

УДК 54-414:612.1:577.112.856
©Коллектив авторов

СИНТЕЗ АФФИННЫХ СОРБЕНТОВ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ СИНТЕТИЧЕСКИМИ ЛИГАНДАМИ ДЛЯ ПРОЦЕДУР ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО АФЕРЕЗА

П.А. Левашов, О.И. Афанасьева, О.А. Дмитриева,
Е.В. Клесарева, И.Ю. Адамова, М.И. Афанасьева, Ж.Д. Беспалова,
М.В. Сидорова, С.Н. Покровский*

ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс
Росмедтехнологий, 121552 Москва, 3-ая Черепковская ул. 15-а,
Институт экспериментальной кардиологии РКНПК Росмедтехнологий;
тел.: +7-495-4146732, +7-916-6714704; эл. почта: levashov@aport.ru

Рассматриваются практические аспекты изготовления и стабильности медицинских сорбентов. Предложена удобная методика, позволяющая синтезировать высокоэффективные биоспецифичные автоклавируемые сорбенты на основе полисахаридной матрицы с иммобилизованным через спейсер синтетическим лигандом (аминокислотой, олигопептидом или олигосахаридом), имеющим в своем составе первичную аминогруппу. Разработанный подход может быть использован для изготовления широкого арсенала разнообразных аффинных сорбентов, пригодных для применения в медицине и биотехнологии.

Ключевые слова: аффинные сорбенты, аферез, иммуноглобулины.

ВВЕДЕНИЕ. Для лечения многих аутоиммунных заболеваний успешно используют аферез с сорбентами, связывающими иммуноглобулины (Ig) человека [1]. Как показывает практика, применение данной процедуры с сорбентами, удаляющими общий пул IgG, существенно улучшает прогноз при ряде тяжелых аутоиммунных заболеваний [2]. В клинической практике для процедур Ig-афереза используют сорбенты на основе поликлональных антител к IgG человека [3], белка А из *Staphylococcus aureus* [4], аминокислот триптофана и фенилаланина [5]. Известны также сорбенты с иммобилизованными производными триазина [6-8]. Однако, существующие сорбенты не лишены ряда недостатков. Например, сорбенты с антителами и белком А имеют высокую стоимость, могут вызывать иммунный ответ в случае попадания фрагментов лиганда в кровь пациента и не могут быть стерилизованы автоклавированием, что также создаёт дополнительные требования к условиям их производства. Сорбенты на основе производных триазина, триптофана и фенилаланина имеют худшие показатели по специфичности связывания IgG человека по сравнению с иммуносорбентами, однако могут быть изготовлены в более удобном для практического применения варианте, стабильном при хранении и автоклавировании, а, следовательно, и более дешевом. Нам представляется, что путь создания сорбентов на основе иммобилизованных аминокислот, олигопептидов или олигосахаридов, является одним из наиболее перспективных для решения задач разработки относительно недорогих и в то же время высокоэффективных сорбентов для клинического применения.

* - адресат для переписки

Среди множества матриц, используемых для создания сорбентов в медицинской практике, наибольшее применение нашли агарозные, целлюлозные и полиакрилатные матрицы, причем последние обладают рядом химических и структурных особенностей, способных увеличивать побочные эффекты на процедуре [9], поэтому в нашей работе основное внимание мы уделили сорбентам на основе полисахаридных матриц, и в частности сшитой 4% агарозы (Sephарозе производства GE Healthcare).

Основными требованиями для приготовления сорбентов, используемых в процедурах терапевтического афереза является их эффективность и безопасность. Эффективность сорбентов для терапевтического афереза обеспечивается высокой сорбционной емкостью разработанных сорбентов и возможностью регенерации сорбента, позволяющей использовать колонку многократно. Основными параметрами безопасности сорбционных колонок является стерильность, апирогенность, отсутствие токсичности и возможности смывов с колонок её компонентов. Для достижения стерильности процесс изготовления колонок ведут либо в асептических условиях, обеспечивающих стерильность на протяжении всего технологического процесса, либо подвергают стерилизации конечный продукт, что возможно при использовании синтетических лигандов, связанных химически стабильной ковалентной связью с матрицей.

МЕТОДИКА. Активацию матрицы “бромциановым методом” проводили по модифицированной методике Porath [10, 11]. 5 мл осевшего полисахаридного геля промывали 20 мл раствора, содержащего 4,48 г КОН и 4,28 г K_2HPO_4 . При температуре 5°C к 15 мл суспензии геля в том же растворе добавляли 1 мл раствора BrCN в диоксане (0,6 г/мл), инкубировали в течении 10 минут, промывали 75 мл дистиллированной воды, затем 10 мл буферной смеси 0,2 М H_3BO_3 -NaOH pH 8,0. К 10 мл полученной суспензии геля добавляли 2-3 мл раствора иммобилизуемого лиганда (триптофана или ϵ -аминокапроновой кислоты) в расчёте 30-50 мкмоль на мл геля, 1 мл диметилсульфоксида и инкубировали при перемешивании при температуре 20°C. Через 2 часа количество связавшегося лиганда (для триптофана) составляло 70-85% от максимального выхода. Через 10 часов к полученному гелю Sepharose-Trp добавляли 1 мл 1 М раствора этаноламина pH 8,0, затем через час промывали 250 мл воды и 25 мл буферной смеси 0,1 М K_2HPO_4 -NaOH pH 7,0.

Для активации матрицы “периодатным методом” [10] к 5 мл осевшего промытого водой геля добавляли 10 мл 2% водного раствора NaIO_4 и перемешивали в течении 4 ч при 20°C. Гель промывали 100 мл воды и затем 100 мл буферной смеси 0,2 М H_3BO_3 -NaOH pH 9,4. В 50% суспензию геля добавляли лиганд, растворённый в 0,5-5 мл той же буферной смеси. Добавляли следующие количества лигандов: 150-250 мкмоль триптофана, либо 250-500 мкмоль ϵ -аминокапроновой кислоты, либо 10 ммоль 1,6-диаминогексана. Через 2 часа инкубации при температуре 25°C количество связавшегося лиганда (для триптофана) составляло 60-70% от максимального выхода. Через 10 часов в суспензию геля добавляли 5 мл свежеприготовленного 1% водного раствора NaBH_4 и перемешивали 20 мин, после этого полученный гель (Sepharose-Trp либо Sepharose-NH- C_5H_{10} -COOH либо Sepharose-NH- C_6H_{12} -NH $_2$) промывали 25 мл воды и затем 25 мл 0,1 М K_2HPO_4 -NaOH pH 7,0.

Для присоединения лигандов к матрице Toyopearl AF-Ероху-650 (“Tosoh Bioscience”, Япония) к 1 мл осевшего геля добавляли 2 мл 25 мМ водного раствора триптофана (с pH, доведённым с помощью раствора NaOH до значения 10) либо 1 мл 2 М раствора 1,6-диаминогексана и перемешивали в течение 2 часов при температуре 50°C. Затем сорбент (Toyopearl-Trp либо Toyopearl-NH- C_6H_{12} -NH $_2$) промывали 25 мл воды.

Для присоединения триптофана к матрице с иммобилизованной группой -NH- C_5H_{10} -COOH (после присоединения ϵ -аминокапроновой кислоты), к 1 мл осевшего геля Sepharose-NH- C_5H_{10} -COOH добавляли 1 мл 25 мМ раствора

триптофана, доводили значение pH смеси до 4,0 при помощи раствора 2 М HCl. Добавляли 0,5 мл раствора 1-(3-(диметиламино)-пропил)-3-этилкарбодиимида концентрации 10 мг/мл и перемешивали смесь 5 часов при температуре 20°C и pH 4,0 [10, 12]. Инкубацию продолжали при температуре 5°C ещё в течении 15 часов, затем гель Sepharose-NH-C₅H₁₀-CO-Trp промывали 10 мл воды.

Для присоединения триптофана к матрице с иммобилизованной группой -NH-C₆H₁₂-NH₂ (после присоединения 1,6-диаминогексана) к 1 мл осевшего геля Sepharose-NH-C₆H₁₂-NH₂ или Toyopearl-NH-C₆H₁₂-NH₂ добавляли 1 мл 50 мМ раствора триптофана, 1 мл диметилсульфоксида и 0,1 мл 2,6 М раствора глутарового альдегида. Перемешивали смесь в течение 2 ч при температуре 20°C. Через 2 часа добавляли 1 мл свежеприготовленного 1% раствора NaBH₄, перемешивали 20 минут, после этого гель (Sepharose-NH-C₆H₁₂-NH-C₅H₁₀-Trp либо Toyopearl-NH-C₆H₁₂-NH-C₅H₁₀-Trp) промывали 5 мл воды и затем 1 мл 0,1 М KH₂PO₄-NaOH pH 7,0.

Сорбционные характеристики исследовали методом "сорбции в объёме" при температуре 25°C. Сорбенты уравнивали буферной смесью 0,01 М KH₂PO₄-NaOH pH 7,0 с 0,15 М NaCl. К 1 мл осевшего геля добавляли по 5 мл раствора очищенного человеческого IgG (10 мг/мл) либо, если указано, 5 мл цельной плазмы человека и перемешивали 30 минут. Сорбенты трижды промывали порциями по 5 мл 0,01 М KH₂PO₄-NaOH с pH 7,0 с 0,15 М NaCl. Связавшийся белок элюировали 10 мл раствора 0,2 М глицин-HCl с pH 2,5 с 0,15 М NaCl.

Количество иммобилизованного лиганда определяли по разнице между добавленным количеством и количеством в смывах с сорбента. Концентрацию триптофана в растворах определяли спектрофотометрически по оптической плотности при длине волны 280 нм. Концентрацию белка определяли методом Bradford [13] при длине волны 595 нм и методом образования биуретового комплекса с участием ионов меди с реагентом Бенедикта [14] при длине волны 330 нм. Для определения концентраций IgG, IgA, IgM, и IgE использовали наборы реагентов производства фирмы "Вектор-Бест" (Россия).

Автоклавирование образцов сорбентов проводили в течение 20 минут при температуре 134°C и давлении 2 атм в среде раствора 0,15 М NaCl.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Подбор и оптимизацию основных условий синтеза и определение общих характеристик для сорбентов проводили с использованием в качестве лиганда ароматической аминокислоты – триптофана. Сравнение сорбентов Sepharose-Trp, полученных при разных методах активации матрицы с помощью BrCN либо NaIO₄ показывает, что при бромциановом способе активации удавалось иммобилизовать несколько большее количество лиганда по сравнению с периодатным, при этом сорбционная емкость полученных сорбентов существенно отличалась в пользу BrCN метода (табл. 1). Возможно, это объясняется тем, что при разных способах активации лиганд иммобилизуется с различающимся распределением по внутренним полостям гранул сорбента. В результате чего при периодатном способе часть лиганда может оказываться стерически менее доступной для высокомолекулярного биополимера. Если данное предположение верно, то ёмкость сорбента, полученного периодатным методом теоретически можно увеличить при введении дополнительного соединения (спейсера) между полимером матрицы и лигандом, что будет показано далее.

Таблица 1. Sepharose-Trp, полученная различными методами активации агарозной матрицы.

Метод активации матрицы для иммобилизации лиганда	Иммобилизовано лиганда, ммоль на мл геля	Количество связанного IgG, мг белка на мл геля
«периодат»	16,0±1,5	2,0±0,3
«бромциан»	24,2±1,8	7,1±0,3

АФФИННЫЕ СОРБЕНТЫ С СИНТЕТИЧЕСКИМИ ЛИГАНДАМИ ДЛЯ АФЕРЕЗА

Для использования в медицинских целях важным параметром является возможность стерилизации изделий медицинской техники без потери свойств. Одним из наиболее реализуемых способов стерилизации биомедицинских сорбентов является автоклавирование. Поэтому нами было проведено сравнение стабильности синтезированных сорбентов при автоклавировании (табл. 2). Обнаружено, что полученный бромциановым методом сорбент не выдерживает данную процедуру. Неустойчивость при автоклавировании вероятно является общим свойством для сорбентов, синтезированных с использованием BrCN, что подтверждается также данными для сорбента на основе целлюлозной матрицы, активированной BrCN. Использование высокотоксичных соединений и необходимость проведения всех этапов синтеза в асептических условиях также накладывает существенные ограничения на получение таких сорбентов в препаративных количествах. В литературе, впрочем, имеются данные о возможности автоклавирования некоторых сорбентов, полученных методом активации матрицы BrCN [15], но в более мягких условиях автоклавирования (15 мин при 121°C и 1 атм), что может существенно уменьшать гарантии полноты уничтожения микроорганизмов в препарате. Таким образом, для сорбента медицинского применения более целесообразным оказывается использование периодатного способа иммобилизации. Далее в тексте мы будем рассматривать сорбенты на основе Sepharose, которые были получены только при помощи “периодатного” способа активации.

Таблица 2. Влияние автоклавирования на свойства сорбентов с триптофаном, иммобилизованном при помощи различных методов активации матриц

Сорбент	Метод активации матрицы для иммобилизации лиганда	Количество иммобилизованного лиганда после автоклавирования, % от исходного	Сорбционная ёмкость по IgG после автоклавирования, % от исходной
Sepharose-Trp	«периодат»	97±2	95±4
Sepharose-Trp	«бромциан»	67±7	12±3
Целлюлоза-Trp	«бромциан»	71±6	15±4

Как уже отмечалось, одним из возможных путей увеличения сорбционной ёмкости может быть введение дополнительного связующего соединения – спейсера, чтобы иммобилизуемый ковалентно лиганд связывался не непосредственно с полимерной цепью матрицы, а посредством дополнительного молекулярного мостика. В качестве одного из вариантов спейсеров мы использовали иммобилизованную через аминогруппу ε-аминокапроновую кислоту, к которой затем присоединяли триптофан с использованием карбодиимида. В качестве другого варианта спейсера был выбран иммобилизованный 1,6-диаминогексан, к которому затем присоединяли триптофан конденсацией с глутаровым альдегидом. Как мы видим (табл. 3), введение спейсера действительно обеспечило высокую сорбционную ёмкость, необходимую для сорбентов, используемых для терапевтического афереза.

Таблица 3. Влияние длины спейсера на сорбционные характеристики.

Сорбент	Иммобилизовано Trp (мкмоль на мг геля)	Сорбционная ёмкость по IgG (мг белка на мг геля)
Sepharose-Trp	16,0±1,5	2,0±0,3
Sepharose-NH-C₅H₁₀-CO-Trp	10,2±2,0	4,7±0,3
Sepharose-NH-C₆H₁₂-NH-C₅H₁₀-Trp	21,3±2,1	10,3±0,2
Toyopearl-Trp	25,5±3,8	0,3±0,2
Toyopearl-NH-C₆H₁₂-NH-C₅H₁₀-Trp	27,0±2,2	9,4±0,2

Для дополнительной иллюстрации влияния длины спейсера на сорбционную емкость нами также были синтезированы сорбенты на основе коммерческой активированной матрицы Toyopearl-AF-650-Ероху, имеющей в своей основе не полисахарид, а сшитый поливиниловый спирт. Разница в сорбционных характеристиках (табл. 3) при удлинении спейсера для данного сорбента получилась ещё заметней. Триптофан, иммобилизованный через исходный спейсер практически не связывал белок по сравнению с триптофаном, иммобилизованным через дополнительную группу -NH-C₆H₁₂-NH-C₅H₁₀-. Полученный сорбент на основе Toyopearl прекрасно выдерживает автоклавирование, однако имеет ряд недостатков по сравнению с полисахаридными матрицами, а именно: большая неспецифическая сорбция белков в условиях физиологических значений pH и ионной силы, меньшая “биосовместимость” в случае случайной утечки гранул из колонки и более высокая стоимость исходных материалов сорбента.

При сравнении свойств сорбентов, отличающихся разными спейсерами, следует также отметить такой факт, как небольшие отличия в специфичности полученных сорбентов. Это мы видим из сканограммы электрофореграмм (рисунок) по спектру связываемых сорбентами белков цельной человеческой плазмы. Элюат с сорбента с “длинным” спейсером даёт больше посторонних (не IgG) белковых полос в электрофореграмме. Это может объясняться тем что, в зависимости от химической природы спейсера, последний сам может принимать участие в связывании некоторых белков совместно с концевым лигандом. Впрочем, данное возрастание неспецифической сорбции относительно невелико.

Все сорбенты, полученные на агарозной матрице активацией NaIO₄ с разными спейсерами были проверены на устойчивость к автоклавированию и продемонстрировали 85-97% сохранения своих сорбционных характеристик, утечка лиганда при автоклавировании не превышала 1,4-2,0%.

Полученные результаты по специфичности, сорбционной емкости и стабильности при стерилизации сорбентов на основе триптофана позволяют сделать вывод, что, несмотря на некоторые недостатки специфичности сорбента Sepharose-NH-C₆H₁₂-NH-C₅H₁₀-Trp, подход с получением иммобилизованного на матрице гексамина с последующим присоединением лиганда при помощи глутарового альдегида является очень удобным и перспективным для изготовления высокоэффективных сорбентов медицинского назначения.

Для подтверждения правильности выбранного подхода и доказательства применимости его в клинической практике было проведено сравнение синтезированного нами сорбента Sepharose-NH-C₆H₁₂-NH-C₅H₁₀-Trp с коммерческим аналогом - активным ингредиентом колонок “Immusorba TR” (“Asahi Medical”, Япония), представляющим собой триптофан, иммобилизованный на поливиниловом спирте. Было измерено снижение титра различных антител в человеческой плазме после инкубации сорбентом (табл. 4).

АФФИННЫЕ СОРБЕНТЫ С СИНТЕТИЧЕСКИМИ ЛИГАНДАМИ ДЛЯ АФЕРЕЗА

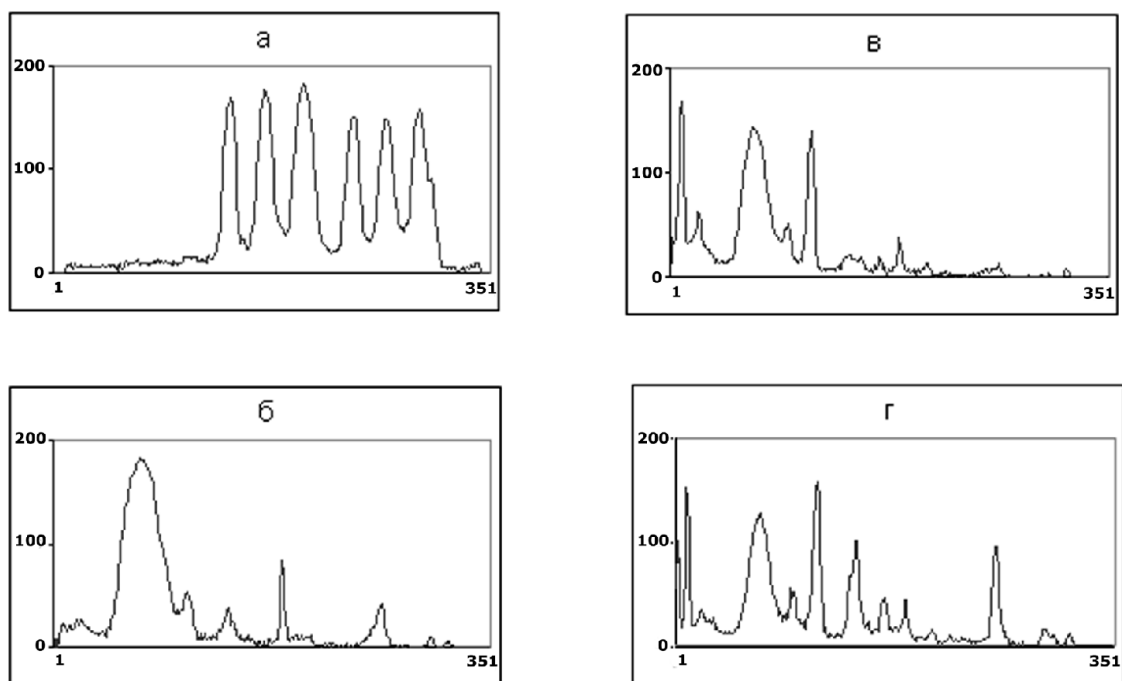


Рисунок.

Сканограммы электрофореграмм элюатов с сорбентов. а - смесь белков стандартов: фосфоорилаза В - 94 кДа, бычий сывороточный альбумин - 67 кДа, овальбумин - 43 кДа, карбоксигидролаза - 30 кДа, ингибитор трипсина соевый - 20 кДа, α -лактоальбумин - 14 кДа; б - иммуноглобулины G человека (элюат с иммуносорбента, содержащего в качестве лиганда поликлональные антитела барана к IgG человека); в - элюат с сорбента содержащего триптофан, иммобилизованный на матрицу без дополнительного спейсера; г - элюат с сорбента, содержащего триптофан, иммобилизованный на матрицу через спейсер $\text{-NH-C}_6\text{H}_{12}\text{-NH-C}_5\text{H}_{10}\text{-}$. По оси абсцисс - координаты от старта к финишу, полученные при сканировании геля, ось ординат - интенсивность окраски сигнала полосы электрофореза (относительное количество белка).

Таблица 4. Сравнение эффективности и специфичности сорбентов на образцах человеческой плазмы.

	Sephacrose-NH-C ₆ H ₁₂ -NH-C ₅ H ₁₀ -Trp		Immunosorba TR	
	% снижения	Сорбционная ёмкость	% снижения	Сорбционная ёмкость
IgG	15,8±2,8	6,6±1,2 (мг на мл сорбента)	12,7±3,1	5,3±1,3 (мг на мл сорбента)
IgA	22,8±4,6	0,3±0,1 (мг на мл сорбента)	25,2±6,3	0,3±0,1 (мг на мл сорбента)
IgM	22,7±5,8	0,6±0,2 (мг на мл сорбента)	20,3±3,1	0,6±0,1 (мг на мл сорбента)
IgE	45,6±2,5	10,3±0,6 (МЕ на мл сорбента)	45,0±2,5	10,2±0,6 (МЕ на мл сорбента)

Итак, на основании результатов проверки свойств сорбентов с иммобилизованным через спейсер триптофаном была предложена оптимальная методика получения сорбентов, способных связывать иммуноглобулины и обладающих параметрами эффективности и безопасности, необходимыми для сорбентов, использующихся в медицине.

Для иллюстрации возможностей использования предложенного подхода для синтеза сорбентов с различными синтетическими лигандами мы изготовили по предложенной методике два сорбента (Sephарозе-NH-C₆H₁₂-NH-C₅H₁₀-L), содержащих в качестве лиганда (L): 1) дипептид TyrPhe, специфично связывающий IgG и фибриноген; 2) синтетический трисахарид GalNAcα1-3(Fucα1-2)Galβ1-OC₃H₆NH₂, способный связывать IgM и IgG, специфичные к антигенам групп крови по системе АВ0. Для приготовления данных двух вариантов сорбентов иммобилизовали лиганд в количестве 25 и 3 мкмоль на мл геля соответственно. Выход (по иммобилизуемому лиганду) на стадии синтеза составил 80-85% в условиях аналогичных описанным выше. Эффективность удаления специфических антител к антигенам групп крови на сорбенте с олигосахаридом при проведении аффинной хроматографии плазмы крови человека составил 87±5%. Сорбционная ёмкость сорбента с иммобилизованным пептидом, специфичным к иммуноглобулинам человека составила по IgG 7,3±1,6 мг/мл, что сопоставимо с характеристиками коммерческих аналогов ("Immusorba TR" и "Immusorba PH").

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. Предложена удобная методика, позволяющая синтезировать высокоэффективные биоспецифичные автоклавируемые сорбенты на основе полисахаридной матрицы с иммобилизованным через спейсер синтетическим лигандом различной природы, имеющим в своём составе первичную аминогруппу. Данный подход может быть использован для изготовления широкого арсенала разнообразных аффинных сорбентов, пригодных для применения как в медицине так и в биотехнологии. Предложенный алгоритм синтеза сорбентов для медицинских целей позволяет минимизировать использование высокотоксичных соединений и существенно сократить потребность в асептических условиях производства.

Коллектив авторов выражает благодарность доктору химических наук, профессору Бовину Николаю Владимировичу за консультации и любезно предоставленные образцы производных трисахарида GalNAcα1-3(Fucα1-2)Galβ1-OC₃H₆NH₂.

Работа была проведена при финансовой поддержке Министерства науки и образования Российской Федерации (Государственный контракт № 02.512.11.2100).

ЛИТЕРАТУРА

1. Bosch T. (2005) Ther. Apher. Dial., **9**, 459-468.
2. Stummvoll G.H., Aringer M., Smolen J.S., Schmaldienst S., Jiménez-Boj E., Hürl W.H., Graninger W.B., Derfler K. (2005) Ann. Rheum. Dis., **64**(7), 1015-1021.
3. Kiseleva E.A., Afanasieva O.I., Kosheleva N.A., Pokrovsky S.N. (1997) Jap. J. Apher., **16**, 246-247.
4. Braun N., Erley C., Klein R., Kötter I., Saal J., Risler T. (2000) Nephrol. Dial. Transplant., **15**, 1367-1372.
5. Hirata N., Kuriyama T., Yamawaki N. (2003) Ther. Apher. Dial., **7**, 85-90.
6. Li R., Dowd V., Stewart D.J., Burton S.J., Lowe C.R. (1998) Nat. Biotechnol., **16**, 190-195.
7. Lowe C.R., Burton C.J., Pearson J.C. (1986) J. Chromatogr., **376**, 121-130.
8. Teng S.F., Sproule K., Husain A. (2000) J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl., **740**, 1-15.

АФФИННЫЕ СОРБЕНТЫ С СИНТЕТИЧЕСКИМИ ЛИГАНДАМИ ДЛЯ АФЕРЕЗА

9. Алтынова Е.В., Афанасьева О.И., Болдырев А.Г., Потокин И.Л., Соколов А.А., Афанасьева М.И., Покровский С.Н. (2006) Эфферентная терапия, **12**(4), 3-14.
10. Аберкромби Д., Алленмарк С., Арамэ С., Барабино Р., Бер Э., Бомгрэн Б., Бонафу Дж., Бошети Э., Чейкен И., Добровольска Г., Дорнанд Дж., Фаверо Дж. (1988) Аффинная хроматография (Дин П., Джонсон У., Милд Ф., ред.): Методы, Мир, М.
11. Porath J. (1973) *Biochimie*, **55**(8), 943-951.
12. Березин И.В., Клячко Н.Л., Левашов А.В., Мартинек К., Можяев В.В., Хмельницкий Ю.Л. (1987) Имобилизованные ферменты, Биотехнология кн. 7, Высшая школа, М.
13. Bradford M. (1976) *Anal. Biochem.*, **56**, 248-252.
14. Goa J. (1953) *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **5**, 218-222.
15. Rönspack W., Brinckmann R., Egner R., Gebauer F., Winkler D., Jekow P., Wallukat G., Müller J., Kunze R. (2003) *Ther. Apher. Dial.*, **7**, 91-97.

Поступила: 25. 03. 2009.

PREPARATION OF AFFINITY SORBENTS WITH IMMOBILIZED SYNTHETIC LIGANDS FOR THERAPEUTIC APHERESIS

P.A. Levashov, O.I. Afanasieva, O.A. Dmitrieva, E.V. Klesareva, I.Yu. Adamova, M.I. Afanasieva, Zh.D. Bepalova, M.V. Sidorova, S.N. Pokrovsky

Cardiology Research Center, 3-rd Cherepkovskaya 15a, Moscow, 121552 Russia;
tel.: +7-495-4146732, +7-916-6714704; e-mail: levashov@aport.ru

Preparation and stability of a few examples of medical sorbents are described. A simple and practical technique has been developed for sorbent preparation with the low weight synthetic ligands such as amino acids, peptides or oligosaccharides. This approach to sorbent preparation enables the development of the new affine columns generation for medicine and biotechnology to be carried out with ease.

Key words: synthetic ligands, affinity sorbents, therapeutic apheresis.