

УДК 541.64:547.962.3

Д. Х. Халиков, З. Б. Шарифова, Ф. Х. Сафиуллина, Г. С. Санюкович

**СИНТЕЗ СЕТЧАТЫХ СОПОЛИМЕРОВ ЙОДМЕТИЛАТА  
ИЗОПРОПЕНИЛЭТИНИЛТРИМЕТИЛПИПЕРИДОЛА  
И ИХ СОРБЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ К СЫВОРОТОЧНОМУ  
АЛЬБУМИНУ**

Синтезированы гидрогели на основе сополимеров йодметилата изопропенилэтинилтриметилпиперидола, N-винилпирролидона и диметакрилата этиленгликоля и изучена сорбция ими сывороточного альбумина человека. Полученные сетчатые полимеры имеют высокое средство к сывороточному альбумину человека, обладают большой емкостью и соответствующие комплексы достаточно устойчивы в физиологических условиях.

Известно, что многие синтетические линейные полимеры, вступая в кооперативное взаимодействие с глобулярными белками, в частности с белками сыворотки крови, образуют растворимые [1, 2] и нерастворимые [3, 4] комплексы. Представляет интерес исследование характера связывания белков сетчатыми полимерами в плане возможности использования полимерных гидрогелей при сорбционной детоксикации организма, поскольку соответствующие комплексы, обладают повышенной гемосместимостью [5]. В ряде случаев же процесс комплексообразования нежелателен, так как приводит к изменению биохимической константы жидкости среды организма [6] и именно поэтому представляет интерес для исследования.

Ранее нами была показана принципиальная возможность образования нерастворимых комплексов сывороточного альбумина человека (САЧ) с линейными полимерами производными этинилпиперидола [7].

Цель настоящей работы — синтез сетчатых сополимеров йодметилата изопропенилэтинилтриметилпиперидола (ИПЭТП) и N-винилпирролидона (ВП) и исследование их сорбционных свойств по отношению к САЧ в условиях, близких к физиологическим.

Гидрогели на основе сополимеров ИПЭТП и ВП синтезировали методом радикальной полимеризации в этаноле; в качестве инициатора использовали ДАК, в качестве сшивющего агента — диметакрилат этиленгликоля (ДМАЭГ). Сополимеризацию при различных соотношениях мономеров и сшивющего агента проводили в вакуумированных ампулах (до  $10^{-3}$  мм рт. ст.) при  $60^\circ$  в течение 3–4 сут. Полученные спиральные сополимеры промывали этанолом для полного удаления непрореагировавших мономеров и неспиральных гомо- и сополимеров. Для увеличения водонабухаемости производили йодметилирование звеньев ИПЭТП и снова промывали водой до полного исчезновения УФ-поглощения при 227 нм, соответствующего поглощению анионов иода.

Гидрогели характеризовали путем анализа количества звеньев ИПЭТП во взятой массе гидрогеля по данным микроаналитического и спектрофотометрического определения ионов иода после промывания их на колонке 0,5 м. раствором NaCl и по их набухаемости. Полноту ионного обмена контролировали анализом ионов иода на выходе из колонки спектрофотометрически при  $\lambda=227$  нм. Ранее было показано, что йодметилирование звеньев ИПЭТП в полимере протекает количественно [8]. Набухаемость гидрогелей определяли по массам сухого и набухшего гидрогеля и рассчитывали по формуле

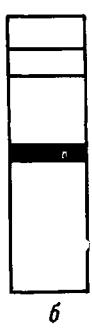
$$S_0 = (m - m_0)/m_0,$$

где  $m_0$  — масса сухого полимера,  $m$  — масса равновесно набухшего полимера.

САЧ («Reanal», Венгрия) характеризовали величиной коэффициента седиментации при бесконечном разбавлении. Полученная величина 4,6 ед. Сведберга хорошо согласуется с литературными данными для нативного САЧ [9].



Рис. 1



б

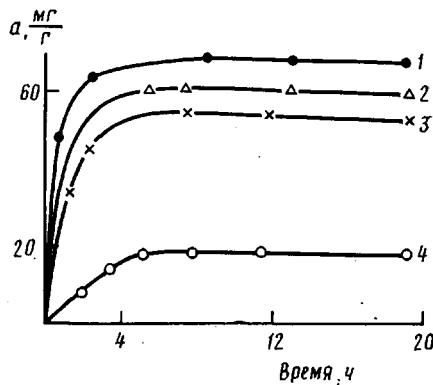


Рис. 2

Рис. 1. Электрофорограмма растворов САЧ до (а) и после контакта с гелем (б). I – полоса альбумина

Рис. 2. Кинетика сорбции САЧ гидрогелями, синтезированными при различных содержаниях ИПЭТП и ДМАЭГ в исходной мономерной смеси. [ИПЭТП]=46,28 (1); 18,76 (2); 8,57 (3) и 30,27 мол.% (4); [ДМАЭГ]=7,43 (1); 6,17 (2); 5,70 (3) и 9,18 моль/л (4). Сорбция проводилась из раствора САЧ с концентрацией 60 мг/мл

Сорбцию САЧ гидрогелями исследовали путем инкубации 1 г набухшего геля в 5 мл раствора альбумина при комнатной температуре и pH 7,4. Во всех опытах в качестве растворителя использовали физиологический раствор. Количество сорбированного САЧ определяли по разности между исходным количеством и количеством альбумина в надосадочном слое жидкости после инкубации. При расчете концентрации САЧ вводилась поправка на количество растворителя в набухшем гидрогеле. Равновесные опыты для снятия изотерм сорбции проводили в течение 1 сут при перемешивании. Сорбцию альбумина гидрогелями изучали также методом гель-электрофореза на приборе GE-411 «Pharmacia» (Швеция). Для этого были приготовлены растворы альбумина концентрации 3 мг/мл. Для каждого опыта брали по 0,5 г гидрогеля и 1 мл раствора САЧ.

Обмен связанный в комплексе САЧ с альбумином плазмы крови исследовали с помощью меченого альбумина  $I^{137}$ . Для этого 1 г набухшего геля инкубировали в 5 мл раствора, содержащего определенное количество меченого альбумина, в течение 3–4 ч. Затем полученный комплекс гель – альбумин тщательно промывали физиологическим раствором, заливали 5 мл плазмы крови и оставляли на 12 ч, после чего определяли количество меченого САЧ в маточном растворе на приборе «Gammasint GF-5300» (ГДР).

Некоторые результаты по зависимости состава гидрогелей от исходного соотношения сомономеров приведены в табл. 1. Как видно, при варьировании исходных соотношений ИПЭТП и ВП состав гидрогелей существенно не отличается друг от друга. При этом без учета ДМАЭГ количество звеньев иодметилата ИПЭТП колеблется в области 40–60 мол.%. Серий опытов показано, что при содержании спивающего агента в мономерной

Таблица 1

Условия синтеза и характеристика гидрогелей

Доля компонентов в исходной реакционной смеси, мол.%			Содержание звеньев иодметилата ИПЭТП в сухом геле $n \cdot 10^3$ , моль/г	Степень набухания $S_0$ , г/г
ИПЭТП	ВП	ДМАЭГ		
4,50	89,99	5,5	0,01	6,3
8,72	87,22	4,06	2,75	19,9
8,57	85,73	5,70	2,85	9,9
18,76	75,06	6,17	2,53	10,9
31,09	62,18	6,70	3,00	11,2
30,27	60,54	9,18	3,65	1,8
46,28	46,28	7,43	3,57	10,4

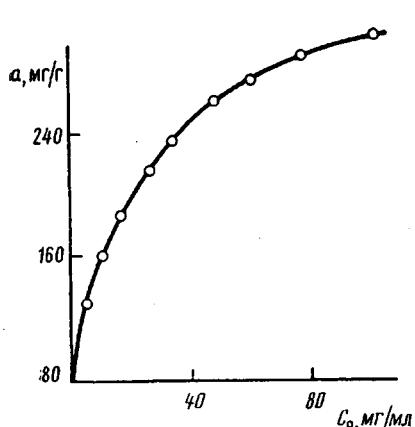


Рис. 3

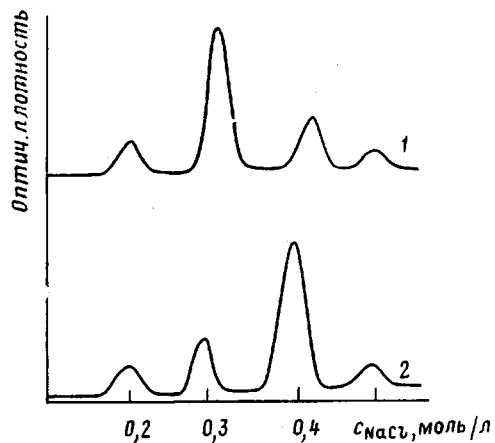


Рис. 4

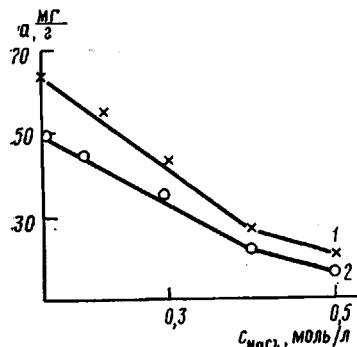


Рис. 5

смеси в области 5,5–7,5 мол.% гидрогели получаются с хорошими прочностными показателями и набухаемостью.

На рис. 1 представлена типичная электрофореграмма САЧ до и после контакта с набухшим гидрогелем. Видно, что электрофореграмма исходного альбумина помимо полос, соответствующих САЧ, содержит ряд полос, указывающих на присутствие в составе САЧ небольших количеств других белков. После контакта с гелем полосы, соответствующие САЧ, полностью исчезают, что свидетельствует о сорбции альбумина гелем.

На рис. 2 приведена кинетика сорбции САЧ гидрогелями, синтезированными с различным соотношением сомономеров и сшивающего агента. Видно, что гидрогели, полученные при содержании ДМАЭГ в исходной реакционной смеси от 5,5 до 7,5 мол.% и имеющие близкие степени набухания (табл. 1), достаточно проницаемы по САЧ, а наблюданное небольшое различие их емкостных характеристик можно объяснить влиянием концентрации ионогенных групп в пространственной сетке. Дальнейшее увеличение содержания сшивающего агента в гидрогеле приводит к падению их сорбционной емкости (рис. 2, кривая 4). Снижение содержания сшивающего агента в исходной реакционной смеси ниже 4 мол.% вызывает резкий рост степени набухания гидрогеля, появление липкости и потерю формы, что значительно затрудняет изучение их сорбционных характеристик. Поэтому дальнейшее исследование проводилось на гидрогелях со степенью набухания около 10 г/г.

На рис. 3 представлена зависимость количества связанного САЧ от его равновесной концентрации в растворе. Показано, что при максимальном насыщении гидрогеля САЧ его емкость достигает 303 мг/г или 3,45 г/г в расчете на набухший или дегидратированный гель соответственно. Принимая эту величину за предельную емкость  $a_m$  и молекулярную массу САЧ ~ 70 000, по начальному участку изотермы была рассчитана величи-

Таблица 2

**Результаты изучения обмена САЧ, связанного в гидрогеле, с альбумином плазмы крови**

Содержание звеньев ИПЭТИ в сухом геле $n \cdot 10^3$ , моль/г	Содержание меченого САЧ в гидрогеле, мг/г		Количество обменявшегося альбумина	
	до контакта с плазмой крови	после контакта с плазмой крови	мг	%
0,01	0	0	0	0
2,85	4,55	4,36	0,20	4,4
2,53	4,66	4,58	0,08	1,8
3,00	6,50	6,03	0,47	7,2
3,57	2,90	2,78	0,12	4,1

на константы адсорбционного равновесия  $K_\theta$  по уравнению Лэнгмюра [10]

$$K_\theta = \frac{\theta}{C_p(1-\theta)},$$

где  $\theta = a/a_m$ ;  $a$  — равновесная сорбция, г/г;  $C_p$  — равновесная концентрация САЧ в растворе, моль/л. Значение  $K_\theta$  для начального участка изотермы сорбции является величиной постоянной и составляет  $2183 \pm 103$  л/моль.

Численные значения  $a_m$  и  $K_\theta$  свидетельствуют о том, что синтезированные гидрогели имеют высокое сродство к САЧ и обладают большой емкостью, а соответствующие комплексы достаточно устойчивы в физиологических условиях.

С изменением ионной силы раствора равновесие достигается при других соотношениях САЧ в растворе и в гидрогеле, о чем свидетельствуют данные по десорбции САЧ растворами NaCl различной концентрации (рис. 4 и 5). Характерно, что до 80–85% сорбированного гидрогелями САЧ десорбируется ступенчато по мере возрастания концентрации NaCl в растворе. Остальные 15–20% САЧ не десорбируются из гидрогелей солевым раствором даже при очень высоких концентрациях NaCl. Возможность десорбции САЧ солевым раствором свидетельствует прежде всего о том, что связывание САЧ гидрогелями происходит преимущественно под действием электростатических сил взаимодействия, поскольку в исследуемой области pH соответствующие компоненты имеют противоположный заряд: САЧ — суммарно отрицательный [11], а цепочки гидрогеля — положительный. В то же время взаимодействие между структурными элементами гидрогеля и молекулами САЧ, по-видимому, осуществляется на различных уровнях, отличающихся между собой прочностью связывания. Структурными элементами или доменами, в частности, могут являться участки гидрогеля, близкие к узлам пространственной сетки. Поскольку в этих областях плотность полимерной матрицы наибольшая, не исключена возможность как неионогенного взаимодействия САЧ с гидрогелем, так и взаимодействия, приводящего к изменению конформации САЧ, аналогично процессу адсорбции белков на поверхности полимерных материалов [12]. Этим, вероятно, объясняется частичная необратимость сорбции САЧ гидрогелями.

Можно предположить, что необратимое связывание САЧ гидрогелями осуществляется в начальном этапе процесса сорбции. Для выяснения этого вопроса нами был изучен обмен САЧ, связанного в гидрогеле в количестве 10–15% от максимальной емкости, с альбумином плазмы крови (табл. 2). Данные табл. 2 свидетельствуют об отсутствии обмена альбумина, сорбированного в начале процесса сорбции, что находится в полном соответствии с результатами десорбции САЧ.

Учет эффекта необратимой сорбции САЧ гидрогелями приводит к уменьшению константы адсорбционного равновесия, однако ее значение все еще остается значительным высоким, что обуславливает повышенную сорбционную активность синтезированных гидрогелей по САЧ.

Таким образом, синтезированные гидрогели благодаря включению звеньев иодметилата ИПЭТП в структуру сетчатого полимера проявляют высокую сорбционную активность к САЧ. При этом комплексы САЧ с сетчатыми полимерами могут образовываться с различной прочностью связывания с участием нескольких доменов, а сам процесс складывается из необратимой и обратимой сорбции.

Авторы выражают глубокую признательность заведующему лабораторией НИИ трансплантологии и искусственных органов МЗ СССР В. И. Севастьянову за предоставленную возможность работать с меченными об разцами САЧ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кабанов В. А., Евдаков В. П., Мустафаев М. И., Антипина А. Д. // Молек. биология. 1977. Т. 11. № 3. С. 582.
2. Кабанов В. А., Мустафаев М. И., Белов В. В., Евдаков В. П. // Биофизика. 1978. Т. 12. № 5. С. 789.
3. Morawetz H., Hughes W. L. // J. Phys. Chem. 1952. V. 56. P. 64.
4. Rice R. V., Stahmann M. A., Aliberty R. A. // J. Biol. Chem. 1954. V. 209. P. 105.
5. Платэ Н. А., Валуев Л. И., Чупов В. В., Бурдыгина И. Ф. // Вопр. мед. химии. 1985. № 4. С. 43.
6. Горчаков В. Д., Лейкин Ю. А. Итоги науки и техники. Сер. Химия высокомолек. соед. М., 1981. Т. 16. С. 212.
7. Халиков Д. Х., Кариеva З. М., Санюкович Г. С. // Докл. АН ТаджССР. 1986. Т. 29. № 12. С. 739.
8. Халиков Д. Х., Кариева З. М., Маджлисова Г. А., Шанявский И. Г., Калонтаров И. Я., Марупов Р., Глазунова Е. М. // Высокомолек. соед. А. 1978. Т. 20. № 1. С. 164.
9. Oncley J. L., Scatchard G., Brown A. // J. Phys. Chem. 1943. V. 51. P. 184.
10. Практикум по физической химии./Под ред. Кудряшова И. В. М., 1986. С. 425.
11. Шатаева Л. К., Самсонов Г. В. // Хим.-фармацевт. журн. 1977. Т. 11. № 4. С. 78.
12. Иорданский А. Л., Уланов Б. П., Зимина Л. А., Заиков Г. Е. // Докл. АН СССР. 1979. Т. 249. № 2. С. 480.

Институт химии АН ТаджССР

Поступила в редакцию  
22.03.88

D. Kh. Khalikov, Z. B. Sharifova, F. Kh. Safiullina, G. S. Sanyukovich

#### SYNTHESIS OF NETWORK COPOLYMERS OF ISOPROPENYLETHYNYLTRIMETHYL PIPERIDOL IODOMETHYLATE AND THEIR SORPTIONAL ACTIVITY TOWARDS SERUM ALBUMINE

#### Summary

Hydrogels on the basis of copolymers of isopropenylethynyltrimethyl piperidol iodomethylate, N-vinylpyrrolidone and ethylene glycol dimethacrylate have been synthesized and sorption of human serum albumine by them has been studied. Obtained network polymers have the high affinity to serum albumine, high sorption capacity and corresponding complexes are rather stable in physiological conditions.