышенной биологической совместимостью. В качестве исходных материалов для таких сорбентов используются пористые неорганические матрицы, основанные на оксидах кремния, алюминия и других элементов. Полимерные матрицы обладают рядом преимуществ: они обеспечивают высокую химическую стабильность, заданные адсорбционные свойства, наличие необходимых функциональных групп и биосовместимость. Однако они недостаточно жесткие, что не позволяет создавать структурно однородные мезопористые системы (с диаметром пор около 10–100 нм). Неорганические матрицы, напротив, обладают высокой жесткостью и позволяют формировать морфологически совершенные мезопористые структуры. Однако они не обеспечивают необходимого химического разнообразия поверхностного слоя, отсутствия неспецифической сорбции биологических молекул и частиц, а также химической стабильности. Широко применяемая поверхностная модификация неорганических матриц кремнийорганическими соединениями устраняет эти недостатки лишь частично, оставляя открытым вопрос о создании материалов, объединяющих преимущества как полимерных, так и неорганических матриц.

Предложенный нами подход позволяет объединить в одном материале преимущества неорганических и фторполимерных компонентов [6]. В результате получают модифицированные композиционные сорбционные материалы с наноразмерными слоями политетрафторэтилена, поверхность которых, контактирующая с биологическими молекулами и частицами, обладает свойствами фторполимера, а жесткость и пористость (морфология) определяются исходной неорганической матрицей.

На основе этого подхода была создана серия био- и гемосовместимых селективных гемосорбентов, а также сорбционных материалов, предназначенных для выделения, очистки и концентрирования биологически активных соединений с сохранением их нативных свойств. Прямой синтез таких материалов обеспечит, что химически связанное с поверхностью фторполимерное покрытие имеет наноразмерной толщины на пористых неорганических матрицах и получение наноструктурированного продукта происходит в одну стадию путем наноструктурирования в процессе модифицирования. Эти материалы находят применение в разработке новых методов биохимического анализа и экспресс-диагностики.

Сущность метода синтеза заключается в покрытии поверхности исходного материала тонким (2–10 нм) слоем фторполимера, который формируется путем прививки мономера к поверхности с последующим химическим модифицированием привитого полимера. Технология получения таких материалов является оригинальной, универсальной, простой в реализации, экономичной и экологически безопасной [7, 8].

Структурные характеристики исходных и модифицированных сорбентов изучались методом ртутной порометрии. Полученные дифференциальные и интегральные кривые распределения пор по эффективным диаметрам показали, что в модифицированных образцах

мезопористых материалов (МПС) средние значения диаметров пор уменьшались. Однако, несмотря на это, материалы сохраняли высокую пористость.

Уменьшение удельного объема пор также подтверждало наличие полимерного покрытия не только на внешней поверхности частиц, но и на внутренней поверхности пор. Разница в диаметре пор между исходными и модифицированными МПС в среднем составляла 60 Å [9,10].

При создании биосовместимых гидрофобных пористых композиционных наноматериалов (БГПКН), на внешней и внутренней поверхностях пор формируется покрытие наноразмерной толщины из привитого фторполимера, которое прочно связано с твердой матрицей.

Биосовместимые гидрофобные пористые композиционные наноматериалы (БГПКН) являются передовыми наноустройствами. Они обладают высокой прочностью, меньшим коэффициентом трения, повышенной радиационной стойкостью и отличной биосовместимостью. Повышенная стабильность к воздействию гамма-излучения позволяет проводить стерилизацию с использованием ионизирующего излучения, что снижает эксплуатационные расходы гемосорбционных колонок в медицине.

Благодаря стабильной поверхности (до 1000 м<sup>2</sup> на 1 г), БГПКН способны эффективно связывать значительные количества токсичных веществ за счёт неспецифического ван-дер-ваальсовского взаимодействия. Их биосовместимость позволяет проводить процедуры гемосорбции напрямую с использованием цельной крови, исключая этап отделения клеток, который требуется при плазмасорбции.

Кроме того, БГПКН исключают выделение пылевых частиц, что предотвращает развитие пылевой эмболии — осложнения, которое крайне сложно поддается лечению.

В настоящее время разработана серия опытных образцов селективных гемосорбентов на основе неорганической матрицы из оксида алюминия.

Полученные перфторполимерсодержащие материалы продемонстрировали высокую устойчивость в диапазоне значений рН среды от 1 до 14. В частности, в щелочных и сильно кислых средах их устойчивость значительно превосходит немодифицированные кремнеземы и коммерческие силилированные силикагели. Промывание таких сорбентов органическими растворителями (например, этанолом, пропанолом, ацетонитрилом, хлороформом и другими), а также водными растворами солей с высокой ионной силой или 6М мочевиной не изменяет их адсорбционных свойств. Эти материалы также выдерживают длительную термообработку при температурах до 200 °С без заметной потери хроматографических характеристик.

Разнообразие фторполимерных наноструктур, получаемых в результате прививочной полимеризации тетрафторэтилена (ТФЭ) и последующего модифицирования привитого ПТФЭ, определяет широкую область применения композиционных материалов. Это можно наглядно продемонстрировать, в частности, на примерах разделения и очистки биополимеров, таких как нуклеиновые кислоты и белки. В данном контексте фторполимерные покрытия наноразмерной толщины на пористых матрицах рассматриваются как ключевые наноструктурированные объекты [11].

В настоящее время для биосепарации используются различные коммерческие материалы, такие как наборы Qiagen, Omega Biotek и другие, которые в определенной степени удовлетворяют существующим потребностям. Как правило, схемы выделения целевого вещества включают следующие этапы: сорбцию выделяемого компонента смеси на поверхности носителя, отмывку нежелательных примесей и десорбцию очищенного компонента при элюции с использованием подходящего буфера. Однако многостадийность этого процесса приводит к потерям целевого продукта и снижению его концентрации. Кроме того, не всегда удаётся достичь высокой степени очистки от низкомолекулярных примесей (в первую очередь солей), что в ряде случаев требует проведения дополнительной очистки.

Биосепарационные свойства модифицированных политетрафторэтиленом сорбционных материалов, созданных на основе макропористого стекла и оксида алюминия с использованием метода прививочной полимеризации, демонстрируются на примере типичной

хроматограммы смеси, содержащей плазмиду pBR 322 из *E. coli*, РНК и сопутствующие белки (рис. 1).

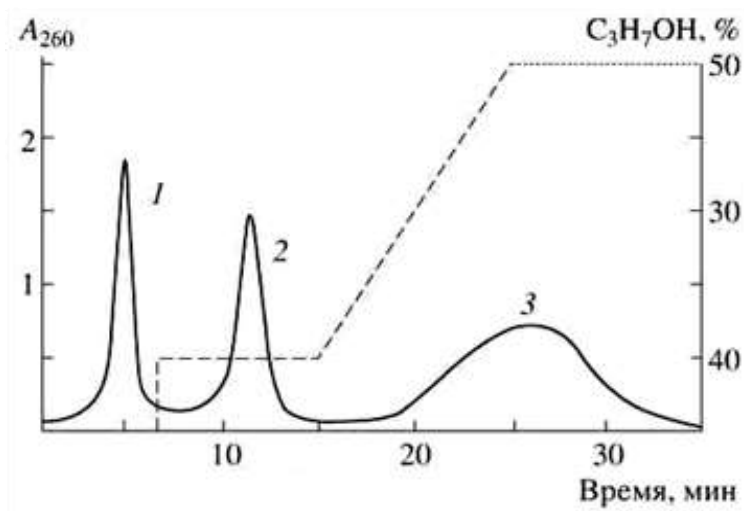


Рис. 1. Очистка плазмиды pBR 322 из *E. coli* от РНК и сопутствующих белков на колонке, упакованной носителем Trisorpor™-500, модифицированным ПТФЭ (размер колонки: 250 × 4,6 мм).

Сорбент был получен методом радиационной постполимеризации в присутствии носителя.

Элюент: 0,01 М Tris-HCl (pH 7,5–8,2), градиент: 0–50 % н-пропанола в течение 18,5 мин (показан пунктирной линией), скорость элюирования: 100 мкл/мин. 1 — плазида, 2 — РНК, 3 — белки.

Операции очистки интерферона – многостадийные и длительные. Поэтому поиски новых методов очистки или новых сорбентов актуальны и сейчас. Фторполимерсодержащие кремнеземные сорбенты эффективны и в том случае, когда нужно очистить белки от нуклеиновых кислот. Рисунок 2 иллюстрирует методику очистки  $\gamma$ -интерферона с использованием перфторполимерсодержащих сорбентов.

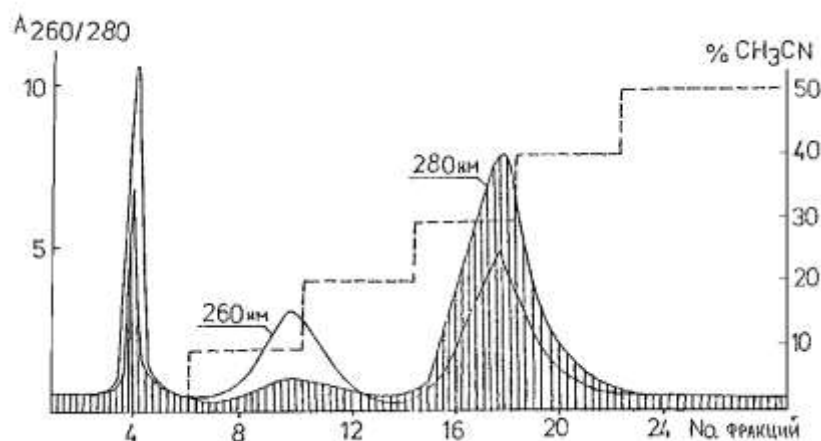


Рис.2. Очистка  $\gamma$ -интерферона от примесей нуклеиновых кислот.

Колонка: МПС-2000+ПТФЭ, 50x8мм. Элюент: 7М мочевины в 0,01 М трис-НСI буфер, pH 7,7. Градиент: 0-50 %  $\text{CH}_3\text{CN}$ .

При элюции градиентом концентрации ацетонитрила в 0,01 М трис-НСI буфер, (pH = 7,7) + 7М-мочевина нуклеиновые кислоты выходят одним пиком при концентрации

ацетонитрила 10 %. Интерферон элюируется 40 % ацетонитрилом. Приведенный метод является альтернативным существующим и обладает рядом преимуществ: высокой скоростью очистки, большой емкостью загрузки колонок, возможностью использования бессолевого буфера и высокой чистотой выделяемых нуклеиновых кислот. Существенными преимуществами предлагаемых сорбентов по сравнению с известными на сегодняшний день сорбентами являются быстрота и чистота выделяемых объектов, высокая емкость и доступность [12].

В Государственном научно-исследовательском институте генетики и селекции промышленных микроорганизмов (ГОСНИИГЕНЕТИКА) был разработан новый способ очистки инсулина из поджелудочной железы животных с использованием модифицированных фторполимерами сорбентов [13]. Новый способ существенно сокращает энергозатраты операций – четыре операции при выделении и две операции при очистке целевого продукта, что в свою очередь значительно удешевляет весь процесс и сокращает время его проведения. Содержание сопутствующих белковых примесей в инсулине сведено к минимуму, что позволяет получить инсулин высокой степени очистки, с меньшим содержанием сопутствующих белковых примесей, чем в лучших зарубежных образцах. На основании полученных результатов сделан вывод о высокой эффективности модифицированных фторполимерами сорбентов для получения лекарственных форм инсулина, которые могут быть использованы в медицинской практике.

Исходя из таких уникальных свойств ПТФЭ, а также из высокой чувствительности сорбентов к составу элюента, сорбенты применяли либо для избирательной фиксации биологических макромолекул, которые желательнее выделить или очистить, либо для избирательного задерживания примесей. Избирательная фиксация биополимеров легко может быть достигнута путем регулирования величины полярности и/или гидрофобности элюента в соответствии с хорошо известными методами, применяемыми в обращенно-фазовой и гидрофобной хроматографии. В лаборатории медиаторов иммунной системы ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН был успешно использован модифицированный фторполимерами сорбент на основе макропористого стекла марки МПС, для выделения препарата "Миелопид", разрешенного Фармкомитетом и Ветфармсоветом к применению в медицине (разрешение No, 10 от 29, 05, 87) и ветеринарии (разрешение No.432-3 от 27, 03, 89), из культуры клеток костного мозга, а также для выделения из данного препарата биологически активных веществ, обладающих иммунорегуляторной и дифференцировочной активностями [14].

Таким образом, фторполимерные композиционные сорбенты демонстрируют высокую эффективность как при разделении нуклеиновых кислот, так и белков. Их высокая селективность обусловлена общим свойством фторированных полимеров – чрезвычайно низкой поверхностной энергией соответствующих покрытий [15].

Кремнеземные сорбенты, полученные методом радиационной полимеризации политетрафторэтиленом на основе силикагелей Лихросфер и Армсорб с диаметрами пор 10, 30 и 50 нм, успешно использовались для разделения стандартных пептидов, пептидов бромцианового гидролизата бактериородопсина, защищенных и незащищенных олигонуклеотидов, а также жирорастворимых витаминов [11].

Сорбент является ключевым элементом хроматографической системы, от характеристик и типа которого зависит эффективность разделения веществ. К сожалению, сорбенты остаются слабым звеном отечественного производства хроматографов: выбор материалов ограничен, качество оставляет желать лучшего, а выпуск практически отсутствует. В результате приходится использовать дорогостоящие зарубежные сорбенты.

В настоящее время лидерами в разработке и производстве композиционных материалов, применяемых в наукоемких технологиях медицинского, научного и военного назначения, являются США, Япония, Германия и Великобритания. Эти страны, благодаря внедрению инновационных материалов для получения биологически активных субстратов, диктуют мировые цены на такие продукты. Отставание отечественной науки и производства

в этой области делает нашу страну зависимой от зарубежных производителей, что тормозит развитие науки, промышленности и экономики в целом.

Стоимость хроматографических колонок составляет от 1000 до 1500 долларов США, а в случае российских аналогов — до 1 млн рублей. Традиционное колоночное хроматографическое разделение остаётся относительно медленным процессом и требует применения высоких давлений. Современные сорбенты имеют диаметр частиц 3–10 мкм, что создаёт значительное сопротивление и приводит к необходимости использования давлений порядка 400 атм. Однако улучшение однородности частиц позволяет снизить рабочее давление до 50–150 атм. [16].

Более эффективным и современным методом разделения компонентов биологических смесей является использование компактных спин-картриджей (колонок), которые обеспечивают автоматизацию биосепарации и сокращают её время до нескольких минут. Такой метод не требует высоких давлений, которые могут разрушать биомолекулы. Исключительно высокая сорбционная ёмкость, селективность и уникальные параметры сорбции/десорбции модифицированных политетрафторэтиленом сорбентов гарантируют надёжное выделение нуклеиновых кислот. Картриджи, упакованные всего 40–60 мг сорбента, позволяют эффективно разделять нуклеиновые кислоты и белки за одну стадию без изменения состава элюента.

Проведённые испытания подтвердили универсальность таких сорбентов, которые могут успешно использоваться для разделения белков и нуклеиновых кислот из сложных биологических смесей. Композиционные сорбенты, модифицированные фторполимерами, продемонстрировали высокую эффективность в биосепарации, особенно при выделении нуклеиновых кислот из различных источников.

Высокая степень очистки ДНК позволяет использовать её напрямую для проведения ПЦР-анализа. Сорбенты, содержащие всего 60 мг адсорбента, позволяют выделять чистую ДНК как в традиционной колоночной хроматографии, так и с использованием компактных картриджей.

Изучение воздействия сорбционных методов лечения на уровень белков плазмы во время операций открывает новые терапевтические возможности. Разработаны схемы сочетанного применения эфферентных методов с другими видами лечения, такими как аллопатия, физиотерапия и хирургия.

Собранные данные свидетельствуют об эффективности сорбционных технологий при лечении широкого спектра заболеваний, включая воспалительные, эндокринные, неврологические, иммунные и аллергические нарушения, а также патологии, связанные с реологией крови, обменом веществ и интоксикациями [17].

**Влияние гемосорбции протеомный статус.** Исследование белков человека и его генома привели к возникновению протеомики – разделу прикладной науки, изучающему биохимические свойства белков в живых системах. Понятие «ПРОТЕОМ» включает в себя совокупность всех белков биологической системы. Изучение влияния сорбционных методов на протеомный статус (совокупность всех белков биологической системы) играет ключевую роль в улучшении терапевтического эффекта. Невнимание к этим данным или их недооценка могут привести к серьёзным осложнениям, связанным с резким изменением уровня белков плазмы во время лечения.

Изучение воздействия экстракорпоральных методов на протеомный статус позволит существенно повысить терапевтические возможности их применения. Данные о спектре и количестве белков, поглощаемых гемосорбентами, в литературе либо отсутствуют, либо малоизвестны. В связи с этим было проведено сравнительное изучение сорбции белков различными видами модифицированных и немодифицированных гемосорбентов, а также их воздействия на белки плазмы [18] изучали сорбции протеомных белков различными видами покрытых и непокрытых гемосорбентов. Исследовались углеродные сорбенты СКТ-6а-ВЧ (СКТ), кокосовый сорбент АRI (Chemviron Carbon, UK) (КОК) и их модификации путем покрытия тетрафторэтиленом (СКТп и КОКп соответственно). Кроме указанных был

использован нетефлонированный и тефлонированный экспериментальный гемосорбент на основе окиси алюминия (Al и Al<sub>p</sub> соотв.), разрабатываемый ООО «ХАБО» (г.Черноголовка, М.О.). Качественно-количественные характеристики протеомного статуса оценивались в плазме до (Писх) и после инкубации (Пс), а также – в элюатах с сорбентов (Эл). Уровень общего белка (Ср) определяли методом BCA Assay [19, 20].

Методами 1D– и 2D-электрофореза, аффинной хроматографии и масспектрометрии получены качественные и количественные характеристики сорбируемых белков, определена сорбционная емкость сорбентов в отношении белков.

Результаты одномерного электрофореза элюатов Одномерный гель-электрофорез элюатов показал идентичность спектров сорбируемых белков во всех сериях опытов.

Основная масса сорбируемых белков представлена веществами с молекулярной массой (М) в диапазоне 53–75 kDa. Вторая по значимости фракция включает белки с молекулярной массой 19–31 kDa. Полученные данные демонстрируют стабильность сорбционных характеристик независимо от условий эксперимента и типа использованных сорбентов.

В лабораторных условиях изучали биохимический состав и связывающую способность белков плазмы при взаимодействии с сорбентами. В эксперименте использовали 8 мл плазмы, полученной при проведении лечебного плазмафереза у пациентов с аутоиммунной патологией. Плазму инкубировали с 4 мл сорбента при комнатной температуре и постоянном перемешивании в течение 120 минут.

Обращает внимание большая сорбирующая способность угольных сорбентов по сравнению с алюминиевыми. При этом емкость тефлонированных СКТ и КОК ниже, чем у непокрытых. У сорбентов на основе окиси алюминия отмечена обратная закономерность. Эти результаты подтверждены при определении сорбционной емкости исследуемых образцов.

Концентрация белка определялась методом BCA Assay. Наличие протеома в плазме после достаточно длительной экспозиции позволяет предположить, что сорбент полностью исчерпал свои сорбционные возможности. Полученные данные представлены в таблице 1. Из этих данных следует, что стандартный флакон гемосорбента СКТ-6а-ВЧ поглощает 6,5 г белка, а кокосового – 7,42.

Таблица 1.

#### Сорбционная емкость исследуемых сорбентов по протеому (M±m).

Вид сорбента	Алюминиевый		Кокосовый		СКТ-6а-ВЧ	
	Не покрытый	Покрытый	Не покрытый	Покрытый	Не покрытый	Покрытый
Сорбционная емкость (мг/см <sup>3</sup> )	6,93±0,2	11,54±0,4	24,74±0,3	13,59±0,6	21,66± 0,9	10,75±0,7

Полученные данные демонстрируют значительное воздействие гемосорбции на протеомный статус. Отмечается высокая сорбция белков различных типов, отличающихся молекулярной массой и зарядом. Уровень протеома в плазме после инкубации с сорбентами показал снижение:

- Угольный сорбент СКТ-6АВЧ: покрытый фторполимером – на 51,2±3,1%, непокрытый – на 42,0±3,4%;
- Алюминиевый сорбент: покрытый – на 31,3±5,5%, непокрытый – на 33,6±2,8%.

#### Применения фторполимерсодержащих сорбентов для очистки крови.

Известно, что состав крови в здоровом организме относительно постоянен, а случайные колебания состава крови быстро выравниваются. Так при нарушении детоксикационной функции печени и выделительной функции почек в крови увеличивается содержание токсичных метаболитов, особенно веществ со средней и высокомолекулярной массой. При многих патологических процессах в организме, а также при консервировании донорской крови наблюдаются более или менее резкие изменения состава. В этом случае фторполимерсодержащие сорбенты могут быть использованы в качестве гемосорбентов и

энтеросорбентов для выведения экзогенных (привнесенных извне) и эндогенных (образовавшихся внутри) токсинов или веществ, препятствующих нормальной жизнедеятельности организма. В критической ситуации удаление даже части таких токсинов приводит к немедленному улучшению состояния больного.

Накопленный в медицине опыт показывает высокую терапевтическую, профилактическую и экономическую эффективность применения сорбционных методов при лечении многих тяжелых заболеваний. Широкому внедрению этих методов препятствует отсутствие на мировом рынке дешевых высокоэффективных гемосорбентов. Используемые в настоящее время для гемосорбции угольные сорбенты, помимо удаления токсичных веществ, одновременно удаляют довольно много необходимых организму соединений, а также значительно травмируют форменные элементы крови.

В существующих способах получения биосовместимых и селективных гемосорбентов используются ряд методов, таких как введение разнополярных групп, капсулирование, нанесение полимерного слоя на поверхность сорбента. Все эти методы имеют, при незначительном увеличении селективности, существенный недостаток, заключающийся в снижении эффективности извлечения токсичных соединений из крови, снижении объема пор, адсорбционной емкости из-за блокирования толстой (2000-5000 нм) пленкой полимера входов вглубь пористой структуры результирующим снижением проницаемости.

Несмотря на значительные успехи в синтезе и разработке сорбентов для медицинских целей, остаются две ключевые проблемы, которые ещё не нашли окончательного решения: совместимость сорбентов с кровью и селективность сорбционного эффекта. В настоящее время синтез сорбента, который был бы одновременно совместим с кровью и обладал высоким селективным сорбционным эффектом, остаётся нерешённой задачей.

Использование гемосорбции в клинических условиях ставит перед исследователями задачу повышения биосовместимости сорбентов с форменными элементами крови. Одним из перспективных направлений является разработка селективных, био- и гемосовместимых сорбентов, обладающих специфическими адсорбционными свойствами. Такие материалы должны эффективно фракционировать сложные смеси биополимеров, минимизируя деградацию их природных функций

Предлагаемый нами подход к решению данной проблемы отличается тем, что при получении модифицированных фторполимерсодержащих угольных гемосорбентов их поверхности покрываются химически связанным с поверхностью политетрафторэтиленом путем прививочной полимеризации фтормономера. Химически связанное и равномерно распределенное тонкое тефлоновое покрытие (2-10 нм) практически не изменяет структуру пор исходного углеродного носителя и не нарушает их проходимость. Эта подтверждается исследованиями структуры полученных биосовместимых сорбентов адсорбционными, порометрическими методами и под электронным микроскопом.

Композиционный фторполимерсодержащий угольный гемосорбент прошел испытания в НИИ СП имени Н.В. Склифосовского, ГВКГ имени Н.Н. Бурденко, НИИ физико-химической медицины МЗ РФ, Институте ревматологии РАМН и получил высокую оценку ведущих специалистов. Гемосорбент зарегистрирован МЗ Российской Федерации (регистрационное удостоверение № 29/26020601/2310-01 от 24.07.01 г.) и МЗ Республики Узбекистан (регистрационное удостоверение № ТТ 06202 от 15.11.02 г) и разрешен к применению. В настоящее время применяется для лечения экзо- и эндотоксикозов различной этиологии, включая гнойно-септические и бактериально-вирусные поражения, ожоговую болезнь, острый и хронический панкреатит, почечную и печеночную недостаточность, все виды отравлений.

Равномерное и плотное покрытие поверхности основы пленкой тефлона позволит улучшить физико-химические характеристики основы и решить проблему «пыления», благодаря экранированию поверхности основы химически пришитой тонкой пленкой тефлона, исключая взаимодействие основы с форменными элементами крови.

**Преимущества фторполимерсодержащих сорбентов** Основным преимуществом фторполимерсодержащих минеральных и углеродных сорбентов является их способность обеспечивать практически полную десорбцию биологически активных веществ с поверхности сорбента без изменения их природных (нативных) свойств. Это качество имеет ключевое значение для:

- Фармакокинетики лекарственных препаратов: сохранение структуры и свойств биомолекул позволяет анализировать взаимодействие препаратов с организмом.
- Медицинской диагностики: сохранённые биомолекулы обеспечивают возможность точного анализа состояния организма.

Например, исследуя выделенные из организма нуклеазы, можно диагностировать ряд заболеваний.

**Заключение.** Таким образом, прививка наноразмерного слоя фторполимера непосредственно к матрицы дает возможность проводить модифицированию как поверхности матрицы, так и свойств образующегося композиционного материала в целом. Сочетание уникальных биосовместимых и селективных и других свойств модифицирующего фторполимерного слоя нанометровых размеров с комплексом свойств самой матрицы открывает широкие возможности для конструирования новых функциональных материалов для различных применений.

Получаемые новые композиционные материалы представляют собой удачное сочетание многих требуемых практикой свойств, так как прививочная полимеризация фтормономеров на поверхности дисперсных твердых тел резко изменяет поверхностные свойства этих тел и не изменяет пористую структуры исходного материала.

Такие свойства фторполимерсодержащих кремнеземных сорбентов, как высокая устойчивость к различным условиям (рН среды, различные органические и неорганические добавки), высокая термостабильность, необходимая для стерилизации сорбентов, низкая адсорбционная активность по отношению, как к низкомолекулярным соединениям, так и к биомолекулам, по сравнению с традиционными углеводородными обращенно-фазовыми сорбентами, высокая чувствительность адсорбционных свойств к составу элюента делают перспективным их применение для выделения и анализа биологически активных соединений.

Разработанная методика прививочной полимеризации фтормономеров на неорганических и углеродных материалов не имеют аналогов в мире. Полученные модифицированные фторполимерами материалы представляют собой новое поколение композиционных материалов, обладающих техническими характеристиками, превосходящими известные мировые аналоги

Разработанная технология отличается тем, что она позволяет создавать самые замысловатые наноструктуры. Не менее важным с точки зрения перспективы является и то обстоятельство, что она открывает путь к созданию нанопродуктов и наносистем, обеспечивающих существенную экономию сырья и энергии и способствует более эффективному решению экологических проблем.

### Литература.

1. Муйдинов М.Р., Новое поколение композиционных материалов с уникальными техническими характеристиками. В. сб. "Наука - производству", М.: НТП "Вираз центр", 1997, с. 31 - 35.
2. Муйдинов М.Р. «Новое поколение модифицированных фторполимерами материалов с уникальными техническими характеристиками». Рос. хим. ж., 2002, т. 46, № 3, с. 64-71.
3. Муйдинов М.Р. "Синтез и исследование композиционных материалов, модифицированных поверхностно привитым политетрафторэтиленом" Диссертации на соискание ученой степени д-ра хим. наук: 02.00.06. М., 2006. 370 страниц, включая 25 таблиц и 102 рисунка. Библиография - 396 ссылок.

4. Муйдинов М.Р. «Разработка методов синтеза поверхностно модифицированных фторполимерсодержащих композиционных материалов». Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 2008, т. 52, № 3 с. 205-227
5. Муйдинов М.Р. Разработка методов синтеза композиционных материалов, модифицированных наноразмерным слоем фторполимера. Первая Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Фторполимерные материалы. Научно-технические, производственные, коммерческие аспекты» (Кирово-Чепецк, 6-9 октября, 2008 г.).
6. Муйдинов М.Р., Перфторполимерсодержащие биосовместимые сорбенты медицинского назначения. Наука – производству. 1998, № 3, с. 13 - 23.
7. Муйдинов М.Р. Фторполимермодифицированные материалы с уникальными техническими характеристиками. Машиностроитель. 2006. № 5, с. 24-26.
8. Муйдинов М.Р. Модифицированные композиционные материалы, содержащие фторполимеры. // Семинар Консорциума «Фторполимерные материалы и нанотехнологии» В институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, 23 января 2009 г.
9. Муйдинов М.Р. Фторполимерсодержащие био-и гемосовместимые сорбенты медицинского назначения. // Конференция Московского общества гемаферез. В институте экспериментальной кардиологии Российского кардиологического научно-производственного комплекса МЗ РФ, Москва, 23 декабря 2003 года.
10. Muidinov M.R. Development of methods for synthesis of surface-modified fluoropolymer-containing composite materials. Russian Journal of General Chemistry. 2009. Т. 79. № 3. С. 606-61513. Муйдинов М.Р., Муйдинова С.Р. Способ создания биосовместимых покрытий на поверхности сорбционных материалов. Пятый Фестиваль науки Москва, 8 октября 2010 г.
11. В.В. Сабуров, М.Р. Муйдинов, С.А. Гурьянов, А.Д. Катаев, С.И. Туркин, В.П. Зубов. Перфторполимерсодержащие кремнеземные сорбенты и их применение в обращенно-фазовой хроматографии биологически-активных веществ. Ж. физ. химия - 1991 - 65, № 10, с. 2692-2698
12. Муйдинов М.Р., Кондратьева Т.А. // Очистка интерферона фторполимерсодержащими кремнеземными сорбентами. "Инженер Технолог Рабочий" 2003г. № 9, с. 15 – 20
13. Патент РФ.N2027444 от 27 января 1995 г. Способ получения инсулина.
14. Фомина Л.А., Гурьянов С.А., Ефремов М.А. и др. Миелопептиды: выделение и структура. Биоорганическая химия. 1998. Т.24, № 6. С. 403-407
15. Питтман А. Поверхностные свойства фторуглеродных полимеров. В кн.: Фторполимеры. /Под. ред. Кнунянц И.Л. и Пономаренко В.А. - М., Мир, 1975, стр. 345.
16. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. и др. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. - Воронеж, Изд-во "Водолей". 2004. - 528 с.
17. «Эфферентная терапия»/Под ред. А.Л. Костюченко.-СПб.: Фолиант, 2003.-432 с.
18. Комов В.В., Мошковский С.А., Фомченкова Е. Я., Степанов А.К., Муйдинов М.Р., Багатурия К.В., Сокольский А.С. Влияние гемосорбции и гемодиализа на протеомный статус. XV Конференция «Актуальные вопросы экстракорпоральной терапии» (Москва, 23-24 мая, 2007г.) Тезисы XV Конференции «Актуальные вопросы экстракорпоральной терапии» Москва. 2007г. стр. 75.
19. Smith P.K. et al. Anal. Biochem. 1985 150: 76.
20. Wiechelmann et al. Anal. Biochem. 1988 175: 231.