



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46941 (13) U  
(51) МПК (2009)  
B01D 71/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ АЦЕТАТЦЕЛЮЛОЗНИХ МЕМБРАН ДЛЯ ГЕМОДІАЛІЗУ

1

2

(21) u200907698

(22) 21.07.2009

(24) 11.01.2010

(46) 11.01.2010, Бюл.№ 1, 2010 р.

(72) КОНОВАЛОВА ВІКТОРІЯ ВАЛЕРІЇВНА, ВАКУЛЮК ПОЛІНА ВАСИЛІВНА, БУРБАН АНАТОЛІЙ ФЛАВІАНОВИЧ, ЧИКЕТА ОЛЬГА ОРЕСТІВНА, ПОБИГАЙ ГАННА АНДРІЇВНА, ТЬОРТИХ ВАЛЕНТИН АНАТОЛІЙОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ "КИЇВО-МОГИЛЯНСЬКА АКАДЕМІЯ"

(57) Спосіб отримання ацетатцелюлозних мембран для гемодіалізу з формувальної суміші з розчину ацетатцелюлози методом інверсії фаз, який

наносять тонким шаром на скло за допомогою формувального ножа, витримують на повітрі для часткового випаровування розчинника з поверхні полімерної плівки, занурюють скляну пластину із нанесеною полімерною плівкою у коагуляційну ванну до утворення мембрани, який **відрізняється** тим, що як розчинник для ацетату целюлози беруть диметилсульфоксид - 15:85 та у формувальну суміш додатково додають наночастинки модифікованого полівінілпіролідом аеросилу 1-4 мас. % від маси полімеру, отримані зразки ацетатцелюлозних мембран витримують в суміші водних розчинів 0,05 М йоду I<sub>2</sub> і 0,2 М йодиду калію KI у співвідношенні 1:1 протягом 1 год.

Корисна модель відноситься до напівпроникних ацетатцелюлозних мембран для процесів розділення, що відрізняються присутністю специфічних груп і призначена для використання в гемодіалізі.

Напівпроникна діалізна мембрана є головним елементом апарату штучної нирки, що використовується для гемодіалізу. До гемодіалітичних мембран висувають наступні вимоги [1]. По-перше, вони мають забезпечувати високий кліренс та високу проникність щодо низькомолекулярних речовин (сечовина, креатинін), це дозволяє зменшити тривалість сеансу гемодіалізу і підвищити якість очистки. По-друге, мембрана має мати низьку сорбцію до білків плазми крові. Ця характеристика є дуже важливою, оскільки сорбція багатьох білків крові на полімерних мембранах, що застосовуються для гемодіалізу, часто сприяє тромбоутворенню. Це вимушує застосовувати, як обов'язкову процедуру гемодіалізу введення пацієнту досить великих доз гепарину і варфарину, який часто необхідно нейтралізувати введенням інших препаратів, що з одного боку підвищує вартість процедури гемодіалізу, а з іншого підвищує ризик ускладнень. До того ж, важливими вимогами до гемодіалітичних мембран є їх вартість і здатність до стерилізації, оскільки необхідна частина заміна мембрани.

Ацетатцелюлозні мембрани широко використовуються для гемодіалізу [2-4]. Найближчим аналогом запропонованої корисної моделі є спосіб отримання ацетатцелюлозних мембран для гемодіалізу [5]. Він полягає в тому, що мембрани отримують із розчину дیاцетату та триацетату целюлози методом інверсії фаз. Як розчинник використовують N-метилпіролідон та як пороутворювач етиленгліколь. З одержаного розчину полімеру за допомогою калібрувального формують полімерну плівку та занурюють її в коагуляційну ванну. Як осаджувач використовують водний розчин N-метилпіролідону та три етиленгліколю з температурою 35 °С.

Перевагами ацетатцелюлозних мембран, отриманих за найближчим аналогом, є їх висока термічна стійкість та можливість термічної стерилізації, а також порівняно низька вартість целюлози як природного відновлюваного ресурсу.

Недоліком таких мембран є їх низька проникність щодо НМ речовин, значна сорбція до білків плазми крові та відсутність антибактеріальної активності.

Задачею корисної моделі є отримання методом інверсії фаз нанокомпозиційних ацетатцелюлозних мембран, що містять наночастинки аеросилу, модифікованого полівінілпіролідом лі доном та комплексом полівінілпіролідону-йод та будуть характеризуватись високим кліренсом, низькою сор-

UA (19) 46941 (13) U

біцією білку та антибактеріальними властивостями, що усуне необхідність їх термічної стерилізації.

Поставлена задача реалізується тим, що за способом отримання ацетатцелюлозних мембран для процесів розділення мембрани отримують методом інверсії фаз; згідно із запропонованою корисною моделлю, як розчинник для ацетату целюлози використовують диметилсульфоксид та у формувальну суміш додатково додають наночастинки аеросилу модифікованого полівінілпіролідону та комплексом полівінілпіролідон - йод.

Відмінними ознаками запропонованого способу є зміна розчинника у формувальній суміші і введення до її складу модифікованих полівінілпіролідонем наночастинок аеросилу, що відрізняються присутністю специфічних груп, які у сукупності забезпечують досягнення вказаного технічного результату: отримання напівпроникних ацетатцелюлозних мембран з високою водопроникністю, проникністю щодо НМ речовин, низькою сорбцією білку та антибактеріальними властивостями, що усуне необхідність стерилізації та дає можливість зменшення введення пацієнту досить великих доз гепарину, що в сукупності зменшує вартість процедури гемодіалізу.

Запропонований спосіб реалізується наступним чином. Формувальну суміш готують у такій послідовності: ацетат целюлози (суміш ди- та триацетату целюлози виробництва "Владіпор", Росія) розчиняють в диметилсульфоксиді (ДМСО) з наступною дегазацією до утворення 15 % (мас.) розчину. До отриманого розчину полімеру додають наночастинки модифікованого полівінілпіролідону аеросилу в кількості від 1 до 4 % (мас.) від маси полімеру. Одержані композитні розчини полімеру перемішують до досягнення однорідності за допомогою ультразвуку впродовж 0,5-1 год. Отриману таким чином формувальну суміш наносять тонким шаром на скло за допомогою формувального ножа (товщина шару  $200 \pm 5$  мкм), витримують на повітрі 5 хв для часткового випаровування розчинника з поверхні полімерного розчину, занурюють скляну пластину з нанесеним полімером у коагуляційну ванну з дистильованою водою ( $7 \pm 1$  °C), де нерозчинний у воді ацетат целюлози осаджують до утворення мембрани.

Модифікування наночастинок аеросилу марки А-300 (розмір частинок 9-40 нм) проводили шляхом адсорбції полі-N-вініл-2-піролідону (ПВП) з молекулярною масою 40 кДа (виробництва Sigma-Aldrich, Німеччина) з його водних розчинів концентрацією від 0,01 до 1 % мас. Після модифікування наночастинок аеросилу відділяли від модифікуючого розчину за допомогою ультрафільтрації на промисловій мембрані МФК-3 та висушували на повітрі протягом 24 год. при температурі  $28 \pm 2$  °C.

Для надання мембранам бактерицидних властивостей отримані зразки ацетатцелюлозних мембран з введеними модифікованими ПВП наночастинок аеросилу витримували в суміші водних розчинів 0,05M йоду  $I_2$  і 0,2 M йодиду калію KI у співвідношенні 1:1 протягом 1 год. Температуру розчину доводили до 40 °C і підтримували в межах 40-45 °C впродовж 1 год. Процес утворення комплексу ПВП-йод припиняли промиванням зразків

мембран у дистильованій воді. Для максимального видалення нез'язаного йоду зразки мембран промивали не менше 48-72 год.

Для вивчення розділювальних характеристик мембран (коефіцієнту водопроникності та селективності) використовували стандартну циліндричну комірку непроточного типу Amicon 8050 (виробництво Millipore, США).

Селективність нанокомпозиційних ацетатцелюлозних мембран з модифікованим аеросилом визначали пропусканням 0,3 % мас. водного розчину сироваткового альбуміну людини (САЛ) через зразки мембран з площею робочої поверхні  $13,4 \cdot 10^{-4}$  м<sup>2</sup>.

Концентрацію альбуміну визначали спектрофотометрично на СФ-46 при довжині хвилі 280 нм.

Кількість САЛ, адсорбованого на мембрані визначали за різницею концентрацій розчину до та після адсорбції. Як контроль використовували зразки сформованих ацетатцелюлозних мембран без аеросилу та з немодифікованим аеросилом.

Для визначення коефіцієнту проникності низькомолекулярних (НМ) сполук (сечовина, креатинін, вітамін В12) крізь отримані нанокомпозиційні мембрани використовували дифузійну комірку, що складається з двох камер, об'ємом 200 см<sup>3</sup> кожна, вертикально розділених досліджуваною мембраною, ефективна площа якої становить 25 см<sup>2</sup>. Камеру з боку активного шару мембрани наповнювали водним розчином НМ сполуки, другу камеру - ізотонічним розчином. Процес проводили при постійному перемішуванні ( $\geq 800$  об/хв) впродовж 1 год.

Концентрацію вітаміну В12 в розчині визначали спектрофотометричним методом за допомогою спектрофотометра СФ-46 при довжині хвилі  $\lambda=360$  нм, концентрацію креатиніну - фотоколориметрично з пікриновою кислотою при  $\lambda=540$  нм і сечовини - біохімічними експрес-методом [6].

Бактерицидність нанокомпозиційних ацетатцелюлозних мембран визначали, використовуючи добову культуру бактерій Української колекції мікроорганізмів (УКМ), зокрема Escherichia coli BE, Escherichia coli HB 101. Бактерії вирощували на твердому живильному середовищі Endo agar. Суспензії добогих тест-культур готували у стерильному фізіологічному розчині ( $3 \cdot 10^2$ - $10^3$  кл/мл). Виготовлену суспензію (10 мл) фільтрували крізь мембрану до сухого залишку в циліндричній комірці непроточного типу, після чого інкубували на поживному середовищі Ендо (Fluka) при температурі 28 °C. Результати обраховували через 24 год культивування бактерій. Як контроль використовували ацетатцелюлозні мембрани без аеросилу, оброблені сумішшю водних розчинів  $I_2$  і KI.

Всі показники отриманих ацетатцелюлозних мембран представлені в таблиці 1-4. В таблицях наведено:

приклад I - мембрани з немодифікованим аеросилом,

приклад II - мембрани з аеросилом модифікованим ПВП,

приклад III - мембрани з аеросилом модифікованим комплексом ПВП - йод.

Полі-N-вініл-2-піролідон є відомим біосумісним полімером, що використовується в медицині як заміник плазми крові. Логічно припустити, що чим більша концентрація ПВП буде знаходитись в полімерній матриці, тим в більшій мірі мембрана буде біосумісною. Так як ПВП є водорозчинним по-

лімером, безпосереднє введення його у формувальний розчин неможливе. Тому необхідна його іммобілізація на нерозчинному носії - наночастинках аеросилу.

У таблиці 1 приведені результати модифікування аеросилу А3 00 полівінілпіролідонем.

Таблиця 1

Залежність кількості адсорбованого ПВП на аеросилі від концентрації розчину модифікування

Концентрація ПВП, % (мас)	0.01	0.04	0.07	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1
Кількість адсорбованого ПВП, мг/г SiO <sub>2</sub>	3	7	10	20	50	200	240	250	250

Кількість іммобілізованого ПВП залежить від його концентрації в розчині модифікування. Максимальна адсорбція спостерігається при використанні 0,9 % мас. водного розчину ПВП. При подальшому збільшенні концентрації величина адсорбції не змінюється. Адсорбція ПВП відбувається через активні центри за рахунок утворення водневих зв'язків між атомами оксигену карбонільної групи ПВП та атомами гідрогену вільної силанольної групи аеросилу. Очевидно, що при цьо-

му відбувається взаємодія макромолекул ПВП не тільки з наночастинками аеросилу, але й між собою, що веде до збільшення шару полімеру навколо наночастинок із збільшенням концентрації ПВП в розчині.

Транспортні та функціональні характеристики модифікованих мембран також суттєво залежать від кількості модифікованого аеросилу в полімерній матриці мембрани.

Таблиця 2

Залежність водопроникності та коефіцієнту затримки за БСА сформованих мембран від кількості введеного SiO<sub>2</sub>-ПВП в полімерну матрицю

Концентрація SiO <sub>2</sub> - ПВП, %	1	2	3	4
J <sub>v</sub> , л/м <sup>2</sup> год	122.4	149.2	233.1	280.36
R <sub>БСА</sub> , %	75	78	82	85

Як видно з таблиці 2, із збільшенням кількості модифікованого аеросилу в полімерній матриці із 1 до 4 % водопроникність сформованих мембран збільшується від 120 до 280 л/м<sup>2</sup>год, а селективність залишається незмінною і складає близько 75-85 %. Збільшення продуктивності мембран пояснюється тим, що з підвищенням вмісту наночастинок в полімерній матриці збільшується загальна пористість мембран, при цьому розмір пор, що утворюються при формуванні мембран не змінюється. Подальше збільшення вмісту наночастинок

в полімерній матриці не має сенсу, так як збільшується кількість їх контактів між собою, що призводить до утворення певних агломератних структур, а при цьому неможливо досягти однорідності розчину формування. Отже, оптимальною є концентрація модифікованого аеросилу в формувальному розчині 4 % мас.

У таблиці 3 наведено результати водопроникності (J<sub>v</sub>), селективності (R), бактерицидності (B) та адсорбції сироваткового альбуміну людини (A) для отриманих мембран.

Таблиця 3

Характеристики отриманих мембран

Зразки мембран	J <sub>v</sub> , л/м <sup>2</sup> год	R <sub>САЛ</sub> , %	A·10 <sup>-2</sup> , мг/см <sup>2</sup>	B, %
Приклад I	245,2	55	1,6	30±5
Приклад II	287,5	85	0,4	20±5
Приклад III	286,8	84	0,4	99±1
Мембрана за найближчим аналогом	163,6	100	5,3	0

Приведені експериментальні дані показують, що отримані мембрани характеризуються майже вдвічі більшим значенням водопроникності при цьому селективність їх знижується не суттєво.

Як видно з даних щодо величини адсорбції САЛ, найменша величина адсорбції спостерігається для зразків мембран з модифікованим аеросилом. При введенні немодифікованого аеросилу до

полімерної матриці адсорбція альбуміну до поверхні мембран зменшується в 3 рази, а при введенні модифікованого біосумісним ПВП - відповідно в 13 разів в порівнянні з мембраною за найближчим

аналогом. Крім того, за рахунок утворення бактерицидного комплексу ПВП-йод мембрани з модифікованим аеросилом характеризуються високою бактерицидною активністю, що складає 99 %.

Таблиця 4

## Коефіцієнти проникності НМ сполук

Мембрана	Коефіцієнт проникності, см <sup>2</sup> /хв		
	В12	креатинін	сечовина
Мембрана за найближчим аналогом	3,7±1,4·10 <sup>-5</sup>	8±3·10 <sup>-8</sup>	1,6±0,3·10 <sup>-6</sup>
Приклад II	20±6·10 <sup>-5</sup>	6±1·10 <sup>-7</sup>	1,1±0,3·10 <sup>-5</sup>

Видалення низькомолекулярних токсичних речовин із крові пацієнтів є найбільш важливою функцією гемодіалізних мембран. Для дослідження їх транспортних властивостей використовують сечовину (Mг~60), креатинін (Mг~113) та як калібратор із середньою молекулярною масою вітамін В12 (Mг~1300). Як видно з таблиці 4, коефіцієнт проникності вітаміну В12 для наноккомпозитних АЦ мембран значно вищий, ніж для мембрани за найближчим аналогом, а коефіцієнти проникності креатиніну і сечовини перевищують відповідні коефіцієнти для промислових мембран на один порядок. Отже, одержані наноккомпозитні мембрани характеризуються значно вищою проникністю низькомолекулярних речовин у порівнянні з промисловими еталонними мембранами та можуть забезпечувати високий кліренс.

Наноккомпозитні ацетатцелюлозні мембрани одержані запропонованим способом забезпечують:

- високу водопроникність,
- високий кліренс щодо низькомолекулярних сполук,
- низьку адсорбцію білків плазми крові,
- бактерицидні властивості;

Джерела:

[1] Tomoaki Uchiyama, Junji Watanabe, Kazuhiko Ishihara. Biocompatible polymer alloy membrane for implantable artificial pancreas //J. Membr. Sci. – 2002. - V .208 - P.39-48.

[2] Albright R.C., Smelser J.M., McCarthy J.T., Homburger H.A., Bergstralh E.J., Larson T.S. Patient survival and renal recovery in acute renal failure: randomized comparison of cellulose acetate and polysulfone membrane dialyzers //Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic - 2000. - 75 (11). - P.1141-1147.

[3] Kung F.C., Yang M.C. Effect of conjugated linoleic acid immobilization on the hemocompatibility of cellulose acetate membrane //Colloids and surfaces. B, Biointerfaces - 2006. - 47 (1). - P.36-42.

[4] Yoshihiko Abe, Akira Mochizuki. Hemodialysis membrane prepared from cellulose/N-methylmorpholine-N-oxide solution. III. The relationship between the drying condition of the membrane and its permeation behavior //J. Appl. Polym. Sci. - 2003. - 89, №6. - P.1671-1681.

[5] Cellulose acetate hemodialysis membrane. Uenishi, Tohru /Yamamoto, Isamu/ Okamoto, Kazutake Sato, Hideo Shiota, Yasuhiro Sakurai, Hidehiko Watanuki, Seiji Suzuki, Mitsuru (Toyo Boseki Kabushiki Kaisha), UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE GRANTED PATENT №5783124, July 21, 1998. - прототип.

[6] Taylor A.J. Analytical reviews in clinical biochemistry: the estimation of urea /A.J. Taylor, P. Vадgama //Ann. Clin. Biochem. – 1992. – Vol. 29. – P.245-264.