



УДК 541.135.541.64

Синтез новых гидрофильных полимерных сорбентов, несущих импринт-сайты эритромицина

Ежова Н.М., Гаркушина И.С., Писарев О.А.

Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург

Поступила в редакцию 8.09.2010 г.

Аннотация

Методом молекулярного импринтинга синтезированы новые сорбенты, несущие реакционные сайты, комплементарные молекулам антибиотика эритромицина. Для сравнительного изучения сорбционных свойств синтезирована серия аналогичных по структуре сорбентов, не несущих импринт-сайтов

Ключевые слова: Сетчатые полимерные сорбенты, метод молекулярного импринтинга, эритромицин.

By molecular imprinting there was synthesized the new polymeric sorbents bearing the reactive sites complementary to molecules of the erythromycin antibiotic. For a comparative study of sorption characteristics, a series of similar by structure sorbents, not bearing the imprint of the sites, were obtained.

Keywords: Network polymer sorbents, method of molecular imprinting, erythromycin

Введение

В последнее десятилетие широко распространенным подходом к одному из важнейших направлений биотехнологии – выделению и очистке сложных по строению и обладающих высокой структурной лабильностью биологически активных веществ является синтез высокоспецифических полимерных носителей, предназначенных для сорбции конкретного целевого объекта. К числу таких подходов относится и метод молекулярного импринтинга, сущность которого заключается в синтезе полимерной матрицы в присутствии целевой молекулы, то есть молекулы – шаблона. После удаления такой молекулы из сетчатого полимера в структуре матрицы образуются полости, комплементарные целевой молекуле стереометрически и по расположению реакционных центров. Из литературных источников следует, что это приводит к изменению механизма взаимодействия таких сорбентов с заданным объектом [1-3].

Ранее были синтезированы «настроенные» на молекулу эритромицина карбоксильные катиониты, имеющие в своей структуре как участки

комплементарные по отношению к молекуле антибиотика, так и свободные карбоксильные группы [4].

Цель данной работы - получение полимерного сорбента, имеющего значительно более тонкую настройку на эритромицин, то есть содержащего только реакционные центры, настроенные на молекулу антибиотика. Такие полимеры могут рассматриваться как модели биологических рецепторов. Для этого были определены оптимальные условия синтеза новых гидрофильных сетчатых полимеров, импринтированных, то есть настроенных на сорбцию молекулы антибиотика – эритромицина и изучение их основных физико-химических характеристик.

Обсуждение результатов

Синтез гетеросетчатых биосорбентов наиболее эффективен при применении растворителей, в высокой степени сольватирующих образующиеся микрозаготовки сетчатого полимера [5,6]. Было установлено, что наиболее подходящим растворителем, является 50% водный раствор изопропанола (ИПС). В качестве мономеров использовали 2-гидроксиэтилметакрилат (ГЭМА) и диметакрилат этиленгликоля (ДМЭГ), синтез проводился по методикам [7-9].

При концентрации мономеров в растворителе равной 20 % удалось ввести в мономерную смесь максимальное количество мономера-шаблона, то есть метакрилата эритромицина (МЭ). Поэтому для изучения влияния содержания кроссагента (ДМЭГ) на свойства образующегося сетчатого сополимера были выбраны именно эти условия.

В результате проделанной работы были найдены оптимальные условия синтеза импринтированных на молекулу эритромицина новых гидрофильных сетчатых полиэлектролитов, - а именно 20% концентрация мономеров в растворителе, которым являлся 50% водный раствор изопропилового спирта и 25 мол.% диметакрилата этиленгликоля в качестве кроссагента.

В этих условиях были синтезированы две серии сорбентов: ненастроенных (NIP) и с различной степенью молекулярного импринтинга на молекулу антибиотика эритромицина (MIP). Для синтеза ненастроенных сополимеров в мономерную смесь вводили количество мол.% метакриловой кислоты (МАК), равное количеству метакрилата эритромицина.

Из анализа данных, приведенных в таблицах 1, видно, что синтез ненастроенных сорбентов, то есть сополимеризация МАК, ГЭМА и ДМЭГ в оптимизированных условиях, протекает с практически количественным выходом. Соответствие полной обменной емкости, найденной путем потенциометрического титрования карбоксильных групп теоретически вычисленным значениям, также указывало на полноту вхождения мономеров.

При синтезе молекулярно импринтированных сорбентов (Таблица 2) наблюдалось уменьшение выхода сополимеров с увеличением количества мономера-шаблона, а также отклонение найденных и вычисленных значений полной обменной емкости. Вместе с тем, обе реакционные серии привели к синтезу сорбентов, обладающих примерно одинаковой насыпной плотностью, что существенно при использовании их в колоночном процессе.

Таблица 1. Сополимеризация МАК с ГЭМА и 25 мол.% ДМЭГ. Ненастроенные сорбенты (NIP)

№п/п	МАК, мол. %	ГЭМА, мол. %	Выход, %	ρ , г/см ³	ПОЕ, мг-экв/г		K _{наб.}	
					Вычислено	Найдено	вода	50%ИПС
1	3	72	99	0.75	0.21	0.21	5.0	5.5
2	6	69	99	0.76	0.42	0.41	5.1	5.6
3	9	66	99	0.76	0.63	0.61	5.2	5.8
4	12	63	98	0.74	0.85	0.84	5.2	6.1
5	15	60	98	0.74	1.07	1.04	5.2	6.2

Как видно из представленных экспериментальных данных, ненастроенные сорбенты обладают, как и следовало ожидать, гидрофильной природой наряду с высокой структурной устойчивостью. Величины коэффициентов набухания этих полимеров находятся в диапазоне 5-6, что согласуется с концентрацией мономеров в растворителе. Кроме того, NIP характерна практически полная независимость набухания от процентного содержания МАК, что позволяет предположить незначительные отклонения в пористости для всех пяти синтезированных образцов и, следовательно, использовать только один из них для исследования основных сорбционных свойств всей реакционной серии, например, NIP-9.

Таблица 2. Сополимеризация МЭ с ГЭМА и 25 мол.% ДМЭГ Молекулярно импринтированные полимеры (MIP)

№ п/п	МЭ, мол. %	ГЭМА, мол. %	Выход, %	ρ , г/см ³	ПОЕ, мг-экв/г		K _{наб.}	
					Вычислено	Найдено	вода	50% ИПС
1	3	72	93	0.75	0.21	0.28	6.0	8.0
2	6	69	70	0.77	0.42	0.50	3.0	8.0
3	9	66	53	0.75	0.63	0.62	3.2	11.0
4	12	63	53	0.76	0.85	0.78	2.7	8.0
5	15	60	42	0.76	1.07	0.87	2.5	9.2

Заключение

Разработаны оптимальные условия для синтеза гидрофильных полимерных сорбентов, содержащих импринт-сайты антибиотика-макролида эритромицина. Изучение гидратации новых гидрофильных сополимеров продемонстрировало существенные различия в структуре MIP- и NIP-сорбентов.

Работа осуществлялась при поддержке гранта РФФИ 10-03-00738.

Список литературы

1. Leonard M. New packing materials for protein chromatography. // J. Chromatogr. B. 1997. V.699. №1. P.3-27.
2. Allende r C.J. Molecularly imprinted polymers: technology and application. // Advanced 3 Drug Delivery Reviews. 2005. T.57. №5. P.1731-1732.

3.Brügemann O., Haupt K., Lei Ye, Yilmaz E., Mosbach K. New configurations and applications of molecularly imprinted polymers. // J. Chromatogr. A. 2000. Т.889. №4. P.15-24.

4.Гаркушина И.С., Ежова Н.М., Писарев О.А. Влияние структуры биосорбента на равновесные и кинетические параметры сорбции эритромицина А. // Прикладная биохимия и микробиология. 2006. Т. 42. №4. С.409-412.

5.Писарев О.А., Ежова Н.М. Современные подходы к конструированию структуры полимерных сорбентов для препаративной хроматографии биологически активных веществ. // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т.8, вып.4, С.535-552.

6.Писарев О.А., Ежова Н.М., Гаркушина И.С. Взаимодействие эритромицина с полимерными сорбентами, «настроенными» на молекулу антибиотика. // Журнал физической химии. 2009. Т. 83. №1. С.142-147.

Ежова Надежда Михайловна - к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории полимерных наносистем и биотехнологических продуктов, Институт высокомолекулярных соединений Российской Академии Наук, Санкт-Петербург

Писарев Олег Александрович - зав. лаб. полимерных наносистем и биотехнологических продуктов, Институт высокомолекулярных соединений Российской Академии Наук, Санкт-Петербург

Ezhova Nadezhda M. - Candidate of Chemical Science, research worker, Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, S-Peterburg

Pisarev Oleg A. - laboratory chief, Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, S-Peterburg