



УДК 543:541

Современные подходы к конструированию структуры полимерных сорбентов для препаративной хроматографии биологически активных веществ (обзор)

Писарев О.А., Ежова Н.М.

Институт Высокмолекулярных Соединений РАН, Санкт-Петербург

Аннотация

Обзор посвящен рассмотрению новейших тенденций в дизайне синтетических полимерных сетчатых сорбентов с четко очерченной направленностью применения – препаративная хроматография биологически активных веществ (БАВ). Такой выбор обусловлен всё возрастающей потребностью в хроматографических носителях, обладающих максимально высокой селективностью сорбции целевых БАВ.

В основу классификации сорбентов заложены функциональные свойства, которые задаются условиями синтеза: структурная организация, равновесная и кинетическая проницаемость, внутренняя поверхность раздела, распределение пор и т.д. Изложены теоретические представления о влиянии условий синтеза на формирование сетчатой структуры полимерных сорбентов для препаративной хроматографии БАВ

Введение

Высокоэффективные сорбенты для препаративной хроматографии БАВ должны характеризоваться следующим комплексом свойств:

- относительной жёсткостью структур, высокой гидродинамической протеканостью и устойчивостью к действию гидролизующих агентов и механических напряжений.
- высокой сорбционной ёмкостью и быстрой кинетикой сорбции целевого продукта или примесей.
- возможностью осуществления полной обратимости сорбции целевых компонентов в относительно «мягких» физико-химических условиях селективной элюции и получения высококонцентрированных элюатов.
- лёгкостью регенерации и возможностью реализации многократно повторяющихся хроматографических процессов.

Низкая цена, высокая селективность сорбции, максимальный выход, чистота целевого продукта являются главными требованиями препаративной хроматографии (рис.1) в отличие от аналитической хроматографии, где экспериментатор стремится достигнуть максимальной эффективности разделения многокомпонентной смеси за

минимальное время. В матрице сорбента для препаративной хроматографии, во-первых, нежелательно присутствие функциональных групп, способных к необратимым взаимодействиям с молекулами целевого БАВ и неспецифическим взаимодействиям с примесями; во-вторых, должно быть достаточное количество пор с хорошей кинетической проницаемостью; в-третьих – сорбенты должны обладать высокой химической и биологической стойкостью. Сочетание такого комплекса свойств достигается знанием основных закономерностей формирования сетчатых структур полимерных сорбентов, а также отчетливым представлением о физико-химических и биологических свойствах целевого БАВ. Следует отметить, что использование физического подхода к вопросам формирования пористой структуры сетчатых полиэлектролитов, основанного на данных о совместимости полимеров и микрорасслоении фаз, о формировании пор инертными наполнителями дало значительно лучший результат, чем традиционный химический подход, основанный на изучении реакционной способности сомономеров.



Рис.1. Критерии эффективности препаративных разделений БАВ

Обсуждение результатов

1. Влияние условий синтеза на формирование структуры сетчатой полимерной матрицы.

В настоящее время при разработке методов синтеза полимерных сорбционных материалов фактически развиваются два основных направления: синтез сорбентов, способных главным образом к электростатическим взаимодействиям с сорбируемыми БАВ (т.е. монофильных ионитов) и синтез амфифильных ионитов, способных к смешанному (в основном электростатическому и гидрофобному) взаимодействию [1-3].

Реализация этих направлений основана на проведении реакций сополимеризации в присутствии различных инертных неполимеризующихся веществ (разбавителей), влияющих на морфологию образующихся сополимеров [4,5]. Разбавители могут оказаться термодинамически "хорошими" растворителями

для образующихся сополимеров, и тогда они обуславливают набухание сополимеров на всех стадиях их образования. В присутствии разбавителя, который является термодинамически “плохим” растворителем, образующийся сополимер оказывается практически ненабухающим в жидкой фазе полимеризующейся системы. Такая система становится метастабильной (пересыщенной), и в ней самопроизвольно выделяются дисперсные частицы новой фазы. Пересыщение, т.е. степень отклонения метастабильного состояния системы от термодинамического равновесия, является фактором, определяющим дисперсность и, соответственно, размер частиц выделяющейся новой фазы. Показано, что в зависимости от стадии полимеризации разбавитель играет роль как хорошего, так и плохого растворителя [6-8].

Новая фаза всегда возникает из переходных метастабильных состояний, однако только в определённых условиях этот процесс сопровождается развитием гетерогенной пористой пространственной структуры. По существу, пористость является следствием того, что объём полимерной фазы значительно меньше объёма, в котором первоначально были распределены мономеры. Стремление системы к минимуму свободной энергии приводит к тому, что в определённых условиях при образовании интрамолекулярных (внутриглобулярных, внутрицепных) полимерных сшивок образуется непрерывная пространственная структура, обладающая определённой пористостью. Чем больше при прочих равных условиях разбавление исходной смеси мономеров разбавителем, тем больше должна быть площадь поверхности пор синтезируемого полимера. Вместе с тем чрезмерный избыток разбавителя препятствует созданию непрерывной пористой полимерной структуры – в этом случае возникающий сополимер выделяется в виде высокодисперсных несвязанных друг с другом частиц. Показано, что снижение величины доли мономеров в полимеризационной смеси (P_m) до 0.1-0.2 обеспечивает образование разбавленного раствора слабозаимосвязанных первичных полимерных глобул [9-11].

Однако, пористость сетчатых сополимеров в сухом состоянии (макропористость) определяется не только типом и количеством разбавителя, но и жёсткостью образованной полимерной структуры, её способностью противостоять при удалении разбавителя силам капиллярной контракции. При низких содержаниях сшивающего агента возникает достаточно эластичная полимерная структура, которая не способна сопротивляться этим силам [12,13]. Именно поэтому для получения макропористых сополимеров, необходимо определённое содержание сшивающего агента. С повышением степени сшивки возрастает гетерогенность структуры и её устойчивость по отношению к действию сил капиллярной контракции, в результате чего сополимер приобретает способность сохранять часть пористости в сухом состоянии. Чем выше содержание сшивающего агента в сополимере, тем жёстче его структура, тем выше суммарный объём пор, сохраняемый сополимером при удалении растворителя.

Необходимо ещё раз отметить, что осадительная радикальная полимеризация (в плохом растворителе) сопровождается не только химическим превращением мономеров в полимерные макромолекулы, но и структурной эволюцией полимеризующейся смеси в широких пределах – от возникновения дисперсных надмолекулярных частиц до формирования монолитного полимерного тела. Совокупность полученных экспериментальных результатов по кинетике сополимеризации позволяет предложить следующую схему формирования гетерогенной структуры полимерных сорбентов (рис .2).

Полимеризация начинается в гомогенном растворе с образованием свободных радикалов за счёт распада инициатора. Свободные радикалы вступают в реакцию с

мономерами и инициируют рост полимерной цепи с активными радикалами на конце. В начальных стадиях растущая цепь находится в развёрнутом виде, но по мере роста и достижения критической молекулярной массы, зависящей от термодинамического качества растворителя - разбавителя, переходит в новую фазу (конденсированное состояние) и становится центром дальнейшего процесса полимеризации. При этом возможно протекание двух конкурирующих процессов – внутри и межмолекулярное сшивание конденсированных полимерных цепей [14-16]. Это в свою очередь будет зависеть как от концентрации образующихся надмолекулярных частиц в растворе, так и от природы растворителя. К тому же агрегация и сворачивание полимерных цепей приводит к ускорению химических процессов сшивания внутри надмолекулярных частиц, что в свою очередь приводит к ускорению синерезиса [6,7,17]. Это ещё более усугубляет локальную агрегацию надмолекулярных частиц и в итоге вместо равномерно распределённых в объёме сополимера сшивающих узлов, образуется сетка с густосшитыми глобулярными участками и очень рыхлыми слабосшитыми эластичными прослойками, что и определяет гетерогенность полученного сшитого полимера.

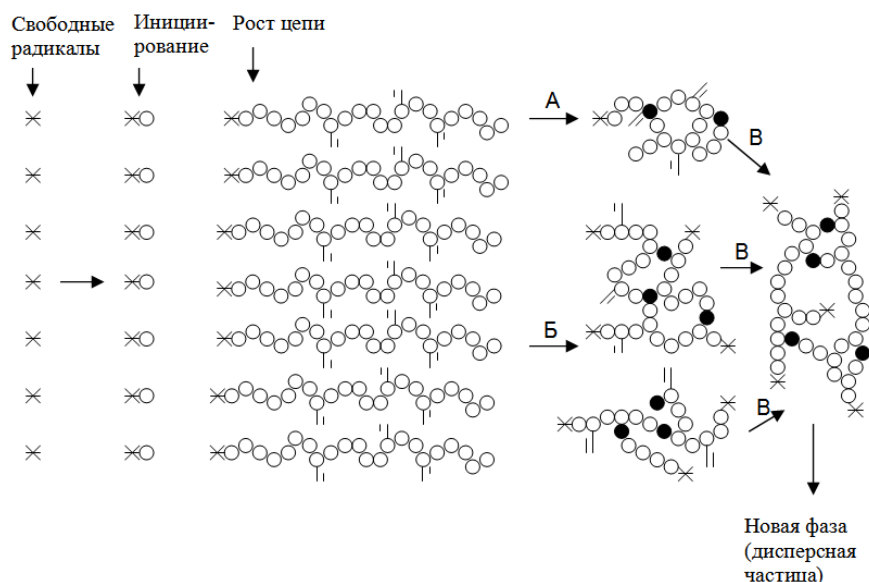


Рис.2. Схема формирования полимерной сетки в условиях осадительной трехмерной радикальной сополимеризации в растворе

2. Гелевые, гетеросетчатые, макропористые и макросетчатые сорбенты.

Гелевая структура сополимеров возникает при полимеризации с использованием взаиморастворимых мономеров, каждый из которых является хорошим растворителем для образующегося сополимера. При дегидратации гелевые сорбенты образуют непроницаемые даже для газов блочные структуры. В настоящее время для препаративной хроматографии БАВ сорбенты с гелевой структурой полимерной матрицы используются только при соответствующей модификации поверхности (см. раздел по пелликулярным сорбентам), ввиду невысокой проницаемости этих структур для крупных молекул и необратимости сорбции. Вместе с тем, одной из выгодных технологических особенностей гелевых сорбентов является возможность получения материалов в виде гранул правильной сферической формы при проведении суспензионной сополимеризации в среде, в которой не растворимы мономеры [18].

Реальную структуру сорбентов отражает возникновение неоднородностей в полимерной сетке (гетерогенная структура). Как уже отмечалось, этот тип пористости возникает при синтезе сетчатых полиэлектролитов с использованием инертных разбавителей в процессе сополимеризации. Сорбенты такого типа содержат уплотнённые и разреженные участки полимерной сетки и носят название гетеросетчатых [19,20]. Гетерогенная пористость присуща матрицам, формирующимся в условиях достаточно высокой сольватации образующихся полимерных цепей.

Показано, что диссоциация ионогенных групп гетеросетчатых сорбентов в основном определяется локальной плотностью зарядов матрицы. В гетеросетчатом полиэлектролите имеются области с большим количеством поперечных связей и области, в которых их настолько мало, что свойства данного сетчатого полимера подобны свойствам линейного аналога. В предельной ситуации (вне зависимости от степени дисперсности) полиэлектролитная сетка может содержать участки, сравнимые с единичными полимерными цепями, свойства которых, например содержание и структура воды, энергетические характеристики обменных групп и т.д., могут существенно отличаться от свойств всего ионита. Тогда собственно структуру гетеросетчатого сорбента можно трактовать как двухфазную структурно-сегрегированную систему, в которой сосуществуют подвижные и неподвижные участки, причем их соотношение можно варьировать, изменяя количество сшивающего агента и термодинамическое качество растворителя в полимеризационной смеси[21].

Набухание гетеросетчатых сорбентов определяется совокупностью двух факторов: 1) протяженностью участков цепей между поперечными мостиками в разряженных областях; 2) пространством, возникающим в результате плотной упаковки сшитых микрогелевых частиц в сетчатую структуру. Вклад в набухание этих двух факторов зависит от условий проведения сополимеризации. Длина участков цепей между сшивками уменьшается с увеличением содержания поливинильного соединения и концентрации основного мономера. Влияние второго фактора определяется началом микрорасслоения полимеризующейся системы и в конечном итоге – характером структурирования микрогелевых частиц[22,23].

Для ряда гетеросетчатых ионообменных сорбентов (как катионитов, так и анионитов) обнаружено аномальное увеличение коэффициента набухания сорбентов с ростом количества сшивающего агента [22 -26].

Исходя из данных о набухании и изменении химических сдвигов протонов воды и из того факта, что применение сольватирующих или разрушающих гидрофобные взаимодействия растворителей приводило к образованию сшитых ионитов, характеризующихся традиционной зависимостью влагоемкости от содержания сшивающего агента, было показано, что аномальное увеличение влагоемкости сополимеров с ростом количества сшивающего агента связано с увеличением числа межмолекулярных контактов в микрогелях полимерной сетки, в результате которых микрогели «поджимаются» за счет гидрофобных взаимодействий («вторичная» пористость) [22]. Суммарная пористость сетчатой системы увеличивается. В значительной мере это проявляется в условиях синтеза, способствующих увеличению вероятности изоляции двойных связей сшивающего агента. Термин вторичная пористость введен для того, чтобы подчеркнуть тот факт, что этот тип пористости образуется не за счет ковалентного сшивания полимерной сетки, а вследствие физических (в данном случае гидрофобных) сил взаимодействия внутри микрогелевых образований полимерного сорбента и может быть разрушен

при изменении физико-химических условий сополимеризации и свойств внешней среды.

Если образующийся сополимер не набухает в применяемом разбавителе, то при достаточно высоком содержании кросс-агента образуется жесткая пористая структура, сохраняющая пористость в сухом состоянии (так называемые макропористые сорбенты). Для макропористых сорбентов характерна предельная неоднородность и высокая кинетическая проницаемость для БАВ по транспортным каналам полимерной сетчатой структуры.

Макропористые сорбенты достаточно легко получают в виде сферических частиц. Следует отметить, что основные мономеры для синтеза широкого круга сорбентов – это стирол и дивинилбензол. Данные гидрофобные мономеры легко суспензируются, например, в водно-солевых растворах. Что касается сополимеров с гетеросетчатой структурой, получаемых на основе гидрофильных мономеров, то при их синтезе в виде сферических частиц возникают достаточно серьезные технологические проблемы. Эти трудности можно преодолеть при суспензировании не полимерной смеси, а фор-полимера с определенной вязкостью [27]. Однако, ранее было показано [28-31], что пористые гранульные сополимеры, полученные суспензионной сополимеризацией, имеют, как правило, плотный поверхностный слой – непористую оболочку, уменьшающую проницаемость сорбента по сравнению с сополимерами, полученными в массе. Поверхностная оболочка, более однородная по структуре, чем внутренние области зерна, была обнаружена в гранульных образцах сополимеров различной химической природы: (стирол-дивинилбензол, метакриловая кислота - глицидилметакрилат) .

Описанные типы полимерных сетчатых структур представляют собой макросетчатые структуры, если они получены с использованием длинноцепных сшивающих агентов, которые характеризуются значительными расстояниями между винильными группировками [32]. Гетеросетчатые, макропористые, макросетчатые сорбенты следует считать бипористыми, если для сорбируемых молекул доступны сорбционные центры как в областях уплотнения полимерной матрицы, так и на „поверхности“ пор в межглобулярном пространстве [33-35].

С использованием гетеросетчатых структурно сегрированных полимерных сорбентов разработан ряд модификаций препаративных хроматографических процессов выделения и очистки биологически активных веществ.

Резко повысить степень содержания основного вещества в конечных препаратах позволяет использование двухстадийных хроматографических систем [36,37].

Целью первой стадии является реализация режимов фронтальной хроматографии, при которых наблюдается максимальная термодинамическая селективность сорбции-десорбции целевого БАВ и родственных ему по химической структуре веществ из многокомпонентной смеси или культуральной жидкости ("квазиаффинная" стадия, но в отличие от аффинной хроматографии реализуемая с равновесными сорбционными емкостями, достигающими до 0.5-2.0 грамм БАВ на грамм сорбента). Элюат первой хроматографической колонки, содержащий уже только целевое БАВ и родственные ему компоненты, подается на вторую хроматографическую колонку, где осуществляется процесс малого термодинамического "сдвига" физико-химических параметров элюирующего раствора (рН, ионной силы, концентрации органического растворителя и т.д.). При этом примеси концентрируются в хроматографической зоне, отличной от зоны, занимаемой целевым компонентом, и в зависимости от типа используемого

хроматографического процесса элюируются либо перед, либо после хроматографического фронта целевого БАВ.

Вторая хроматографическая стадия успешно реализуется только на сетчатых биосорбентах, обладающих эффективным коэффициентом диффузии (\bar{D}) по целевому БАВ порядка 10^{-7} - 10^{-8} см²/сек [38]. Метод “малых сдвигов” использован для получения субстанций противоопухолевых антибиотиков рубомицина, доксорубицина, карминомицина, по степени чистоты удовлетворяющим Фармакопее США, XXIII.

Известно, что по сравнению с противоионами, гетерогенный массоперенос коионов характеризуется значительно большими величинами эффективных коэффициентов диффузии, так как противоионы перемещаются от одной функциональной группы к другой, преодолевая энергетический барьер взаимодействия фиксированный ион - противоион, в отличие коионов, которые перемещаются в матрице ионитов с крайне низкими энергетическими затратами. Поэтому при условии равновесного обострения границ стационарность фронтов хроматографических зон коионов будет достигаться быстрее.

Такую кинетическую ситуацию наиболее легко реализовать при взаимодействии органических анионов с слабокислотными карбоксильными катионитами. В этом случае селективная сорбция должна в основном определяться неионным взаимодействием сорбент-сорбат, а селективная десорбция - ионизацией кислотных групп сорбента и сорбата, и, соответственно, переходом сорбированного органического иона в состояние коиона. Кроме того, изучение взаимодействия органических анионов с карбоксильными катионитами полезно и в технологическом плане, так как использование полимерных анионитов в препаративной хроматографии сильно затруднено из-за сложности и длительности регенерации, незначительной устойчивости полимерной структуры к действию гидролизующих агентов, а также малых значений величин равновесных коэффициентов распределения по целевым анионам. Метод коионно-гидрофобной хроматографии применен для очистки органического аниона - антибактериального антибиотика фузидиевой кислоты [39,40].

Антибактериальный антибиотик эремомицин и главный компонент пчелиного яда - мелиттин получены в высокоочищенном состоянии методом фронтально-вытеснительной хроматографии, где образование резких фронтов хроматографических зон разделяемых компонентов достигается подбором соответствующего вытеснителя [41-44].

Ещё одним подходом к оптимизации препаративных хроматографических разделений биологически активных веществ является реализация различий в кинетике сорбции для отдельных компонентов сорбтива с использованием эффектов инверсии селективности сорбции. Для конкретных наборов равновесных и кинетических характеристик сорбтивов могут быть определены области неравновесных режимов динамики сорбции, при которых дистанция между разделяемыми компонентами значительно увеличивается при существенном сокращении времени эксперимента по сравнению с традиционным принципом максимального различия коэффициентов распределения в рамках равновесного хроматографического процесса [45-49].

2. Сверхсшитые полимеры

Новый подход к синтезу полимерных хроматографических носителей был разработан В.А. Даванковым и М.П. Цюрупой [50]. Отказавшись от проведения традиционной реакции сополимеризации мономеров, они провели сшивание цепей готового полистирола в растворе или набухшем состоянии бифункциональными

агентами. Таким образом был получен принципиально новый класс сорбентов (Стиросорбы), обладающих необычными свойствами, обусловленными нетрадиционным способом синтеза этих полимеров.

Принципиально важным является тот факт, что в данном случае трехмерная сетка полимера формируется в сольватированном состоянии, поэтому, полимерные цепи фиксируются сшивками в ненапряженных конформациях, и вероятность возникновения локальных внутренних напряжений в набухшей сетке минимальна. Такой ситуации способствует и равномерное распределение сшивок. В качестве сшивающих агентов для полистирола использовали 4,4'-бис-(хлорметил)-дифенил, *p*-ксилилендихлорид, *p,p'*-бис-(хлорметил)-1,4-дифенил - бутан, монохлордиметиловый эфир и диметилформаль. Эти соединения реагируют с полистиролом по реакции Фриделя-Крафтса в присутствии катализатора (хлористого олова)

Использованные сшивающие агенты обладали ограниченной конформационной подвижностью, причем наиболее жесткие структуры образовывались в случае использования монохлордиметилового эфира [51]. В условиях реакции весь сшивающий агент расходовался полностью, что позволяло рассчитать степень сшивки сорбента (из мольного соотношения полистирола и сшивающего агента) как долю поперечных мостиков от общего числа структурных элементов сетки - незамещенных фенильных колец и сшивок. Рассчитанная таким образом степень сшивки составляла 100%, то есть теоретически каждое фенильное кольцо полистирольной цепи было вовлечено в образование мостика.

При описании данного класса сорбентов также используют термин «макросетчатость», означающий, что в этих структурах длина сшивающих мостиков существенно превосходит размеры стандартного мостикообразователя – дивинилбензола. Макросетчатые Стиросорбы являются изопористыми структурами, что подразумевает равномерный характер распределения сшивок, который был экспериментально показан при исследовании структуры полимеров в набухшем состоянии методом гелепроникающей хроматографии.

В качестве исходного полимера может быть использован раствор линейного полистирола (первый тип структур). При этом конечный продукт представляет собой как бы единый блок геля, который разрушают затем до частиц неправильной формы.

Сферические частицы получают в том случае когда в качестве исходного полимера используют набухшие гранулы сополимера стирола с 0,3-2% дивинилбензола (второй тип структур) [52].

Показано, что пористость сополимеров резко увеличивается с ростом степени сшивки. Более пористые структуры образовывались при синтезе сополимеров в среде циклогексана. Увеличение молекулярной массы исходного полистирола приводило увеличению внутренней поверхности получаемого полимера.

Следует отметить, что у этого класса сорбентов сшивающие агенты и основные полимерные цепи имеют близкую химическую природу и могут вступать в одни и те же реакции (сульфирования, нитрования, хлорметилирования и т.д.), что позволяло получать различные катиониты и аниониты на основе сверсшитого полистирола. Макросетчатые изопористые полимеры стирола имеют контролируемое число сшивок и могут нести различные функциональные группы (сульфо-, фосфорно-, триметиламмониевые, фрагменты различных аминокислот и т.п.), так как легко вступают в полимераналогичные превращения. Помимо высокой емкости Стиросорбы выгодно отличаются высокими кинетическими характеристиками.

В настоящее время изопористые полимерные сорбенты успешно используются в биотехнологии для разработки аналитических и препаративных методов анализа, выделения, очистки и иммобилизации БАВ, а также в процессах водоподготовки [53].

Рассмотренные принципы создания полимерных сетчатых структур были распространены и на создание других типов полимерных сорбентов, которые в настоящее время используются при осуществлении препаративных хроматографических процессов с участием БАВ.

3. Монолитные сорбенты

Интересный подход к синтезу сорбентов продемонстрирован в работах [54-58]. Синтез сорбентов на основе глицидилметакрилата и диметакрилата этиленгликоля был непосредственно проведен в стеклянных колонках различного диаметра. Диаметр 16 мм. Это так называемые “molded” (монолитные) сшитые полимеры для препаративной хроматографии. Для получения ионообменных хроматографических носителей проводилась модификация эпоксидных групп диэтиламино. Очевидно, что при подобном способе синтеза получающиеся «диски» - сорбенты полностью лишены объема между частицами. Вместе с тем, в работе [59] показано, что при уменьшении межчастичного объема резко уменьшается размывание хроматографических зон и улучшается диффузионный транспорт веществ. Показано, что при низком давлении подобные сорбенты хорошо протекаемы, при этом из экспериментов по фронтальному насыщению следует относительно небольшое размывание переднего фронта хроматографических зон разделяемых БАВ (бычьего сывороточного альбумина, миоглобина и кональбумина) [60].

Основной этап создания монолитных сорбентов состоит в радикальной полимеризации мономера и сшивающего агента при помощи инициатора в присутствии по крайней мере одного, а, обычно, двух порообразующих растворителей. Наряду с относительным количеством мономера и сшивающего агента, содержание порообразующих растворителей определяют размер микроглобул сорбента и структуру пор [61]. В настоящее время созданы монолитные сорбенты на основе полистирола и дивинилбензола, а также акриловой, метакриловой кислот и глицидилметакрилата и диметакрилата этиленгликоля. В качестве порообразователя чаще всего используется диоксид углерода [62]. Кроме того поровой объём сетчатых сополимеров может контролироваться при помощи температуры полимеризации [62] или температурно-чувствительных полимеров, например, таких как поли(N-изопропилакриламид) [63]. Наиболее пористые монолитные сорбенты с размером пор ~100 нм получены в настоящее время на основе акриламида и N,N' - метиленбисакриламида [60]. В настоящее время на основе монолитных материалов разработаны новые типы аффинных сорбентов, содержащие синтетические пептиды в качестве биоспецифических лигандов [55,57], по сравнению с белками пептиды обладают большей химической стабильностью и более низкой ценой.

4. Перфузионные носители

Следует отметить, что, чем выше объём пор, тем ниже удельная поверхность сорбентов, и соответственно меньше сорбционная ёмкость. Для улучшения процессов гетерогенного массопереноса без заметного снижения сорбционной ёмкости разработаны так называемые перфузионные (гигапористые) сорбенты, в которых из-за отсутствия затруднений диффузионного транспорта веществ внутри матрицы сорбента эффективность разделительных процессов определяет

конвективная диффузия [64]. Большинство перфузионных сорбентов также являются макропористыми сетчатыми сополимерами, при этом отличительной их чертой является сочетание в пористой структуре транспортных пор очень большого размера (600 – 800 нм) с относительно малыми «диффузионными» порами (50-100 нм). Показано, что такая комбинация размеров пор облегчает «доставку» сорбируемого вещества к диффузионным порам и способствует резкому увеличению скорости гетерогенного массообмена. В отличие от полимерных сорбентов других типов эффективные коэффициенты диффузии сорбируемых БАВ в зёрна перфузионных сорбентов из-за конвективного лимитирования возрастают с увеличением скорости протекания подвижной фазы, что способствует лучшей производительности препаративных хроматографических процессов. В настоящее время разработана теория разделений веществ на перфузионных сорбентах, основанная на концепции «приращения» величин эффективных коэффициентов диффузии за счёт транспорта в гигапорах [65]. Показаны преимущества перфузионных сорбентов (главным образом, возможность осуществления препаративных процессов при высоких скоростях подвижной фазы) для выделения и очистки нестабильных белков [66,67].

Перфузионные хроматографические носители обычно получают суспензионной полимеризацией стирола и дивинилбензола (POROS R1, POROS R2, OLIGO R3 и др.) в форме сферических зёрен диаметром ~ 20 мкм. Гидрофилизация поверхности сорбентов осуществляется поливиниловым спиртом с последующей сшивкой при помощи глутарового альдегида [67].

5. Пелликулярные сорбенты

В последние годы в препаративной хроматографии используются непористые (пелликулярные) иониты, получаемые нанесением на твердые инертные, сферические частицы слоя функциональных групп [68-70]. Структура промышленно выпускаемых в США пелликулярных ионитов представляет собой стеклянные шарики диаметром от 7 до 40 мкм, которые покрыты слоем сульфированного стирол-дивинилбензолного сополимера. Очевидно, что на таких сорбентах, очень быстро устанавливается сорбционное равновесие, поскольку диффузия в тонкий поверхностный слой занимает мало времени. В результате существует возможность проведения хроматографических процессов с высокими скоростями подвижной фазы. Кроме того, пелликулярные сорбенты являются удобными моделями для изучения как термодинамики, так и кинетики взаимодействия между растворённым веществом в подвижной фазе и лигандом стационарной фазы, так как в этом случае исключена диффузия внутрь сорбента. Однако, до сих пор не удалось преодолеть трудности, связанные с незначительными сорбционными ёмкостями пелликулярных сорбентов для целевых БАВ, особенно для белков с небольшими молекулярными массами

Один из последних подходов к созданию пелликулярных сорбентов и решению проблемы сокращения «диффузионного пути» сорбируемых молекул от поверхности зерна сорбента к сорбционным центрам предложен в работе [71]. Сущность метода заключается в химически иницируемой прививке звеньев метакриловой кислоты к предварительно синтезированным плотным гранулам сополимера 2-гидроксиэтилметакрилата и этиленгликольдиметакрилата. Такие сополимеры с поверхностно-активным слоем обладают исключительно высокими кинетическими и сорбционными характеристиками по отношению к БАВ большой молекулярной массы: овальбумину, панкреатической рибонуклеазе. К недостаткам таких сорбентов можно отнести присущую реакциям прививки высокую гетерогенность, а также недостаточную воспроизводимость реакционных серий.

Перспективным способом получения пелликулярных сорбентов с регулируемой толщиной функционального слоя является методика, сущность которой заключается в избирательном гидролизе плотных сферических частиц на основе метилметакрилата и диметакрилатаэтиленгликоля. Получаемые по этой методике сорбенты могут иметь статическую обменную емкость от 0.5 до 4 мг-экв/g обладают высокими кинетическими характеристиками наряду с полной воспроизводимостью реакционных серий [72].

6. Композитные материалы

К числу бипористых полимерных сорбентов можно отнести и композитные материалы, т.е материалы, которые сочетают свойства двух и более компонентов. Например, так называемые целлосорбенты, получают путем иммобилизации в гранулы целлюлозы микродисперсных форм полиэлектролитов. Целлосорбенты представляют собой зёрна высокопроницаемых пористых инертных материалов (вискоза, ацетат целлюлозы) с иммобилизованными внутри них микрочастицами ионита [73,74]. Эти сорбенты характеризуются достаточно высокой проницаемостью, так как в материалах подобного типа пространство, не занятое частицами ионита и связующим материалом, образует систему транспортных пор, заполненных растворителем, по которым более или менее свободно диффундируют ионы практически любого размера. Трехмерная структура создает диффузионное сопротивление только в микрогранулах ионита, однако, это сопротивление мало из-за небольшого размера микрогранул (1-100мкм). Вместе с тем, применение этих сорбентов ограничено, так как они непригодны для работы с БАВ с молекулярной массой больше 20000.

7. Сорбенты, настроенные на целевую молекулу

В отечественной литературе описаны полимерные сорбенты на основе сополимера диэтилового эфира винилсульфоновой кислоты и акриловой кислоты с настроенным на сорбцию меди расположением макромолекул [75,76]. В этих работах было осуществлено взаимодействие линейного полимера и сорбируемых ионов в растворе, когда звенья макромолекул имели достаточную подвижность с последующей фиксацией оптимальных для сорбции конформаций путем сшивания комплекса полимера с металлом и удаления целевых ионов из сшитой системы.

Биологически активные молекулы, попадая внутрь полимерного сорбента, могут легко изменить конформацию и тем самым потерять биологическую активность. Именно поэтому в настоящее время во всем мире широкое распространение получил метод синтеза сорбентов, “настроенных” на целевой объект [77-83]. Связующие центры в таких сорбентах формируются путем особых условий синтеза, главной особенностью которого является присутствие “шаблона” (целевое вещество). Метод включает в себя образование как ковалентно, так и нековалентно связанного комплекса шаблон-мономер с последующей полимеризацией его в присутствии достаточно большого количества кроссагента. На следующей стадии комплекс шаблон-мономер разрушается обработкой сетки соответствующим реагентом, шаблон удаляется из сетки, а образовавшиеся в ней пустоты будут соответствовать размерам и конфигурации целевой молекулы (рис.3.).

Такая технология достаточно проста, эффективна и приводит к получению сорбентов, химически устойчивых, механически прочных, выдерживающих повышенные температуры.

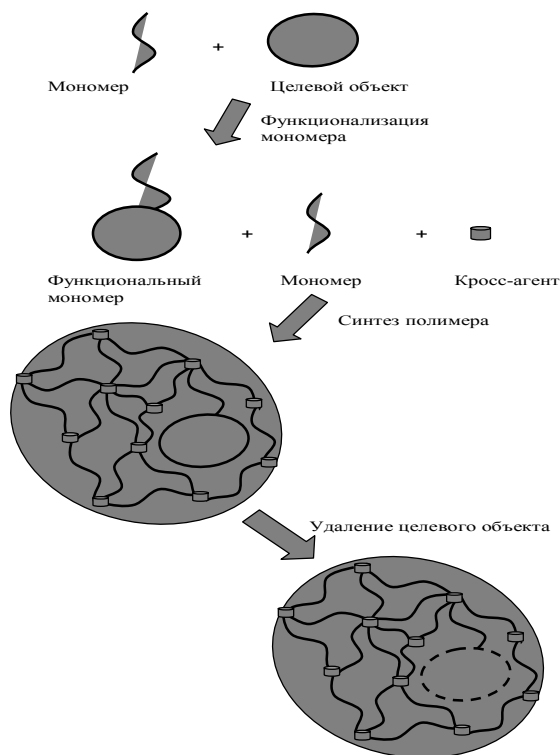


Рис.3. Схематическое представление получения настроенных сорбентов

Так, в частности, были синтезированы аналоги высокопроницаемых гетеросетчатых биосорбентов на основе метакриловой кислоты и диметакрилата этиленгликоля, настроенные на молекулу антибиотика класса макролидов – эритромицина А. Исследование сорбции эритромицина на настроенных полимерах продемонстрировало, что этот вид сорбентов позволяет существенно улучшить равновесные и кинетические характеристики сорбции, а также повысить сорбционную емкость и достичь полной элюции антибиотика в динамических условиях [84].

Заключение

В настоящее время разработаны методы синтеза различных модификаций полимерных сорбентов для препаративной хроматографии БАВ. С использованием этих материалов и современных представлений о равновесии, кинетики и динамики сорбции могут быть решены многие задачи препаративного и промышленного получения целевых компонентов из продуктов микробиологического и химического синтеза, а также из растительного и животного сырья.

Работа проведена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (код проекта 07-03-00786).

Список литературы

1. Boshetti E. Advanced sorbents for preparative protein separation purposes. // *J. of Chromatogr.* 1994. V.658A. № 2. P.207-236.
2. Unger K.K. Packing and Stationary Phases In *Chromatographic Techniques*. 1990. New York. 252P.
3. Ежова. Н.М., Тощевикова А.Ю., Писарев. О.А. Структура и свойства полифункциональных сорбентов для ионно-гидрофобной хроматографии биологически активных веществ.// *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2001.Т 1. № 5. С.833-837.
4. Millar J.R., Smith D.G., Marr W.E., Kressman T.R. Solvent-modified polymer networks. // *J.Chem.Soc.*1963.V.32.№1.P.21-225.
5. Kun K.A., Kunin R. The pore structure of macroroteticular ion- exchange resins.//*J/Polym/Sci.* 1967.V.43. №16. P.1457-1469.
6. Душек К. Структура и упругие свойства полимерных сеток. // *Российский химический журнал*.1986.Т.31.№1.С.23-28.
7. Dusek K., Shoeltens B., Tiemersma – Thoo C. Theoretical treatment of network formation by multistage process.// *Pol. Bull.* 1987. V.17. № 3. P. 397-414.
8. Пельцбауер З. Морфология полимеров, получаемых при осадительной полимеризации и сополимеризации. // В кн. *Физико-химические свойства и синтез высокомолекулярных соединений*. Киев.1976. с.76-84.
9. Тагер А.А., Малько Е.И., Думпис Ю.Я и др. Влияние количества растворителя, присутствующего при синтезе и его термодинамического качества на пористую структуру сетчатого катионита. // *Высокомолек. соед. А*. 1985. Т.27. №11. С.2362-2370.
10. Малько Е.И., Тагер А.А., Воробьев В.П. и др. Влияние содержания сшивающего агента на пористую структуру и свойства карбоксильного катионита. // *Высокомолек. соед. А*. 1985. Т.27. №11. С.2362-2370.
11. Самсонов Г.В., Муравьева Т.Д., Писарев О.А. Влияние неоднородности структурно сегрегированного полиэлектролита, включающего метакриловую кислоту и диметакрилат этиленгликоля, на сорбцию органических ионов. // *Ж. прикл. хим.* 1991. Т.64. №3. С.692-694.
12. Sederel W.L., De Yong Styrene-divinylbenzene copolymers. Construction of porosity in styrene-divinylbenzene matrices. // *J. App. Pol. Sc.* 1986. V.32. №6. P. 35-48.
13. Писарев О.А., Самсонов Г.В., Бернотайтите М.В. и др. Полная обратимость сорбции биологически активных веществ сильноштитыми гелевыми карбоксильными катионитами. // *Прикл. биохим. микробиол.* 1996. Т.32. №3. С.281-287.
14. Rosenberg J.E., Flodin P. Copolymerisation of trimethylpropane trimethylacrylate. // *Macromolecules*. 1987. V20. №7. P.1518-1524.
15. Берлин А.А. Формирование и свойства сетчатых полимеров на основе полиреакционноспособных олигомеров. // *Высокомолек. соед. А*. 1978. Т.20. № 3. С.483-493.
16. Сальников В.А., Больбит Н.М. Два типа гелей при полимеризации бифункциональных мономеров. // *Высокомолек. соед. А*. 1988. Т.30. № 12. С.2551-2555.
17. Иржак В.И., Розенберг Б.А., Ениколопан Н.С. Сетчатые полимеры (синтез, структура, свойства). Москва. Наука. 1979. 248с.

18. Тростянская Е.Б., Лосев И.П., Тевлина А.С. Синтез полимерных электролитов и их применение // Успехи химии. 1958. Т.27. №9. С.1104-1100.
19. Кузнецова Н.Н., Рожецкая К.М., Москвичев Б.В. и др. Карбоксильные сетчатые полиэлектролиты как сорбенты для выделения биологически активных веществ. // Высокомолек. соед. А. 1976. Т.18. № 2. С.355-360.
20. Шатаева Л.К., Кузнецова Н.Н., Елькин Г.Э. Карбоксильные катиониты в биологии. Л.: Наука, 1979. 286с.
21. Писарев О.А., Муравьева Т.Д., Самсонов Г.В. Энергетическая неравноценность карбоксильных групп сшитых гетерогенных полиэлектролитов. // Высокомолек. соед. Б. 1986. Т.28. №4. С.16-20.
22. Писарев О.А., Добродумов А.В., Кольцов А.И. и др. Вторичная пористость и состояние воды в гетеросетчатых карбоксильных полиэлектролитах. // Высокомолек. соед. Б. 1987. Т.29. №1. С.4-8.
23. Самсонов Г.В., Писарев О.А., Муравьева Т.Д. Химическая стабильность и набухание гетеросетчатых полимеров на основе акриловой и метакриловой кислот и диметакрилата этиленгликоля. // Высокомолек. соед. 1992. Б. Т.33. №3. С. 59-62.
24. Рожецкая К.М., Калинина Н.А., Папукова К.П., Химические и структурные превращения при радикальной сополимеризации метакриловой кислоты и N, N-этилендиметакриламида в растворе на начальной стадии формирования сетчатых структур. // Высокомолек. соед. А. 1989. Т.51. №12. С.2532-2536\
25. Мишаева Р.Н., Ежова Н.М., Папукова К.П. Электрохимические и сорбционные свойства сетчатых сополимеров диметиламиноэтилметакриламида и этилендиметакриламида. // Ж. прикл. химии. 1994. Т.67. №4. С.613-617.
26. Вольский В.С., Ежова Н.М., Самсонов Г.В. Влияние сшивающего агента на сорбционную емкость и селективность гетеросетчатых катионитов. // Ж. прикл. химии. 1985. Т.58. №11. С.2133-2136.
27. Ежова Н.М., Чернова И.А., Погодина Т.Е. и др. Влияние природы сомономера на структуру сетчатых биосорбентов, включающих непредельные ароматические кислоты. // Сб. Ионный обмен и хроматография. Наука. 1984. С.38-40.
28. Чернова И.А., Погодина Т.Е., Шатаева Л.К. и др. Электронная микроскопия гетеропористых биосорбентов. // Высокомолек. соед. А. 1980. Т.22. №11. С.2403-2409.
29. Влодавец И.Н., Петри Д.Н., Русанов А.И. Термодинамические условия формирования глобулярно-ретикулярных и целлюлярных конденсационных структур. // Коллоидн. Ж.. 1991. Т.53. №2. С.211 – 215.
30. Королев Г.В., Могилевич М.М., Голиков И.В. Сетчатые полиакрилаты. Москва. Химия. 1995. 275с.
31. Радзевичюс К.И., Шатаева Л.К., Крылова В.В. и др. Влияние количества сшивающего агента на морфологию сополимеров акриловой кислоты и дивинилбензола. // Высокомолек. соед. Б. 1983. Т.25. №6. С.419-425.
32. Калюжная Л.М., Папукова К.П., Надежин Ю.С. и др. Сетчатые сополимеры стирола и бис-(n-винилфенил)алканов. // Высокомолек. соед. Б. 1977. Т.19, с.617-620.
33. Тошевилов В.П., Тошевилова А.Ю., Писарев О.А. Метод оценки характерных времен диффузии из данных по кинетике сорбции органического иона бипористым гетерогенным сорбентом. // Журн. физ. химии. 2006. Т.80. №2. С.303-30.
34. Toshchevichov V.P., Toshchevichova A.Y., Pisarev O.A. Experimental and Theoretical Studies of Sorption Kinetics of the Anthracycline Antitumor Antibiotic Rubomycin on the Carboxylic Heterogeneous Sorbent. Bidisperse Model of Sorption Kinetics. // J. of Chromatogr. 2006. V.1123. № 1. P.121 -129.

35. Sun G.U., Shi Q.-H., Sun Y. Novel biporous polymeric stationary phase for high-speed protein chromatography// *J. Chromatogr. A* .2004. V. 1061, №1, p. 159-165.
36. Самсонов Г.В., Писарев О.А. Новые принципы препаративной ионообменной хроматографии и их применение для выделения, очистки и суперочистки антибиотиков. // *Прикл. биохимия и микробиол.* 1992. Т.28. №1. С.5-17.
37. Самсонов Г.В., Писарев О.А. Новый подход к препаративной хроматографии низкого давления и суперочистка антибиотиков антрациклиновой группы. // *Доклады АН СССР.* 1991. Т.319. № 12. С.408-412.
38. Писарев О.А., Самсонов Г.В., Лукьянова О.Н. Взаимодействие структурно сегрегированных карбоксильных катионитов с противоопухолевым антибиотиком даунорубицином. // *Ж. прикл. хим.* 1991. Т.64. № 6. С.1239-1246.
39. Писарев О.А., Ежова Н.М., Веселова А.В. Сорбция фузидиевой кислоты полифункциональными карбоксильными сорбентами. // *Ж. физ. хим.* 1998. Т.72. №10. С.1909-1911.
40. Писарев О.А., Самсонов Г.В., Сучкова Г.С. и др. Коионно-гидрофобное взаимодействие фузидиевой кислоты с карбоксильными биосорбентами. // *Прикл. биохим. микробиол.* 1998. Т.34. №3. С.242-244.
41. Ежова Н.М., Юнышева С.Г., Писарев О.А. Взаимодействие человеческого сывороточного альбумина с полифункциональными карбоксильными сорбентами. // *Ж. прикл. хим.* 1998. Т.71. №6. С. 991-995.
42. Писарев О.А., Юнышева С.Г., Самсонов Г.В. Фронтально-вытеснительная хроматография мелиттина на сетчатых полимерных ионитах. // *Прикл. биохим. микробиол.* 1998. Т.34. №5. С.480-484.
43. Писарев О.А., Глазова Н.В. Применение новых методов препаративной хроматографии низкого давления для повышения качества лекарственных препаратов. // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2001. Т 1. № 2. С. 415-423-424.
44. Писарев О.А., Кручина-Богданов И.В. Кинетически селективное разделение веществ - новое развитие хроматографического метода. // *ДАН.* 1998. Т.362. №1. С.365-367.
45. Писарев О.А., Кручина-Богданов И.В., Глазова Н.В., Быченкова О.В. Кинетическое регулирование селективности сорбции в жидкостной хроматографии низкого давления. // *ДАН.* 1998. Т.362. №3. С.362-365.
46. Pisarev O. A., Glasova N. V. Choice of Procedures for Preparative Chromatography. // *J. of Chromatogr. A.* 2003. V.1018. № 2. P. 127-136.
47. Polyakova I. V., Kolikov V. M., Pisarev O.A. Mass Transfer Effects in Preparative Chromatography of Antibacterial Antibiotic Eremomicin on Polymeric Sorbents. // *J. of Chromatogr. A.* 2003. V.1006. № 1-2. P.251-260.
48. Toshchevikova A.Y., Pisarev O.A. Optimisation of the Experimental Conditions in Preparative Displacement Chromatography of Antitumors Antracycline Antibiotics on Carboxylic Sorbents. // *J. of Chromatogr. A.* 2003. V. 1006. № 1-2. P. 121-126.
49. Polyakova I. V., Pisarev O. A. The Influence of the Polyfunctional Interactions between Organic Zwitter-ion Eremomycin and Carboxylic Cationits on Forming Concentration Front. // *J. of Chromatogr.* 2005. V.1092. № 1. P.135-141.
50. Даванков В.А., Рогожин С.В., Цюрупа М.П. Новый подход к созданию равномерно сшитых макросетчатых полистирольных структур // *Высокомолек. Соед. Б* 1973. №6. С.463- 466.
51. Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Structure and properties of porous hypercrosslinked polystyrene sorbents Styrosorb. // *Pure and Appl. Chem.* 1989. V.61. P.1881-1888.

52. Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Structure and properties of hypercrosslinked polystyrene the 1st representative of a new class of polymer networks. // *Reactive Polymers*. 1990. N.1. V.13. P.27- 42.
53. Davankov V.A., Tsyurupa M.P. Hypercrosslinked polymers basic principle of preparing the new class of polymeric materials. // *Reactive Polymers*. 2002. V.53. N.1. P.193-203.
54. Tennikova T.B., Svec F. High – performance membrane chromatography: highly efficient separation method for protein in ion-exchange.// *J. Chromatogr. A*.1993. V. 646 № 2. P.279-288.
55. Tennikova T.B., Bleha M., Svec F. et al. High – performance membrane chromatography of proteins: a novel method of protein separation. // *J. Chromatogr A*. 1991. V.555. № 1. P.97-107.
56. Svec F., Frechet J.M. “Molded” rods of macroporous polymer for preparative separations of biological products. // *Biotechn.Bioeng*. 1995. V.48. № 5. C.476-480.
57. Vlach E., Ostryanina N.D., Jangbauer A. et al. Use of monolithic sorbents modified by directly synthesized peptides for affinity separation of recombinant tissue plasminogen activator (t-PA). // *J.Biotechnology*. 2004. V.107. № 2. P.275-284.
58. Wang Q.C. Svec F., Frechet J. M. Macroporous polymeric stationary phase rod as continuous medium for reversed- phase chromatography. // *Anal. Chem*. 1993. V.65. № 11. P.2243-2248.
59. Meyers I.L., Liapis A.I. Network modeling of the convective flow and diffusion of molecules adsorbing in monoliths and in porous particles packed in a chromatographic column.// *J. Chromatogr. A*. 1999. V.852. №1. C.3-12.
60. Ghose S., Cramer S. M. Characterization and modeling of monolithic stationary phases: application to preparative chromatography.// *Journal of Chromatogr. A*. 2001. V.928. № 1. P.13-23
61. Gritti F., Piatkowski W., Guiochon G. Study of the mass transfer kinetics in a monolithic column.// *Journal of Chromatogr. A* 2003.. V.983. № 1. P.51-71.
62. Sun Y., Qiu Z., Hong Y. Application of nonionic temperature sensitive hydrogel for concentration of protein aqueous solution. // *Chin. J. Pol. Sci*. 1992.V.10. № 3.P.311-318.
63. Wu X.S., Hoffman A.S., Yager P. Synthesis and characterization of thermally reversible macroporous poly (N – isopropylacrylamide) hydrogels.//*J. Pol. Sci*. 1992. V.30.№ 1.P.2121-2129.
64. Liapis A.I. Affinity adsorption separation in high - performance liquid chromatography and perfusion chromatography systems. The effect of pore- size distribution and fractal pores on column performance. // *Math. Modeling. Sci. Comput*. 1993. V.1. P.397-414.
65. Rodrigues A. Permeable packing and perfusion chromatography in protein separation. // *Journ. of Chromatogr. B*.1997. V.699. № 2. P.47-61.
66. Whitney L., McCoy M., Gordon N et al. Characterization of large pore polymeric supports for use in perfusion biochromatography// *J.Chromatogr. A*. 2000. V.807. №2. C.165-174
67. Carcia M.C., Marina M.C., Torre M. Perfusion chromatography: an emergent technique for the isolation of food proteins. // *J.Chromatogr. A*. 2000. V.880. №2. C.169-187.
68. Buchmeister M.R. New synthetic ways for the preparation of high performance liquid Chromatography.// *J. of Chromatogr. A*. 2001. V.918. № 2. P.233-266.
69. Leonard M. New packing materials for protein chromatography. // *J. of Chromatogr*. 1997.B. V.699. № 1. P.3-27.

70. Adachi T., Isobe E. Fundamental characteristics of synthetic adsorbents intended for industrial chromatographic separation. // *J. Chromatogr. A.* 2004. V.1036. №1. С.33-44.
71. Ежова Н.М., Меленевский А.Т. Синтез и свойства полимерных сорбентов с поверхностным расположением ионогенных групп. // *Ж.прикл. химии.*1994. Т.67. №11. С.1850-1854.
72. 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.
73. Samsonov G.V., Pisarev O.A., Melenevsky A.T. Chromatographic purification and superpurification of biologically active compounds using heterorectular and composite ion exchange resins at low pressure.// *Pure and Appl. Chem.*1993.V.65.№ 10.P.2287-2290.
74. Меленевский А.Т., Демин А.А., Тищенко Г.А. и др. Кинетика сорбции физиологически активных веществ на полимерных композиционных сорбентах типа Целлосорб.// *Ж.физ. химии.*1988. Т.62. №8. С.2139-2144.
75. Кабанов В.А., Эфендиев А.А., Оруджев Д.Д. Получение комплексобразующего полимерного сорбента с «настроенным» на сорбируемый ион расположением макромолекул. // *Высокомолек. соед. Б.* 1977. Т.19. №2. С.91-92.
76. Кабанов В.А., Эфендиев А.А., Оруджев Д.Д. Комплексобразующие полимерные сорбенты настроенные на сорбируемый ион. // *Высокомолек. соед. А.* 1979. Т.21. №3. С.589-594.
77. Y. Chen, M. Kele, I. Quinones et al. Influence of the pH on the behavior of an imprinted polymeric stationary phase – supporting evidence for a binding site model. // *J. Chromatogr. A.* 2001.V.927. №1. P.1 – 17.
78. T. Papa, G. Horvai, Characterization of the selectivity of a phenytoin imprinted polymer. // *J. Chromatogr. A.* 2004.V.1034. №1. P.99-107.
79. M.-J. Syu, J.-H. Deng., Y.-M. Nian/ Towards bilirubin imprinted poly(methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethylacrylate) for the specific binding of α -bilirubin. // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 504 . №3. P.167 – 177.
80. D.A. Spivak. Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers. // *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2005. V. 57 . №10. P.1779 – 1794.
81. C. O. Brügemann, K. Haupt, Lei Ye et al. New configurations and applications of molecularly imprinted polymers. // *J. Chromatogr. A.* 2000.V.889. №1. P.15 –24.
82. J.L. Urraca, M.D. Marazuela, E.R. Merino et al. Molecularly imprinted polymers with a streamlined mimic for zearaleone analysis. // *J. Chromatogr. A.* 2006.V.1117. №1. P.74-80.
83. M.-J. Syu, Y.-M. Nian, Y.-Sh. Chan et al. Ionic effect on the binding of bilirubin to the imprinted poly(methacrylic acid-ethylene glycol dimethacrylate). // *J. Chromatogr. A.* 2006.V.1122. №1. P.1 – 17.
84. Писарев О.А., Ежова Н.М., Гаркушина И.С. Взаимодействие эритромицина с полимерными сорбентами, настроенными на молекулу антибиотика. // *Журнал физ. Химии.* 2008. Т.82.№5.С.632-637.

Modern approaches to designing of polymeric sorbents structure for preparative chromatography of biologically active substances

Pisarev O.A., Ezhova N.M.

*Institute of Macromolecular Compounds of Russian Academy of Sciences, S.-
Petersburg*

The review is devoted to consideration of the newest tendencies in design of synthetic polymeric network sorbents with precisely outlined orientation of application -

preparative chromatography of biologically active substances (BAS). Such choice is caused all by increasing need in the chromatographic carriers possessing as much as possible high selectivity of sorption of target BAS.

In a basis of classification of sorbents functional properties which are set by conditions of synthesis are incorporated: the structural organization, equilibrium and kinetic permeability, an internal interface, distribution of pores, etc. Theoretical representations about influence of conditions of synthesis on formation of structure of polymeric sorbents for preparative to chromatography BAS.

Ключевые слова: сорбенты, биологически активные вещество, хроматография