



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **255**(51)5 **B 01 J 20/20**ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІД

(54) СОРБЕНТ ДЛЯ ВИЛУЧЕННЯ ВІЛЬНОГО ГЕМОГЛОБІНУ З БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

1

2

(15) 15.01.93

(21) 92320031

(22) 09.11.92

(31) 5033463/26

(32) 20.03.92

(33) SU

(46) 30.04.93. Бюл. № 1

(56) 1. T.Tsuchiya et al. Development of selective adsorbent for free hemoglobin. Int. Symp. on Hemoperfusion, Adsorbents and Immobilized Reactants. Abstract. October 2-5, 1988 Rostock-Warnemunde, GDR, p. 28.

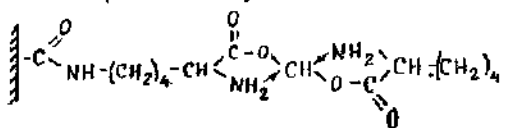
2. В.Г. Островерхов и др. Удаление свободного гемоглобина из растворов методом гемосорбции. Мол. биология и молекулярная генетика патологич. состояний в эксперименте и в клинике. Труды ин-та (2-го МОЛГМИ). - М.: 1975. - т.37, вып. 1. - С.141-142 (прототип).

(63) 5033463/26, 20.03.92

(71) Інститут сорбції та проблем ендоекології АН України

(72) Бакалінська Ольга Миколаївна, Коваль Нінель Михайлівна, Картель Микола Тимофійович, Старіков Анатолій Володимирович, Стрелко Володимир Васильович

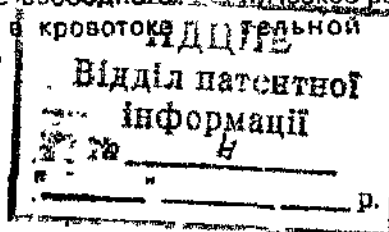
(73) Інститут сорбції та проблем ендоекології АН України

(57) Сорбент для удаления свободного гемоглобина из биологических жидкостей, включающий активированный уголь, отличающийся тем, что он дополнительно содержит комплекс лизина с медью в количестве мас.%, ковалентно иммобилизованный на поверхности активированного угля, имеющий следующую структурную формулу:
активированный уголь

Изобретение относится к биотехнологии и медицине, а именно к иммобилизованным углеродным носителям – сорбентам, служащим для удаления свободного гемоглобина из биологических жидкостей.

Существует целый ряд заболеваний, при которых ведущую роль в патогенезе осложнений при различных видах внутрисосудистого гемолиза играет наличие свободного гемоглобина, появляющегося в кровотоке

при разрушении эритроцитов. Наиболее грозным осложнением при этом является острая почечная недостаточность. К гематическим состояниям можно отнести некоторые виды гемолитических анемию, гемолитическую желтуху новорожденных, гемолиз в результате переливания несовместимых групп крови, а также токсическое разрушение эритроцитов при перфузии аппарата



нного обращения крови (АИК-ом).
 тих случаях для достижения поло-
 го эффекта лечения необходимо
 из кровотока свободный гемогло-
 бин биотехнологических процес-
 е необходимо предварительно
 з биологической жидкости (сыво-
 ви) свободный гемоглобин.

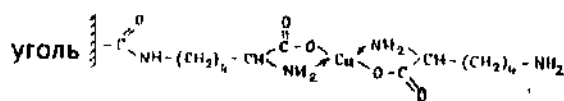
тен сорбент, выполненный на ос-
 кагеля с ковалентно иммобилизи-
 на его поверхности лигандом —
 м $(\text{HO}-\text{Ph}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2)$ [1]. Сорбци-
 юнка объемом 2,5 мл такого сор-
 звлекает 22 мг свободного
 на. Основным недостатком такого
 является его низкая сорбционная
 зть по отношению к свободному
 ну. Существенным является также
 оситель — силикагель, очень плохо
 и с биологическими жидкостями.
 изом, при помощи этого сорбента
 но провести, например, сорбцион-
 сикацию организма.

лее близким по технической сущ-
 остигаемому результату является
 ий сорбент СКТ-6А, примененный
 з гемосорбента [2]. При перфузии
 ора гемоглобина через активиро-
 зль СКТ-6А через 50 минут уровень
 на снизился на 17%. Основным
 ом этого сорбента является его
 збционная активность по отноше-
 бодному гемоглобину.

ей, на решение которой направле-
 тение, является создание сорбен-
 ления свободного гемоглобина из
 ских жидкостей путем иммобили-
 углеродном носителе комплекса
 юты с медью.

здный сорбент, созданный для ре-
 ставленной задачи, предназначен
 ивного извлечения свободного ге-
 а из биологических жидкостей
 зорotka и плазма крови). Иммоби-
 з его поверхности комплекса лизи-
 з позволяет получить технический
 заключающийся в увеличении ко-
 даляемого из биологической жид-
 одного гемоглобина.

еличения сорбционной способно-
 та по отношению к свободному
 ну известный гемосорбент на ос-
 ированного угля в соответствии с
 им изобретением дополнительно
 комплекс лизина с медью в коли-
 б мас. %, ковалентно иммобилизи-
 на поверхности угля и имеющий
 о структурную формулу:



Применением активированного угля для
 удаления свободного гемоглобина из биоло-
 гических жидкостей достижение требуемого
 результата не обеспечивается вследствие
 его низкой сорбционной способности по от-
 ношению к свободному гемоглобину (см.
 пример 1, образец 1).

Использование комплекса меди и лизи-
 на для удаления свободного гемоглобина из
 биологических жидкостей невозможно, так
 как комплекс меди и лизина — жидкость, и
 нет прямых методов для выделения конъю-
 гатов комплекса меди и лизина с гемоглоби-
 ном из биологической жидкости.

Только ковалентное закрепление (иммо-
 билизация) комплекса меди и лизина на по-
 верхности углеродного гемосорбента
 приводит к достижению обеспечиваемого
 изобретением технического результата —
 увеличению количества удаляемого из био-
 логической жидкости свободного гемогло-
 бина.

При этом лучший технический результат
 получают при содержании комплекса меди
 и лизина в составе сорбента 3–16 мас. %. Это
 подтверждается данными примеров 1–3.
 Так, образцы №№ 3–5, табл.1, №№ 3–5,
 табл.2, №№ 3–6, табл.3, содержащие в своем
 составе в соответствии с заявляемым интер-
 валом 3–16 мас. % комплекса лизина и меди,
 извлекают из биологических жидкостей су-
 щественно большее, чем сорбент-прототип
 (пример 1, образец № 1, табл.1), количество
 свободного гемоглобина.

Содержание комплекса лизина и меди в
 составе сорбента менее 3 мас. % не приво-
 дит к существенному увеличению количест-
 ва удаляемого из биологической жидкости
 свободного гемоглобина.

Содержание комплекса меди и лизина в
 составе сорбента более 16 мас. % не приво-
 дит к увеличению удаления свободного ге-
 моглобина из биологических жидкостей по
 сравнению с ранее достигнутым результа-
 том при увеличении затрат времени и реак-
 тивов для получения сорбента.

Количество иммобилизованного на
 углеродной поверхности комплекса лизина
 и меди определяют по количеству меди (пла-
 менной фотометрией), смытой с целевого
 сорбента при разрушении комплекса при
 кипячении его навески с раствором этилен-
 диаминтетраацетата (ЭДТА).

Адсорбционную емкость сорбентов по
 отношению к свободному гемоглобину оп-

ределяют по падению концентрации свободного гемоглобина в растворе при контакте с точной навеской сорбента в течение 4–6 часов.

Заявляемый сорбент может быть получен одним из приведенных ниже способов.

Пример 1. Навеску 2 г окисленного углеродного сорбента СКНо со статической обменной емкостью (СОЕ) 1,5 мэкв/г помещают в круглодонную колбу (реактор). Прибавляют 10 мл бензола. В реактор, помещенный в водяную баню, находящуюся на электрической плитке, прибавляют 0,43 мл хлористого тионила. После перемешивания реакционную смесь греют 4 часа при температуре 70°C. После этого углеродный материал отфильтровывают и промывают бензолом до удаления остатков непрореагировавшего хлористого тионила. Промытый активированный хлористым тионилем уголь порционно вносят в раствор комплекса меди и лизина, содержащий 4,5 ммоль комплекса, рН 8,0 при постоянном перемешивании, контроле и поддержании рН раствора 8,0 при помощи блока автоматического титрования. После добавления последней порции угля к раствору комплекса рН раствора с углем контролируется еще в течение 2–3 часов. Процесс иммобилизации ведут 20–24 часа. По окончании процесса иммобилизации целевой сорбент отфильтровывают, промывают водой и высушивают. Варьируя количество комплекса меди и лизина в растворе, к которому добавляют активированный хлористым тионилем уголь, получают образцы сорбента с различным содержанием (мас.%) комплекса меди и лизина в сорбенте. Результаты синтеза и анализ сорбционной активности получаемого целевого сорбента приведены в табл.1.

Пример 2. Навеску 2 г высушенного окисленного углеродного сорбента СКНо с СОЕ 1,5 мэкв/г помещают в реактор кипящего слоя и обрабатывают парами хлористого тионила в восходящем токе сухого воздуха при соотношении Т:Ж 1:2,5 при температуре 110°C в течение 2 часов. По окончании обработки сорбенты продувают 0,5 часа сухим воздухом при температуре 100–120°C для удаления летучих продуктов реакции. На выходе из реактора помещают хлоркальциевую трубку для предотвращения попадания влаги из окружающей среды. Полученный материал вносят в заранее приготовленный раствор азиды натрия в 100–150 мл диметилсульфоксида (ДМСО), перемешивают 15 мин и затем нагревают на водяной бане при температуре 90°C в течение 2 часов. При этом реакционная смесь защищена от проникно-

вения влаги с помощью хлоркальциевой трубки. Далее реакционную смесь отфильтровывают в горячем состоянии, промывают 100 мл нагретого до 100°C сухого ДМСО и экстрагируют остаточные количества азиды и хлорида натрия сухим ацетонитрилом в аппарате Сокслета в течение 6 часов. Полученный сорбент заливают раствором комплекса лизина и меди, содержащего 4,5 ммоль комплекса. Инкубируют в течение 20–24 часов, отфильтровывают, промывают водой и высушивают. Варьируя количество комплекса в растворе, к которому добавляют полученный сорбент, получают образцы сорбента с различным содержанием (мас.%) комплекса в сорбенте. Результаты анализа количества иммобилизованного на углеродной поверхности комплекса и сорбционной активности получаемых образцов приведены в табл.2.

Иммобилизовать таким способом более 6 мас.% комплекса лизина и меди на углеродную поверхность не удается.

Пример 3. Навеску 2 г углеродного сорбента СКНо с СОЕ 1,5 мэкв/г помещают в коническую колбу емкостью 200 мл, прибавляют 50 мл буферного раствора рН 4 (состоящего из равных объемов 0,15 М растворов дигидрофосфата калия и хлорида натрия) и оставляют на 10–12 ч при температуре 20–25°C. После сливания жидкости, находящейся над гемосорбентом, в реакционную колбу приливают раствор 40 мг водорастворимого карбодиимида (метоп-толуолсульфонат 1-циклогексил-3(морфолиноэтил)карбодиимида, Серва, ФРГ) в 50 мл буферного раствора рН 4. Реакционную смесь перемешивают в течение 15 мин, сливают жидкость и добавляют 50 мл раствора комплекса меди и лизина, содержащего 4,5 ммоль комплекса в буферном растворе рН 7,2, приготовленного из 0,15 М водных растворов гидрофосфата натрия (28,6 частей), раствора дигидрофосфата калия (9 частей) и раствора хлорида натрия (37,6 частей). Гемосорбент выдерживают в контакте с раствором комплекса меди и лизина при слабом перемешивании 20–24 часа, отфильтровывают, промывают водой и высушивают. Варьируя количество комплекса меди и лизина в растворе, с которым контактирует активированный карбодиимидом уголь, получают образцы сорбента с различным содержанием (мас.%) комплекса в сорбенте. Результаты анализа количества иммобилизованного на углеродной поверхности комплекса и сорбционной активности по отношению к свободному гемоглобину получаемых целевых сорбентов приведены в табл.3.

Иммобилизовать таким способом более 10 мас. % комплекса лизина и меди на углеродную поверхность не удается.

Таким образом, как показано выше (табл. 1-3), адсорбционная способность заявляемого сорбента по отношению к свободному гемоглобину зависит от содержания комплекса лизина и меди ковалентно иммобилизованного на углеродной поверхности и достигает оптимальных значений (40-90

мг/г) при содержании комплекса лизина и меди 3-16 мас. %. Эта адсорбционная емкость по отношению к свободному гемоглобину в несколько раз превышает эффективность известных в настоящее время аналогичных сорбентов. Благодаря высокой сорбционной емкости по отношению к свободному гемоглобину заявляемый сорбент найдет широкое применение в медицине и биотехнологиях.

Таблица 1

№ образца	Кол-во иммоб. комплекса, мас. %	Кол-во извлекаемого гемоглобина, мг/г
1 (прототип)	-	8
2	3	40
3	6	65
4	10	80
5	16	90
6	20	88

Таблица 2

№ образца	Кол-во иммоб. комплекса, мас. %	Кол-во извлекаемого гемоглобина, мг/г
1	0,5	12
2	1	20
3	3	40
4	5	55
5	6	65

Таблица 3

№ образца	Кол-во иммоб. комплекса, мас. %	Кол-во извлекаемого гемоглобина, мг/г
1	1	20
2	2	26
3	4	48
4	6	65
5	8	74
6	10	80

Упорядник А.Ігнаткова

Техред М.Моргентал

Коректор О.Копча

Замовлення 502

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Виробничо-видавничий комбінат "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101

2

1

1

1