



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011132142/05, 29.07.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
29.07.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 29.07.2011

(45) Опубликовано: 20.03.2013 Бюл. № 8

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: СУРОВКИН В.Ф. Новые гемо- и энтеросорбенты на основе нанодисперсных углерод-углеродных материалов. Российский химический журнал, 2007, №5, с.159-165. RU 2362733 C1, 27.07.2009. ВЕСЕЛОВСКАЯ А.В. Особенности адсорбции белка альбумина на образцах углеродного сорбента. Материалы V Всерос. научн. молодеж. конф. «Под знаком сигма. - Омск, 2008, (см. прод.)

Адрес для переписки:

644018, г.Омск, ул. 5-я Кордная, 29, ИППУ
СО РАН, патентная служба

(72) Автор(ы):

Лихолобов Владимир Александрович (RU),
Кнорре Дмитрий Георгиевич (RU),
Даниленко Андрей Михайлович (RU),
Годовикова Татьяна Сергеевна (RU),
Пьянова Лидия Георгиевна (RU),
Седанова Анна Викторовна (RU),
Долгих Татьяна Ивановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Учреждение Российской академии наук
Институт проблем переработки
углеводородов Сибирского отделения РАН
(ИППУ СО РАН) (RU),
Учреждение Российской академии наук
Институт химической биологии и
фундаментальной медицины Сибирского
отделения РАН (ИХБФМ СО РАН) (RU),
Учреждение Российской академии наук
Институт неорганической химии им. А.В.
Николаева Сибирского отделения РАН
(ИНХ СО РАН) (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ФТОРУГЛЕРОДНОГО ГЕМОСОРБЕНТА И ФТОРУГЛЕРОДНЫЙ ГЕМОСОРБЕНТ (ВНИИТУ-1Ф)

(57) Реферат:

Изобретение относится к получению гемосорбентов. Способ получения фторуглеродного гемосорбента включает обработку углеродного гемосорбента трифторидом брома в среде безводного фтористого водорода при массовом соотношении гемосорбент:трифторид брома: безводный фтористый водород 1:(2-4):10. Обработку производят в герметизированном реакторе, охлажденном до минус 15 - минус 25°C. Реакционную смесь выдерживают в течение 4-5 суток. После фильтрации и промывки осуществляют обработку смесью 1,3-диаминопропана и пиридина в соотношении 1:1. Затем добавляют приготовленный в

буферном растворе с pH 6,0-7,5 сывороточный альбумин. Продукт отмывают 0,15 М раствором хлорида натрия. Получен фторуглеродный гемосорбент с иммобилизованным белком полиальбумином. Сорбент получен в виде гранул округлой формы размером 0,8-1,2 мм. Удельная адсорбционная поверхность составляет 190-230 м²/г, общий объем пор не более 0,40 см³/г, объем мезопор не более 0,35 см³/г. Сорбент содержит фтор до 20 вес.%, кислород до 11 вес.%. Изобретение обеспечивает получение сорбента, селективно сорбирующего вирусные частицы гепатита В. 2 н.п. ф-лы, 2 ил., 1 табл., 5 пр.

(56) (продолжение):

с.62-64. RU 2331581 C1, 20.08.2008. RU 2208441 C1, 10.07.2003. RU 2118893 C1, 20.09.1998. RU 2414292

RU 2 4 7 7 6 5 2 C 1

RU 2 4 7 7 6 5 2 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

B01J 20/30 (2006.01)**B01J 20/20** (2006.01)**A61K 33/44** (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2011132142/05, 29.07.2011**(24) Effective date for property rights:
29.07.2011

Priority:

(22) Date of filing: **29.07.2011**(45) Date of publication: **20.03.2013 Bull. 8**

Mail address:

**644018, g.Omsk, ul. 5-ja Kordnaja, 29, IPPU SO
RAN, patentnaja sluzhba**

(72) Inventor(s):

**Likholobov Vladimir Aleksandrovich (RU),
Knorre Dmitrij Georgievich (RU),
Danilenko Andrej Mikhajlovich (RU),
Godovikova Tat'jana Sergeevna (RU),
P'janova Lidija Georgievna (RU),
Sedanova Anna Viktorovna (RU),
Dolgikh Tat'jana Ivanovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Uchrezhdenie Rossijskoj akademii nauk Institut
problem pererabotki uglevodorodov Sibirskogo
otdelenija RAN (IPPU SO RAN) (RU),
Uchrezhdenie Rossijskoj akademii nauk Institut
khimicheskoy biologii i fundamental'noj
meditsiny Sibirskogo otdelenija RAN (IKhBFM
SO RAN) (RU),
Uchrezhdenie Rossijskoj akademii nauk Institut
neorganicheskoy khimii im. A.V. Nikolaeva
Sibirskogo otdelenija RAN (INKh SO RAN) (RU)****(54) METHOD OF PRODUCING FLUOROCARBON HEMOSORBENT AND FLUOROCARBON
HEMOSORBENT ("T=LLTL-1L")**

(57) Abstract:

FIELD: process engineering.

SUBSTANCE: invention relates to hemosorbents.
Proposed method comprises processing carbon
hemosorbent by bromide trifluoride in anhydrous
hydrogen fluoride at bromide trifluoride-to-anhydrous
hydrogen fluoride ratio of 1:(2-4):10. Treatment is
carried out in sealed reactor cooled down to -15°C to
-25°C. Reaction mix is held for 4-5 days. After
filtration and rinsing, it is processed by the mix of
1,3-diaminopropane and pyridine at the ratio of 1:1.

Product is washed by 0.15 M-solution of sodium
chloride. Produced hemosorbent with immobilised
polyalbumin protein is shaped to 0.8-1.2 mm-dia
pellets. Specific sorption surface makes 190-230
m²/g, total volume of pores does not exceed 0.40
cm³/g, volume of mesopores does not exceed 0.35 cm³/g.
Sorbent contains fluorine in amount of up to 20
wt % and oxygen in amount of 11 wt %.

EFFECT: selective sorption of acute viral
hepatitis B particles.

2 cl, 2 dwg, 1 tbl, 5 ex

Изобретение относится к технологии получения сорбентов с иммобилизованным белком, позволяющих селективно сорбировать вирусные частицы гепатита В (поверхностный антиген гепатита В, ДНК вируса гепатита В). Предназначено для применения в сорбционной терапии, протеомике, медицинской диагностике, биотехнологии.

В настоящее время в мире насчитывается 350 миллионов человек с хронической HBV-инфекцией (гепатит В) (Lee W. Hepatitis B virus infection. // N. Engl. J. Med. 1997. Vol.337. P.1733-1745). Носители вируса гепатита В представляют собой группу высокого риска по развитию цирроза печени, печеночной недостаточности и гепатоцеллюлярной карциномы (Beasley R.P. Hepatitis B virus: the major etiology of hepatocellular carcinoma. // Cancer. 1988. Vol.61. P.1942-1956; McMahon B.J. Hepatocellular carcinoma and viral hepatitis. In: Wilson R.A., ed. Viral Hepatitis. New York: Marcel Dekker, 1997. P.315-330).

Одним из перспективных способов решения этой острой проблемы является разработка и получение биоспецифических сорбентов - модифицированных материалов с иммобилизованными на их поверхности биологическими активными веществами (органические вещества с различными функциональными группами, лиганды, ферменты, аминокислоты и др.) (Лисичкин Г.В. Химия привитых поверхностных соединений. М.: Физматлит, 2003. 592 с.).

Известны сорбенты на основе акрилатов и кремнийорганических соединений с последующей иммобилизацией биологических молекул высокой молекулярной массы (патенты US №№7122381, 7713421, 7173001). Основными недостатками известных материалов неуглеродной природы является малый размер частиц (менее 100 мкм), что может привести к проникновению в клетки крови и их травмированию; ограниченная сорбционная способность по молекулярной массе токсинов (патогенных частиц) - сорбция низкомолекулярных веществ либо неселективная сорбция высокомолекулярных соединений - вирусов, бактерий, без учета их возможной конкурентной сорбции, что значительно снижает сорбционную способность материала.

Известны биоматериалы - планшеты различных типов полистиролов, изготовленных фирмами-производителями ВНИИмедполимер (Россия) и Costar 3590 (США) с иммобилизованными на их поверхности моноклональными антителами HV 42 (ЗАО «Биосан», Россия) (Б.Н.Зайцев, И.В.Юдина, А.Н.Канев. // Биотехнология. 2006. №1. С.89-96). Иммобилизацию моноклональных антител осуществляют из бикарбонатного буфера, pH 9,6, при концентрации антител 6 мкг/мл в течение ночи при 4°C. Иммобилизованные антитела способны захватывать частицы поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg). Физическая сорбция моноклональных антител является существенным недостатком полистирольных планшетов, так как антитела, связанные с частицами HBsAg, могут перейти обратно в очищаемую биологическую среду (кровь, плазма).

Известны иммуномагнитные сорбенты для сепарации вирусов гепатитов В (биомагнитные сорбенты) на основе композитов высокодисперсного магнетита, модифицированного силика-γ-аминопропилсилоксаном, с последующей иммобилизацией модифицированного глутаровым альдегидом специфического иммуноглобулина Ig-ВГВ (Вергун Л.Ю., Климчук Д.А., Горбик П.П. и др. // Мікробіол. журнал. 2009. Т.71. №5. С.65-71). Полученные сорбенты способны удалять инфекционный вирус гепатита В. Недостатком иммуносорбентов является недостаточная специфическая сорбция (остаются свободные участки для связывания

полезных белков плазмы крови). Существенным недостатком также является получение сорбентов непосредственно перед вирусоудалением в день проведения испытаний, так как возможна потеря активности иммуносорбентов по отношению к вирусным частицам HBsAg при консервировании и хранении.

Планшеты и иммуносорбенты, способные сорбировать вирусные частицы HBsAg, полученные на основе неуглеродных материалов - полистиролов, магнетитов, обладают неспецифичностью и низкой адсорбционной способностью к токсичным биологическим молекулам высокой молекулярной массы, особенно по отношению к сложным по структуре соединениям, например к поверхностному антигену вирусного гепатита В.

Известен перфторполимерсодержащий углеродный гемосорбент, состоящий из углеродного пористого носителя и перфторполимерного покрытия, а также способ его получения (патенты РФ №№2118898, 2208441). Исходный углеродный гемосорбент имеет преимущественно микро-, мезопористую структуру. В качестве вещества для получения полимерного перфторуглеродного покрытия используют тетрафторэтилен с последующей полимеризацией и перфторолефин. Получаемый углеродный биосовместимый гемосорбент не повреждает форменных элементов крови, сохраняет микро-, мезопористую структуру и высокую удельную поверхность углеродного гемосорбента, не образует пылевых частиц, имеет хорошую гемодинамику и кинетику детоксикации. Недостатком данного углеродного сорбента является наличие полимерной пленки в виде равномерного сплошного покрытия по всей поверхности сорбента, резко снижающего доступ молекул токсичных соединений к адсорбирующей поверхности углеродного сорбента, и их возможный переход обратно в объем жидкой фазы (биологическая жидкость). Это приводит к низкой адсорбционной способности сорбента по отношению к молекулам токсинов.

Для повышения избирательности и увеличения активности углеродных гемосорбентов по отношению к токсичным биологическим молекулам высокой молекулярной массы и сложной структуры (на примере поверхностного антигена вируса гепатита В) необходимо наличие на их поверхности определенных «активных центров», способных к селективной сорбции - прочному связыванию таких вирусных частиц.

Известно, что в составе вирусной частицы гепатита В присутствует поверхностный антиген - HbsAg, который имеет в своей структуре рецептор, способный связываться с полиальбумином (M.W.Yu, J.S.Finlayson, J.W.-K.Shih // J.Virology. 1985. Vol.55. No.3. P.736-743; Ph.M.Harrison, J.Y.N.Lau, R.Williams // Postgrad. Med.J. 1991. Vol.67. P.719-741; Майер К.-П. Гепатит и последствия гепатита: Практич. рук.: Пер. с нем. - М.: ГЭОТАР-МЕД. 2004. 720 с.) Для достижения высокой специфичности взаимодействия с вирусными частицами HBsAg необходима иммобилизация полиальбумина, которую можно осуществить через аминокгруппы на поверхности фторуглеродного сорбента.

Наиболее близким к предлагаемому способу является способ обработки углеродного мезопористого гемосорбента, включающий обработку пористого углеродного материала воздухом при контактировании с воздушно-водяной смесью в кипящем слое и обработку гемосорбента в стационарном слое 4-6% раствором азотной кислоты, подаваемым в зону реакции порциями через определенные интервалы времени, с последующей подачей воздуха с объемной скоростью 8 м³/ч для перемешивания сорбента. Обработку кислотой проводят в течение 7 часов, соотношение кислоты к сорбенту составляет 1:(29-32). Полученный сорбент сушат при температуре 200°C до остаточной влажности 0,2% (патент РФ №2362733, прототип).

Наиболее близким к предлагаемому гемосорбенту является углеродный мезопористый гемосорбент ВНИИТУ-1, который состоит из гранул размером 0,5-1,0 мм, характеризуется высокой химической чистотой (содержание углерода не менее 99,5%) и удельной адсорбционной поверхностью 300-400 м²/г (Суровикин В.Ф., Пьянова Л.Г., Лузянина Л.С. Новые гемо- и энтеросорбенты на основе нанодисперсных углерод-углеродных материалов // Российский химический журнал. 2007 - Т. LI. - №5 - Стр.159-165).

Данный углеродный гемосорбент обеспечивает высокую степень очистки крови от низко- и среднемолекулярных токсинов, но не сорбирует высокомолекулярные соединения. Данные свойства можно рассматривать как недостатки данного сорбента при использовании его для высокоселективной сорбции вирусных частиц гепатита В.

Целью изобретения является получение гемосорбента, позволяющего селективно сорбировать вирусные частицы гепатита В (поверхностный антиген гепатита В, ДНК вируса гепатита В).

Поставленная задача решается получением фторуглеродного гемосорбента с высоким содержанием фтора на поверхности, с последующим замещением фтора на аминокислотные группы и иммобилизацией полиальбумина (модифицированный глутаровым альдегидом человеческий сывороточный альбумин).

Предлагаемый способ получения фторуглеродного гемосорбента ВНИИТУ-1Ф включает обработку углеродного гемосорбента трифторидом брома в среде безводного фтористого водорода при массовом соотношении гемосорбент:трифторид брома:безводный фтористый водород 1:2-4:10 во фторопластовом реакторе, охлажденном до -15-25°C, герметизацию реактора, выдерживание смеси при комнатной температуре в течение 4-5 суток с последующим выделением сорбента на фторопластовой воронке, промывку несколькими порциями ацетона и сушку в токе азота, добавление к гемосорбенту смеси 1,3-диаминопропана и пиридина в соотношении 1:1 с последующим перемешиванием в течение 16-24 ч, центрифугирование и удаление прореагировавшей смеси двукратной отмывкой растворителем - диметилформамидом, а затем 0,15 М раствором хлорида натрия до отрицательной реакции 1% спиртового раствора нингидрина на аминокислотные группы, промывку в фосфатном буферном растворе pH 7,0-7,5, добавление приготовленного в ацетатном буферном растворе с pH 6,0-7,5 белка сывороточного альбумина с концентрацией 15-25 мг/мл, предварительно инкубированного со свежеприготовленным 25-% водным раствором глутарового альдегида в течение 2-4 часов при температуре 1-4°C и перемешивании, выдерживание сорбента с белком в течение 16-24 часов и отмывку сорбента физиологическим 0,15 М раствором хлорида натрия, высушивание полученного продукта на воздухе при комнатной температуре в течение 15-20 часов.

Предлагаемый фторуглеродный гемосорбент с иммобилизованным белком полиальбумином ВНИИТУ-1Ф представляет собой гранулы округлой формы размером 0,8-1,2 мм и характеризуется удельной адсорбционной поверхностью 190-230 м²/г, общим объемом пор не более 0,40 см³/г, мезопор не более 0,35 см³/г, содержанием фтора до 20 вес.%, кислорода до 11 вес.% и наличием на поверхности ковалентно связанного полиальбумина (использование для образования ковалентной связи глутарового альдегида - Х.Д.Якубке, Х.Ешкайт. Аминокислоты. Пептиды. Белки. - М.: Мир, 1985. 340 с.).

Высокое специфическое взаимодействие фторуглеродного гемосорбента с вирусными частицами гепатита В достигается за счет иммобилизации полиальбумина

на поверхности фторуглеродного гемосорбента с аминогруппами.

Иммобилизованный полиальбумин связывает вирусные частицы гепатита В по рецепторному механизму.

Образование связи C-F обусловлено обработкой углеродного гемосорбента в среде безводного фтористого водорода трифторидом брома. Иммобилизация полиальбумина происходит через аминогруппу мостика, ковалентно присоединенного к поверхности фторуглеродного сорбента, путем замещения фтора на $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$.

Проведенные исследования показали значимые различия исходного образца углеродного мезопористого гемосорбента (прототипа) с полученным образцом фторуглеродного гемосорбента: фазовый состав, морфология, текстурные характеристики, элементный состав, поверхностные функциональные группы.

Определение физико-химических характеристик образцов исходного и полученного углеродного гемосорбента проводилось стандартными методами, применяемыми при исследовании пористых материалов: основные текстурные характеристики - удельную адсорбционную поверхность, суммарный объем пор и распределение пор по размерам определяли по изотермам адсорбции-десорбции азота, полученным на приборе «Gemini 23 80» (США). Расчет величины адсорбционной удельной поверхности проводили по уравнению БЭТ. Рельеф и морфологию поверхности исследуемых образцов углеродного сорбента изучали методом растровой электронной микроскопии с использованием электронного микроскопа «JSM - 6460 LV» («JEOL», Япония). Рентгеновский микроанализ поверхности исследуемых образцов проводили на энергодисперсионном спектрометре EDAX («EDAX», Япония), оснащенном Si (Li) детектором с энергетическим разрешением 130 эВ. ИК спектры регистрировали на спектрометре NICOLET 5700 фирмы Thermo Fisher Scientific с разрешением 4 см^{-1} и числом накопления спектров 32. Спектры представлены после обработки в программном пакете "ORIGIN" (коррекция базовой линии и сглаживания).

Исследование фазового состава и структурных свойств исходного и фторированных образцов углеродного гемосорбента проводили с использованием комбинационного рассеяния света (КР) (Раман-Фурье спектрометр комбинационного рассеяния RFS-100/S фирмы Bruker). В качестве источника возбуждения использовалась линия 1064 нм Nd-YAG лазера мощностью 1500 мВт. Обработка спектров КР, их нормирование и разложение на компоненты проводили с использованием функции Лоренца в спектральном диапазоне $1000-1800 \text{ см}^{-1}$ в программном пакете "ORIGIN". Измерения методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии проводились на приборе ES-300 Kratos Analytical с применением Mg-анода ($h\nu=1253.6 \text{ эВ}$).

Влияние модифицирования поверхности углеродного гемосорбента на адсорбционные свойства по отношению к вирусным частицам гепатита В исследовано в Центральной научно-исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии на плазме крови больных гепатитом В (стендовые испытания). Определение сорбции ДНК вируса гепатита В в плазме крови проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Определение содержания поверхностного антигена вируса гепатита В проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Обработка углеродного гемосорбента в среде безводного фтористого водорода трифторидом брома приводит к изменению фазового состава и морфологии углеродного гемосорбента. При фторировании увеличивается доля аморфной фазы за счет разрушения углеродных кристаллитов и образования дополнительных дефектов в кристаллической решетке. Данный процесс происходит в объеме образца, что

подтверждается анализом спектров комбинационного рассеяния и электронно-микроскопическими снимками поверхности исходного и фторированного углеродных сорбентов.

Представленные на фиг.1 изотермы адсорбции-десорбции гемосорбента по прототипу (1), фторуглеродного гемосорбента (2) и фторуглеродного гемосорбента с полиальбумином (3), а также табличные данные показывают, что фторирование углеродного гемосорбента с последующим замещением фтора на аминокгруппы и иммобилизация полиальбумина приводит к существенному изменению текстурных характеристик углеродного сорбента, происходит перераспределение пор по размеру, уменьшается удельная площадь поверхности, увеличивается размер гранул.

Представленные на фиг.2 ИК спектры углеродного гемосорбента по прототипу (1), фторуглеродного гемосорбента (2) и фторуглеродного гемосорбента с полиальбумином (3), а также данные рентгеновского микроанализа поверхности, приведенные в таблице, подтверждают изменение химического состава.

Результаты использования фторуглеродного гемосорбента с иммобилизованным полиальбумином для избирательной сорбции ДНК вируса гепатита В и поверхностного антигена вируса гепатита В HBsAg из плазмы крови больных представлены в таблице. В плазме крови здорового человека отсутствуют ДНК вируса гепатита В и поверхностный антиген гепатита В HBsAg. Содержание ДНК вируса гепатита В в плазме крови больного составляло до сорбции $40,3 \cdot 10^3$ МЕ/мл; HBsAg 1,346 мМЕ/мл. Сорбционные свойства повышаются по сравнению с прототипом в отношении к вирусным частицам гепатита В: снижение концентрации количества копий ДНК вируса гепатита В для прототипа до $33,8 \cdot 10^3$ копий/мл, поверхностного антигена вируса гепатита В HBsAg - 0,730 мМЕ/мл, для предлагаемого образца - до концентрации $4,55 \cdot 10^3$ копий/мл, 0,424 мМЕ/мл соответственно.

Для иллюстрации изобретения приведены следующие примеры.

Пример 1 (по прототипу)

Навеску углеродного мезопористого гемосорбента 0,05 г заливают плазмой крови больного гепатитом В с содержанием копий ДНК вируса $40,3 \cdot 10^3$ копий/мл и поверхностного антигена вируса гепатита В 1,346 мМЕ/мл и перемешивают на шейкере в течение часа при комнатной температуре. Количество копий ДНК вируса гепатита В во фракции до и после контакта с гемосорбентом определяют методом полимеразной цепной реакции и далее расчетным путем. Количество копий ДНК вируса гепатита В в исследуемой фракции после контакта с гемосорбентом составило $33,8 \cdot 10^3$ копий/мл, содержание поверхностного антигена вируса гепатита В - 0,730 мМЕ/мл.

Пример 2

В герметичный фторопластовый реактор, охлажденный до -20°C , последовательно добавляют 20 г безводного фтористого водорода, 2 г углеродного мезопористого гемосорбента и 6 г трифторида брома, реактор герметизируют и выдерживают реакционную смесь при комнатной температуре в течение 5 суток, после чего отделяют гемосорбент от жидкой фазы фильтрацией на фторопластовой воронке, промывают трижды ацетоном и сушат в токе азота. Полученный образец характеризуется удельной адсорбционной поверхностью $288 \text{ м}^2/\text{г}$, общим объемом пор $0,40 \text{ см}^3/\text{г}$, мезопор $0,316 \text{ см}^3/\text{г}$, содержанием фтора до 39 вес.%, кислорода до 3 вес.%.

Пример 3

По примеру 2, но затем добавляют 1 мл смеси 1,3-диаминопропана и пиридина в соотношении 1:1, перемешивают в течение 24 ч, центрифугируют и удаляют прореагировавшую смесь, двукратно отмывают растворителем - диметилформамидом, а затем 0,15 М раствором хлорида натрия до отрицательной реакции 1% спиртового раствора нингидрина на аминокруппы и промывают в фосфатном буферном растворе с рН 7,4. Полученный образец характеризуется удельной адсорбционной поверхностью 181 м²/г, общим объемом пор 0,344 см³/г, мезопор 0,343 см³/г.

Модифицирование углеродного гемосорбента фтором, замещение фтора на аминокруппы являются промежуточными стадиями получения фторуглеродного гемосорбента с целью получения фторуглеродного гемосорбента с иммобилизованным полиальбумином. Поэтому стендовые медицинские испытания фторуглеродного гемосорбента (пример 2) и фторуглеродного гемосорбента с аминокруппами (пример 3) не проводились.

Пример 4

По примеру 3, но затем добавляют приготовленный в ацетатном буферном растворе (рН 7,0) 1 мл человеческого сывороточного альбумина с концентрацией 20 мг/мл, предварительно инкубированного со свежеприготовленным 25% водным раствором глутарового альдегида в течение 2 часов при температуре 4°C и перемешивании, выдерживают сорбент с белком в течение 24 часов и отмывают физиологическим 0,15 М раствором хлорида натрия, высушивают полученный продукт на воздухе при комнатной температуре в течение 15-20 часов.

Проводят адсорбцию вирусных частиц плазмы крови больного гепатитом В по примеру 1.

Количество копий ДНК вируса гепатита В в исследуемой фракции после контакта с гемосорбентом составило $4,55 \cdot 10^3$ копий/мл, содержание поверхностного антигена вируса гепатита В - 0,424 мМЕ/мл.

Пример 5

Аналогичен примеру 4, но в реактор добавляют 4 г трифторида брома, а перемешивание со смесью 1,3-диаминопропана и пиридина проводят в течение 18 ч.

Количество копий ДНК вирусов гепатита В в исследуемой фракции после контакта с гемосорбентом составило $4,60 \cdot 10^3$ копий/мл, содержание поверхностного антигена вируса гепатита В - 0,432 мМЕ/мл.

Таким образом, сорбционная способность предлагаемого фторуглеродного гемосорбента с иммобилизованным полиальбумином ВНИИТУ-1Ф, через который пропущена плазма крови человека, больного гепатитом В, значительно превосходит адсорбционную способность исходного углеродного мезопористого гемосорбента (по прототипу).

Таблица

Образец	Удельная площадь поверхности, м ² /г	Объем пор, см ³ /г				Содержание элемента						Содержание вирусных частиц гепатита В после контакта с гемосорбентом	
		суммарный	микропор	мезопор	макропор	C		F		O		ДНК вируса гепатита В, МЕ/мл	поверхностный антиген вирусного гепатита В HBsAg, мМЕ/мл
						Всего, %	Атомное, %	Всего, %	Атомное, %	Всего, %	Атомное, %		
Пример 1. Углеродный гемосорбент (ВНИИТУ-1, прототип)	394	0,480	0,005	0,465	0,010	100	100	0	0	0	0	33,8*10 ³	0,730
Пример 2. Фторуглеродный гемосорбент	288	0,400	0,025	0,316	0,059	58	68	39	29	3	3	-	-
Пример 3. Фторуглеродный гемосорбент с аминогруппами	181	0,344	0,001	0,343	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Пример 4. Фторуглеродный гемосорбент с полиальбумином	226	0,323	0,014	0,309	-	69	77	20	14	11	9	4,55*10 ³	0,424
Пример 5. Фторуглеродный гемосорбент с полиальбумином (ВНИИТУ-1Ф)	230	0,330	0,016	0,314	-	72	80	18	12	10	8	4,60*10 ³	0,432

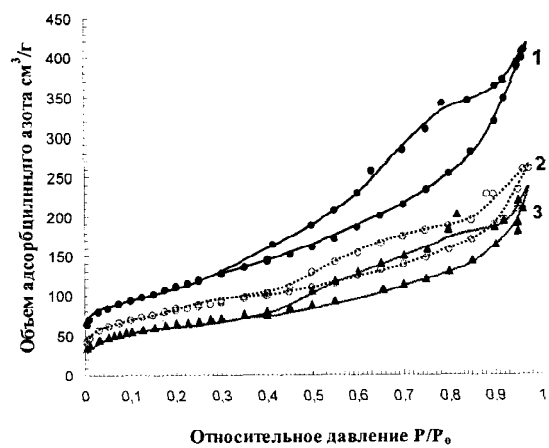
Формула изобретения

1. Способ получения фторуглеродного гемосорбента с иммобилизованным

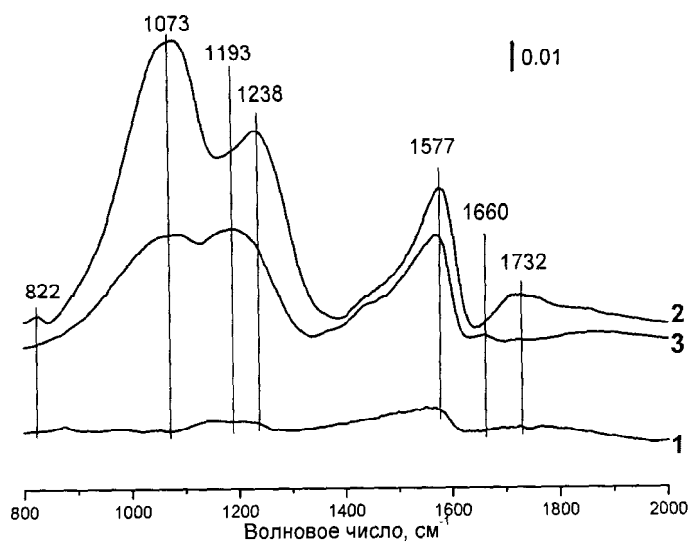
полиальбумином, включающий обработку углеродного мезопористого гемосорбента кислотой и высушивание продукта, отличающийся тем, что обработку проводят трифторидом брома в среде безводного фтористого водорода при массовом соотношении гемосорбент:трифторид брома:

5 безводный фтористый водород 1:(2-4):10 в реакторе, охлажденном до (-15) - (-25)°С, при герметизации реактора, выдерживании реакционной смеси в течение 4-5 суток, фильтрации и промывании, а затем смесью 1,3-диаминопропана и пиридина в соотношении 1:1 при перемешивании в течение 16-24 ч с последующим добавлением
10 приготовленного в буферном растворе с рН 6,0-7,5 белка сывороточного альбумина, при перемешивании смеси в течение 16-24 ч с отмывкой 0,15 М раствором хлорида натрия.

2. Фторуглеродный гемосорбент с иммобилизованным полиальбумином в виде гранул округлой формы, характеризующийся тем, что получен способом по п.1 с
15 размером гранул 0,8-1,2 мм, удельной адсорбционной поверхностью 190-230 м²/г, общим объемом пор не более 0,40 см³/г, мезопор не более 0,35 см³/г, содержанием фтора до 20 вес.%, кислорода до 11 вес.% и наличием на поверхности иммобилизованного полиальбумина.



Фиг. 1



Фиг. 2