


Б16/1

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт Фундаментальной биологии и биотехнологии  
Базовая кафедра Биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

 Т.Г. Волова  
Подпись инициалы, фамилия


«30» июня 2016 г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 – Биология

Конструирование и исследование носителей лекарственных препаратов  
разной геометрии на основе поли (3-гидроксипутирата)

Руководитель

 д.б.н., профессор  
подпись, дата

Т.Г. Волова

инициалы, фамилия

к.б.н.

  
подпись, дата

А.В.Муруева

инициалы, фамилия

Выпускник

 24.06.16  
подпись, дата

К.В. Абанина

инициалы, фамилия

Красноярск 2016

## Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	5
1.1 Материалы для биомедицины.....	5
1.1.1 Синтетические материалы.....	5
1.1.2 Природные биоразрушаемые полимеры.....	7
1.2 Полигидроксиалканоаты–перспективные биodeградируемые полимеры.....	9
1.2.1 Поли(3-гидроксибутират).....	11
1.3 Формы доставки лекарственных препаратов.....	12
1.3.1 Традиционные методы доставки лекарств.....	13
1.3.2 Современные формы доставки лекарств.....	15
1.4 Конструирование лекарственных носителей на основе ПГА.....	18
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	21
2.1 Характеристика ПЗГБ.....	21
2.2 Методы получения лекарственных носителей разной геометрии.....	21
2.2.1 Антибактериальные препараты.....	21
2.2.2 Метод получения микрочастиц.....	23
2.2.3 Метод получения объемных таблетированных форм.....	23
2.2.4 Метод получения пломбирочного материала.....	23
2.3.1 Изучение свойств полимерных лекарственных носителей.....	24
2.3.2 Исследование кинетики оттока антибактериальных препаратов из лекарственных носителей.....	25
2.3.3 Антибактериальный тест <i>invitro</i> .....	25
2.4 Обработка данных.....	26

3. РЕЗУЛЬТАТЫ .....	27
3.1 Характеристика микрочастиц .....	27
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	30
ВЫВОДЫ.....	31
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....	32

## ВВЕДЕНИЕ

Создание экологически чистых материалов медицинского назначения, предназначенных для контакта со средой организма, и обладающих полезными свойствами остается одной из ключевых проблем современности.

Одним из важных направлений медицины и фармакологии является разработка лекарственных носителей с контролируемой скоростью доставки лекарств.

Системы контролируемой доставки лекарств (СКДЛ) предназначены для непрерывной подачи содержащихся в них веществ в течение длительного времени с заранее заданной скоростью. Контролируемая доставка препаратов особо востребована при различных инфекционных, в том числе длготекущих и системных заболеваниях.

Важным аспектом для создания лекарственных носителей является выбор материала, используемого в качестве матрикса. Такой материал должен обладать рядом медико-биологических и физико-механических свойств, например таких как биосовместимость и биodeградация.

На сегодняшний день поиск и синтез новых материалов для доставки лекарственных средств, отвечающих необходимым требованиям, является перспективным направлением (Волова и др., 2009).

Синтетические материалы, как правило, более доступны для конструирования СКЛД, чем полимеры природного происхождения, но их большим недостатком являются непредсказуемое взаимодействие с клетками и неконтролируемое время биodeградации в среде организма.

Биodeградируемые природные полимеры, используемые как носители лекарственных веществ (ЛВ), такие как коллаген, желатин, хитозан и полиэферы бактериального происхождения – ПГА, обладают высокой биосовместимостью, постепенно разрушаются в организме и, благодаря этому, появляется возможность контролировать выход ЛВ в окружающую среду. В то время как, при использовании традиционных лекарственных форм дозировка и концентрация лекарственных веществ в организме не поддается

контролю, что приводит к увеличению терапевтической дозы, которое влечет за собой увеличение нежелательных побочных эффектов (Штильман, 1998).

Изучение новых систем доставки ЛВ с пролонгированным действием является приоритетной задачей в медицине.

Целью данной работы явилось конструирование и исследование полимерных лекарственных носителей разной геометрии: микрочастиц, пломбирочного материала и объемных таблетированных форм на основе поли(3-гидроксibuтирата) (П(ЗГБ)), нагруженных антибактериальными препаратами широкого спектра действия.

Исходя из поставленной цели, были сформулированы следующие задачи:

1. Изучить и освоить различные методы и технологии получения полимерных лекарственных носителей на основе П(ЗГБ) с различными антибактериальными препаратами;
2. Получить лекарственные носители разной геометрии на основе П(ЗГБ), нагруженные антибактериальными препаратами: тиенам, цефтриаксон, гентамицин;
3. Изучить свойства полученных полимерных лекарственных носителей;
4. Исследовать динамику выхода антибактериальных препаратов: тиенам, цефтриаксон, гентамицин из полимерных носителей на основе П(ЗГБ) в модельную среду *invitro*;
5. Оценить лекарственную эффективность полимерных носителей на основе П(ЗГБ), нагруженных антибактериальными препаратами на примере модельных микроорганизмов *Escherichiacoli* и *Staphylococcus aureus*.

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Материалы для биомедицины

При выборе материала для конструирования полимерных матриц, используемых в медицине, руководствуются следующими соображениями: материал должен обладать высокой биосовместимостью и биобезопасностью (Канюков и др., 2004), быть химически инертным, не иметь в своем составе выщелачиваемых примесей, легко синтезироваться, а в случае гидролиза (или резорбции) не образовывать токсичных соединений (Волова и др., 2006).

#### 1.1.1 Синтетические материалы

Круг синтетических материалов применяемых в биомедицине достаточно разнообразен. Одним из основных достоинств синтетических полимеров является их стоимость, которая значительно ниже стоимости полимеров природного происхождения. Из них легко формировать трехмерные структуры, не возникает трудностей с сырьем и производством полимеров с воспроизводимыми и контролируемыми свойствами, к которым можно отнести микроструктуру и прочность (Канюков и др., 2004).

*ПГЛА* – поли (молочно-гликолевая кислота) – композитный материал на основе полигликолевой и полимолочной кислот. Является одним из наиболее широко используемых синтетических полимеров в тканевой инженерии и формировании полимерных матриц, используемых для контролируемой доставки лекарственных веществ (Shietal., 2009). ПГЛА является биоразлагаемым полимером с высокой механической прочностью, что обеспечивает возможность создание гибкой структуры (Волова и др., 2009).

Микросферы на основе ПГЛА, используемые в качестве носителей для лекарственных препаратов (ЛП) способны удерживать препарат, тем самым контролируя его высвобождение и оптимизируя дозировку (Shietal., 2009).

*Полиуретаны* (ПУ) – полимеры, содержащие уретановую группу. Данная группа представлена широким разнообразием уретановых полимеров,

обладающих различными физическими и биологическими свойствами. Полиуретаны являются одной из основных групп полимерных материалов, которые применяются при изготовлении различных имплантатов, а также многих других изделий. Большинство полиуретанов, используемых в медицинских целях, представляют собой двухфазные блоксополимеры (также называемые полиуретанами с различной жесткостью сегментов в макромолекуле).

*Полисилоксаны (силиконы)* имеют многолетнюю успешную репутацию и широко используются в медицине. Представлены группой материалов, которая включает эластомеры, гели, смазочные вещества, пены и клеи. Силиконы являются химически очень стабильными и неактивными. Они имеют хорошие характеристики электроизоляции и низкое влагопоглощение. Силиконы относятся к материалам, предназначенным для долгосрочного использования, когда необходим эластомер и когда имеется потребность в биодолговечности и биосовместимости.

*Полиэтилен* является гидрофобным и биоинертным материалом. Для него характерен низкий предел текучести, что ограничивает его использование. Увеличение кристалличности и молекулярного веса ПЭ, способствует увеличению предела текучести. Полиэтилен низкой плотности (или полиэтилен высокого давления) – распространенный и доступный материал, обладающий высокой биологической инертностью, молекулярной массы 50–200 Да. Ранее широко применялся в качестве материала для эндопротезирования в челюстно-лицевой хирургии, в настоящее время применяется сравнительно редко. Полиэтилен высокой плотности имеет более высокую степень кристалличности по сравнению с предыдущим; применим для создания отдельных типов имплантатов. Полиэтилены низкой и высокой плотности легко поддаются формованию (Волова и др., 2009).

Однако большим недостатком синтетических материалов являются их непредсказуемое взаимодействие с живыми клетками и компонентами иммунной системы пациента (Malafaya et al., 2007), а также неконтролируемое

время биодegradации в среде организма. Главные причины осложнений при использовании синтетических биодegradуемых материалов – возможные проявления негативных реакций (воспалительная и аллергическая реакции) организма на продукты деструкции, которые могут быть связаны с проявлением канцерогенности (Канюков и др., 2004).

### **1.1.2 Природные биоразрушаемые полимеры**

В последние десятилетия непрерывно растет интерес к биодegradуемым полимерам природного происхождения (альгинатам (Гажва и др., 2014), коллагену, желатину (Shietal., 2011), хитозанам, фиброинам шелка) и полиэфирам бактериального происхождения – полигидроксиалканоатам (ПГА), синтезируемым микроорганизмами (Волова и др., 2011).

*Альгинат* – природный линейный полисахарид, получаемый из морских водорослей, принадлежит к семейству маннуроновой и гиалуриновой кислот. Благодаря ионным взаимодействиям при добавлении двухвалентных катионов в альгинатах происходит обратимое гелеобразование. Альгинатные гели обладают высокой биосовместимостью. Альгинаты так же используют в качестве ранозаживляющего материала, в виде пленок и волокон используют для обработки ран и ожогов (Гажва и др., 2014). Альгинаты с высоким содержанием гиалуриновой кислоты широко применяются в качестве матрикса для депонирования лекарственных препаратов (Волова и др., 2009).

*Коллаген* – фибриллярный белок, наиболее распространенный белок у позвоночных, он входит в состав соединительной, костной и хрящевой тканей. Молекула коллагена состоит из трех  $\alpha$ -цепей, формирующих правозакрученную тройную спираль. Коллаген является наиболее широко используемым природным полимером для биомедицинских целей (Velemaetal., 2006). Коллаген благодаря своей биосовместимости и хорошо зарекомендовавшему себя профилю безопасности представляет собой благоприятную матрицу для доставки лекарственных препаратов к участку



паталогического процесса в организме пациента. Однако, недостатком коллагена является его неконтролируемое время деградации и ограниченный срок функционирования в условиях живого организма. (Волова и др., 2009).

*Желатин* получают из коллагена, натурального полимера, который является основным компонентом кожи, костей и соединительной ткани. Используется в фармацевтических препаратах, раневых повязках и клеях. Желатин обладает рядом свойств, которые позволяют рассматривать его в качестве биоматериала: биосовместимость, биоразлагаемость и биобезопасность. Как и белок, желатин имеет высокое содержание аминокислот, таких как глицин, пролин и оксипролин, что потенциально ускоряет заживление мягких тканей (Shietal., 2011).

В отношении доставки лекарств, высоко гидрофильный желатин поглощает раствор препарата и после контакта формирует гидрогель (Shietal., 2011). Свободный гель матрицы способен связывать молекулы препарата и впоследствии контролировать высвобождение лекарственного средства посредством диффузии или контролируемого механизма деградации (Волова и др., 2009).

*Хитозан* часто используют для получения пленок, гелей и трехмерных каркасов, используемых в тканевой инженерии. Трехмерные каркасы на основе хитозана нашли широкое применение в ортопедии и стоматологии (Wuetal., 2012). На сегодняшний день разработаны композитные материалы с использованием хитозана, которые так же применяются для создания гелей и 3D - матриксов. Это такие композиты, как: хитозан/альгинат, хитозан/гиалуроновая кислота, хитозан/карбоксиметилцеллюлоза, хитозан/ПГА и др. (Волова и др., 2009).

Хитозан обладает антибактериальным действием, благодаря способности связывать органические водорастворимые вещества, например бактериальные токсины (Velemaetal., 2006).

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – относятся к классу сложных полиэфиров, природного происхождения. В состав полигидроксиалканоатов

входит более 100 различных мономеров, что делает их крупнейшей группой полимеров (Hazeretal., 1999). ПГА обладают многими свойствами, которые являются привлекательными для биомедицины, такими как высокая эластичность, прочность, термопластичность, так же они обладают высокой степенью биосовместимости (Волова и др., 2013). Биодegradация ПГА происходит клеточным и гуморальным путями. Скорость биодegradации гораздо ниже, чем у других известных биоразрушаемых полимеров (Brighametal., 2012). Мономеры, образующиеся в результате резорбции ПГА, являются абсолютно безвредными для организма (Волова и др., 2003).

К недостаткам природных биополимеров относят сложность обработки, недостаточную механическую прочность, и конечно высокую стоимость их получения (Штильман, 2006).

## **1.2 Полигидроксиалканоаты–перспективные биодegradируемые полимеры**

*Полигидроксиалканоаты*(ПГА, англоязычная аббревиатура – PHA) обладают многими свойствами, которые являются обязательными для применения в биомедицинской сфере. ПГА имеют ряд весьма существенных преимуществ, в отличие от других полимеров, например таких как полилактиды(Волова и др., 2009).

Высокая биосовместимость ПГА связана с тем, что мономеры, образующие полимер – это естественные метаболиты клеток и тканей организма. Например, как в случае с гомополимером поли-3-гидроксибутиратом, который состоит из гидроксимасляной кислоты. Так как дegradация ПГА является биологической и происходит клеточным и гуморальным путями, образующиеся при этом мономеры гидроксимасляной кислоты не вызывают резкого закисления тканей и, следовательно, выраженной воспалительной реакции (Senioretal., 1984). Скорости биорезорбции ПГА значительно ниже, чем таковые, например у полилактидо-полигликолидов(Shietal., 2009). Изделия из ПГА в зависимости от формы и места имплантации *invivo* могут функционировать

до 2–3 лет, более того, скоростью деградации ПГА можно управлять (Lietal., 2009).

ПГА получают методом прямой ферментации, их производство не требует серии технологических этапов (синтез мономеров, полимеризация, добавление пластификаторов и модифицирующих компонентов). Сырьем для синтеза ПГА могут быть сахара, органические кислоты, спирты, смеси  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$ , продукты гидролиза растительного сырья, промышленные отходы производства сахара, пальмового масла, водородсодержащие продукты переработки бурых углей и гидролизного лигнина; (Волова и др., 2013).

ПГА – это семейство полимеров различной химической структуры, образованных мономерами с длиной C-цепи от  $\text{C}_2\text{H}_4$  до  $\text{C}_6\text{H}_{12}$  и выше, от высококристаллических термопластов до резиноподобных эластомеров (Hazeretal., 1999). Свойствами ПГА (кристалличность, механическая прочность, температурные характеристики, скорости биораспада) можно управлять, варьируя в процессе ферментации состав среды и задавая ту или иную химическую структуру (Волова и др., 2013). ПГА подвергаются переработке из различных фазовых состояний (порошки, растворы, гели, расплавы) общепринятыми методами. С этими полимерами связаны большие надежды, так как помимо термопластичности (аналогично полипропилену и полиэтилену) ПГА обладают антиоксидантными и оптическими свойствами, пьезоэлектрическим эффектом и характеризуются высокой биосовместимостью (Волова и др., 2009).

Сферы применения ПГА в медицине потенциально широки и могут включать изготовление медицинского инструментария и вспомогательных средств (нетканые и одноразовые изделия, шовные и перевязочные материалы), фармакологию (контролируемые системы доставки лекарственных средств), восстановительную хирургию и трансплантологию (Канюков и др., 2004).

В связи с тем, что скорости биорезорбции ПГА *in vivo* существенно ниже, чем у известных биоразрушаемых биоматериалов (полилактида, полигликолида) (Shietal., 2009), а прочностные характеристики выше, имеется принципиальная возможность использования этих полимеров, в качестве материалов для длительно текущей регенерации крупных и сложных костных дефектов и повреждений.

Следует отметить, что в настоящее время количество работ, посвященных исследованию ПГА в качестве матрикса для лекарственных носителей, невелико, в отличие от аналогичных на основе производных монокарбоновых кислот (полилактиды и полигликолактиды) (Shietal., 2009)

Однако применение полилактидов и полигликолидов ограничено, так как скорости их деструкции достаточно велики, что приводит к повышению локальной концентрации продуктов разложения полимера в организме. С этой точки зрения ПГА открывают широкие перспективы для создания новых лекарственных носителей пролонгированного действия в виде 3D-форм, пленочных матриксов, микрочастиц, пломбирочного материала (Шишацкая и др., 2012).

### **1.2.1 Поли(3-гидроксibuтират)**

Поли-3-гидроксibuтират ( $C_4H_6O_2$ ) – гомополимером D(-)-3- $\beta$ -гидроксимасляной кислоты, представляет собой изотактический полиэфир с регулярными, повторяющимися единицами.

Полигидроксibuтират, в отличие от других синтетических полимеров – это стереорегулярный оптически активный полимер, обладающий высокой степенью кристаллизации (Senioretal., 1984).

Внутри клеток П(ЗГБ), как и другие ПГА, аккумулируется в цитоплазме в виде сферических включений (гранул) и находится в гранулах в подвижном аморфном состоянии. Количество гранул в клетке может составлять от 2–4 до 12. На 98 % гранулы состоят из полимера. В составе гранул присутствуют также фосфолипиды и белки в количестве,

соответственно, 2.1 мг и 0.2 мг на 100 г полимера. Гранулы заключены в мембрану толщиной 2–4 мкм (Волова и др., 2006).

Гранулы образованы фибриллярными структурами, которые представляют собой двойные нити в виде закрученных вправо лент. Последние образуют мицеллообразные кристаллы полимера. Плотность и высокая гидрофобность полимерных цепей в гранулах связана с наличием ограничивающих фосфолипидных оболочек, которые расположены монолинейно и укреплены белковыми структурами (Senioretal., 1984).

В живых клетках П(ЗГБ) в гранулах находится в мобильном состоянии, но не в растворенном. Установлено, что вода ассоциирована в части гранул и в какой-то мере играет роль пластификатора, хотя роль воды как пластификатора полимера, до конца не выяснена. Выявлено, что ферменты, катализирующие реакции синтеза ПГА, активны только в мобильном гидратированном материале и что в твердых гранулах, характерных для высушенных клеток, они в процессе сушки инактивируются.

Процесс кристаллизации полигидроксibuтирата начинается только после экстракции полимера из клеточной массы неполярными растворителями. ПГБ – это бесцветное полукристаллическое гидрофобное вещество (Волова и др., 2006).

Как показал анализ научной литературы, поли(3-гидроксibuтират) один из наиболее изученных и широко применяемых полигидроксиалканоатов (Lietal., 2009). Способность ПГБ к инкапсуляции и дальнейшему пролонгированному высвобождению различных химических веществ, в том числе обладающих фармакологической активностью, позволяет использовать его для создания лекарственных полимерных систем для контролируемого высвобождения (Gurseletal., 2002).

### **1.3 Формы доставки лекарственных препаратов**

Для того чтобы лекарственное средство начало действовать, должна произойти его абсорбция, параметры которой зависят не только от структуры и состава препарата, но и от пути его введения (Белюсов и др., 2009).

В последние три десятилетия проводятся интенсивные исследования полимерных систем для контролируемого высвобождения лекарственных веществ. Пролонгированное введение в организм в требуемых дозах позволяет устранить многие ограничения перорального, инъекционного, аэрозольного и других способов использования традиционных лекарственных форм. Среди подобных ограничений чаще всего встречаются повышенная токсичность и нестабильность веществ, неравномерная скорость их подачи и др. (Лившиц и др., 2009).

### 1.3.1 Традиционные методы доставки лекарств

Среди традиционных методов доставки различных препаратов в живой организм выделяют три основных пути введения: парентеральный, энтеральный и смешанный (таблица 1.3.1.1).

Таблица 1.3.1.1 – Основные пути введения лекарственных средств

Парентеральный путь	Энтеральный путь	Смешанный путь
Инъекционное (внутривенное, внутримышечное, подкожное) введение, интраназальное введение	Сублингвальное введение, трансбуккальное введение, ректальное введение, пероральное введение	Ингаляционное введение

#### Парентеральный путь введения

##### *Инъекционное введение лекарственных веществ*

При инъекционном внутривенном введении препарат поступает непосредственно в кровоток, при этом можно быстро добиться максимальной концентрации ЛВ в крови и развития оптимального эффекта. Вследствие процессов метаболизма и частичного выведения концентрация вещества в крови резко снижается, практически сразу после введения.

При внутримышечном введении лекарственное вещество вначале поступает в мышцу и накапливается в ней, а потом из нее поступает в кровь. В таком случае мышца выступает в роли депо, концентрация препарата в крови вначале постепенно повышается, но затем резко падает из-за процессов метаболизма и выведения. Так же избыточное накопление препарата в мышце может негативно сказываться на ее работе.

При подкожном введении препарат накапливается в подкожно-жировой клетчатке. В этом случае биодоступность и скорость поступления вещества меньше, что обеспечивает медленное развитие терапевтического эффекта.

#### *Интраназальное введение*

Некоторые лекарственные вещества абсорбируются через слизистую оболочку носовой полости, и поступают в системный кровоток.

#### **Энтеральный путь введения**

##### *Сублингвальное (под язык) и трансбуккальное (защечное) введение*

Так как слизистая оболочка ротовой полости обильно кровоснабжена, такое введение обеспечивает быстрое поступление препарата в системный кровоток.

##### *Ректальное введение*

При ректальном введении лекарственное вещество быстро поступает в системный кровоток. Отсутствует инактивация поступившего вещества в печени, что обеспечивает быстрое развитие терапевтического эффекта.

##### *Пероральное введение*

При пероральном введении лекарственное вещество претерпевает ряд последовательных превращений, что обуславливает значительную вариабельность фармакокинетических параметров и терапевтического эффекта.

##### *Ингаляционное введение*

При ингаляции препарат оказывает не только местное действие, но и попадает в системный кровоток. Часть ЛВ абсорбируется в кровь на уровне глотки, а другая часть через пищевод попадает в ЖКТ (Белоусов и др., 2009).

При использовании традиционных форм введения лекарственных препаратов в организм дозировка и концентрация препаратов не поддается контролю, это может привести к депонированию лекарственных веществ в различных органах и тканях, что может привести к увеличению терапевтической дозы, которое влечет за собой увеличение нежелательных побочных эффектов (Fengetal., 2010).

### **1.3.2 Современные формы доставки лекарств**

В связи с тем, что традиционные методы доставки лекарственных веществ связаны с нежелательными побочными эффектами, появляется проблема введения оптимальной дозировки лекарственного препарата, необходимой для достижения терапевтического эффекта и исключающей негативное влияние на организм (Лившиц и др., 2009).

На сегодняшний день, благодаря достижениям медицины и фармакологии существуют новые системы доставки лекарственных средств (ЛС) (Канюков и др., 2004). Главным достоинством лекарственных носителей является возможность длительного и стационарного поддержания необходимой концентрации лекарственного препарата в крови или тканях пациента в течение требуемого времени. Применение таких систем позволяет избежать высоких стартовых концентраций, уменьшить число процедур и побочных эффектов (Штильман и др., 1998).

Такая система состоит из лекарственного вещества и носителя, она вводится в организм пациента с целью направленного транспорта препарата к очагу паталогического процесса и его пролонгированного действия.

Основными задачами при создании лекарственных носителей являются:

- повышение биодоступности лекарственного вещества;



- обеспечение длительного оптимального терапевтического эффекта;
- обеспечение адресной доставки ЛВ к фармакологической мишени (Ивонин и др., 2012).

Лекарственные носители можно классифицировать по технологии создания, механизмам высвобождения препаратов, типам используемых матриц в качестве носителя, фармакокинетическим и терапевтическим свойствам.

По технологии создания различают лекарственные носители: монолитные (матриксные), резервуарные (мембранные) и насосные (осмотические) (Леонова, 2009).

Основу монолитного носителя представляет матрикс, ЛВ может быть связано с ним физическим или химическим способом. Высвобождение препарата происходит путем диффузии или вымыванием вследствие деградации матрикса.

Резервуарная система состоит из мембраны, которая образует резервуар и ядро, в котором содержится ЛВ. Высвобождение препарата контролируется свойствами мембраны, осуществляется главным образом диффузией через поры мембраны, образовавшиеся в результате биodeградации или набухания мембраны.

Осмотические носители предназначены для контролируемого высвобождения в течение длительного времени. Через полупроницаемую мембрану в систему с осмотическим веществом поступает вода, приводя к расширению этого вещества и увеличению давления в резервуаре с ЛВ, в результате чего суспензия ЛВ выдавливается из резервуара.

Существуют разнообразные виды лекарственных носителей, различных по форме и размерам, такие как липосомы, мицеллы, полимерные микрочастицы и 3D-матрикс.

Липосомы представляют собой замкнутую систему, которая образована одним или более липидным бислоем с гидрофильным внутренним пространством. Липосомы широко применяются в качестве лекарственных носителей. Однако они имеют ряд недостатков, так например, липосомы очень неустойчивы к изменениям окружающей микросреды. Так же не решенной проблемой является увеличение сроков хранения липосом после их получения (Лутик и др., 2013).

Мицеллы – это термодинамически стабильные, самособирающиеся скопления амфифильных молекул, которые образуют устойчивые коллоидные системы. Мицеллы имеют следующее строение: гидрофильные группы молекул обращены наружу, образуя оболочку, а гидрофобные группы соединяются друг с другом, образуя ядро. В настоящее время для инкапсулирования лекарственных веществ разработаны мицеллы на основе блок-сополимеров, способные к биодegradации (Лысенко и др., 2009).

Важным аспектом для создания систем является выбор материала, используемого в качестве носителя. Такой материал должен обладать рядом медико-биологических и физико-механических свойств, например, таких как биосовместимость и биодegradация (Шишацкая и др., 2012)

Применение различных биоразрушаемых материалов в качестве матрикса для депонирования препаратов позволяет варьировать скорость распада матрицы, и соответственно, управлять кинетикой выхода препарата (Emanuele et al., 2012).

Биодegradуемые носители лекарственных препаратов постепенно разрушаются в организме. На скорость биодegradации полимерного матрикса и на скорость диффузии лекарственного вещества влияют многие факторы. Химическая структура и состав: пространственная структура, расположение мономеров, наличие случайных мономеров или дефектов в полимерной цепи, наличие ионных групп, молекулярный вес и его распределение, наличие низкомолекулярных включений, параметры процесса изготовления, условия стерилизации и хранения, форма и место

имплантации, адсорбируемые и абсорбируемые включения (вода, липиды, ионы и т. д.). Физико-химические факторы (ионный обмен, ионная сила, pH) и физические факторы (изменения формы и размера, коэффициента диффузии, разрушение вследствие растворения или давления и т. д.), механизм гидролиза. (Волова и др., 2009, 2011).

Полигидроксиалканоаты являются перспективным материалом для создания лекарственных носителей, так как соответствуют многим требованиям и обладают всеми необходимыми свойствами для создания таких форм доставки лекарств. Эти полимеры биосовместимы и инертны по отношению к животным тканям, в биологических средах они разрушаются до основных метаболитов живых систем ( $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ ) (Senioretal., 1984). ПГА можно получить в химически чистом виде, и они деградируют в биологических системах с регулируемой скоростью, в отличие от других материалов (желатин, коллаген, протеины, полилактид и др.), которые так же широко применяются в качестве лекарственных носителей (Волова и др., 2013).

#### **1.4 Конструирование лекарственных носителей на основе ПГА**

Полигидроксиалканоаты активно исследуются в качестве биоразрушаемой матрицы для депонирования лекарственных препаратов и их контролируемой доставки в течение длительного времени, так как соответствуют многим требованиям, предъявляемым к таким материалам (Gurseletal., 2002).

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – полимеры гидроксипроизводных алкановых кислот, которые с конца 1980-х годов прошлого века активно изучают в качестве материала для хирургических элементов, тканевой инженерии и биоискусственных органов. (Шишацкая и др., 2012) Это класс линейных полимеров, которые синтезируют прокариотические микроорганизмы в специфических условиях роста (Hazeretal., 1999). Помимо термопластичности аналогично полипропилену и полиэтилену, ПГА обладают антиоксидантными свойствами, пьезоэлектрическим эффектом, не

гидролизуются в жидких средах и характеризуются высокой биосовместимостью (Волова и др., 2013).

Перспективным направлением считается получение 3D-форм лекарственных носителей на основе ПГА для восстановления костных дефектов, осложненных гнойно-некротическими процессами. В работе (Шишацкая и др., 2012) было показано, что биodeградируемые объемные имплантаты и пломбирочный материал на основе полигидроксibuтирата обладают выраженными остеопластическими свойствами, медленно деградируют *invivo*, обеспечивая нормальное протекание репаративного остеогенеза.

Важно не только выбрать материал, который будет отвечать всем необходимым требованиям, но и правильно подобрать метод получения трехмерных структур, так как от технологии получения зависят физические и морфологические свойства носителей (Efentakis et al., 2006), и соответственно, кинетика выхода лекарственного препарата. Например, в статье (Belcarz et al., 2013) было показано, что скорость выхода лекарственных препаратов зависела от поверхностных характеристик 3D-форм, так у носителей с более пористой поверхностью кинетика оттока антибиотиков была выше, чем у носителей, обладающих меньшей пористостью.

Для получения трехмерных полимерных носителей очень часто используют метод формования. Наиболее распространенным методом формования является полусухое прямое прессование частиц или порошков. Структура носителей, полученных таким методом, является очень плотной и зависит, прежде всего, от состава и дисперсности используемых порошков, давления прессования, его продолжительности (Шишацкая и др., 2012).

Другим современным направлением считается получение полимерных микрочастиц на основе ПГА, которое тесно связано с новейшей технологией, которая называется микроинкапсулирование (Волова и др., 2011).

Инкапсулирование биологически активных соединений в полимерный матрикс в виде микрочастиц может быть реализовано с помощью трех

основных технологий – гранулирования, распыления, эмульсификации (Горева и др., 2012).

Получение микрочастиц возможно различными методами, в том числе испарением растворов полимеров ( Шишацкая и др., 2012). При отработке технологии варьируют соотношение носителя и лекарства, типы полимеров, молекулярный вес, скорость кристаллизации, добавки (Shietal., 2010). Получаемые при этом частицы различаются формой, размерами, структурой поверхности (Соснов и др., 2008). Существуют и другие технологии для получения микрочастиц, в том числе ультразвуковая обработка растворов ПГА (0,1% раствор ПГБ в хлороформе) (Муруева и др., 2014).

Наиболее часто для получения микросфер и матриксов используются полигидроксibuтират и его сополимеры с гидроксивалератом, но в последние годы возрос интерес к многокомпонентным ПГА (Муруева и др., 2014).

Анализ современной научной литературы позволяет сделать вывод, несмотря на сложность интерпретации полученных в описанных работах данных, исследования свойств лекарственных носителей разной геометрии на основе ПЗГБ, нагруженных различными антибактериальными препаратами являются актуальным направлением (Волова и др., 2009). Спектр морфологических характеристик полимерных лекарственных носителей, получаемых различными методами, открывает широчайшие возможности, в особенности для внедрения в качестве долговременных систем доставки лекарств (Ивонин и др., 2012).

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Характеристика ПЗГБ

Полигидроксибутират (ПГБ) – это полиэфир гидроксимасляной кислоты, синтезируемый бактериями *Ralstonia eutropha* B-5786, один из первых среди выделенных и наиболее полно к настоящему моменту охарактеризованных полигидроксиалкоаноатов. ПГБ представляет собой бесцветное полукристаллическое гидрофобное вещество (Senioretal., 1984).

Состав полимера определяли хроматографией после предварительного метанолиза образцов по метиловым эфирам жирных кислот с применением хромато-масс-спектрометра.

Молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение образцов полимера определяли методом гель-проникающей хроматографии.

Образцы полимера, предоставленные Лабораторией новых биоматериалов Института Фундаментальной Биологии и Биотехнологии, имели следующие характеристики: гомополимер поли (3-гидроксибутират) (П(ЗГБ)), молекулярная масса 625kDa, кристалличность 72%, температура плавления 168<sup>0</sup>C (Волова и др., 2013).

### 2.2 Методы получения лекарственных носителей разной геометрии

С применением различных методов и технологий на основе П(ЗГБ) были получены полимерные носители лекарственных препаратов разной геометрии: микрочастицы, пломбирочный материал и таблетированные 3D-формы, в том числе содержащие лекарственные препараты.

#### 2.2.1 Антибактериальные препараты

Для депонирования в полимерные лекарственные носители были выбраны три антибактериальных препарата широкого спектра действия: тиенам, цефтриаксон и гентамицин.

**Тиенам** – лекарственное средство, антибиотик группы карбопенымы. Тиенам состоит из двух компонентов: имипенема, первого представителя нового класса бета-лактамных антибиотиков – тиенамицинов и

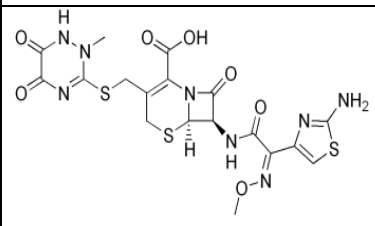
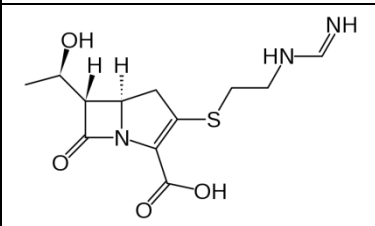
циластатинанатрия – специфического фермента – ингибитора, тормозящего метаболизм имипенема в почках.

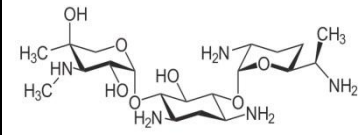
Тиенам является высокоэффективным ингибитором синтеза клеточной стенки бактерий и обладает бактерицидным действием по отношению к широкому спектру патогенных микроорганизмов – грамположительных и грамотрицательных, как аэробных, так и анаэробных.

**Цефтриаксон** – лекарственное средство, антибиотик широкого спектра действия группы цефалоспорины III ( $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ ). Цефтриаксон угнетает транспептидазу, нарушает биосинтез мукопептида клеточной стенки бактерий. Имеет широкий спектр действия (бактерицидное), стабилен в присутствии большинства бета-лактамаз.

**Гентамицин** – лекарственное средство, антибиотик широкого спектра действия из группы аминогликозидов. Обладает бактерицидным действием – в больших концентрациях снижает барьерные функции клеточных мембран и вызывает гибель микроорганизмов ( Тец, 2006). Свойства антибактериальных препаратов приведены в таблице 2.2.1.

Таблица 2.2.1 – Антибактериальные препараты, депонированные в лекарственные носители

название препарата	формула	растворимость в воде	мол.масса (кDa)	производитель
цефтриаксон		50 мг/мл	661,6	ЗАО «ЛЕККО», Россия
тиенам(имипенем+циластатин)		10 мг/мл	317,4	“Merck Sharp and Dohme”, Нидерланды

гентамицин		>1г/мл	477,6	ФГУП «Микроген», Россия
------------	---	--------	-------	-------------------------------

Полученные полимерные изделия были нагружены антибактериальными препаратами: гентамицин, цефтриаксон и тиенам, процент включения которых составил 5, 10 и 15% от массы полимерного изделия.

### 2.2.2 Метод получения микрочастиц

Микрочастицы получали эмульсионным методом. Микрочастицы собирали центрифугированием (9000 об/мин, в течение 5 мин), промывали 4 раза дистиллированной водой и высушивали в термостате при  $t=37^{\circ}\text{C}$  в течение суток.

[Изъят 1 абзац]

### 2.2.3 Метод получения объемных таблетированных форм

Порошкообразный П(ЗГБ) механически смешивали с антибактериальными препаратами, процент включения которых составлял 5, 10 и 15% от массы полимера.

[Изъят 1 абзац]

### 2.2.4 Метод получения пломбирочного материала

Порошкообразный П(ЗГБ) механически смешивали с антибактериальными препаратами, и получали объемные таблетированные формы (методика получения см. п. 2.2.3), процент включения антибиотиков составлял 5, 10 и 15% от массы полимера.

Для получения пломбирочного материала таблетированные 3D-формы измельчали размалыванием в ультрацентрибежной мельнице «ZM 200».

[Изъят 1 абзац]



## **2.3 Методы исследования лекарственных носителей**

### **2.3.1 Изучение свойств полимерных лекарственных носителей**

#### ***Изучение морфологии микрочастиц***

Для изучения морфологических характеристик микрочастиц, таких как размер, диаметр, форма, были сделаны снимки полимерных микрочастиц, нагруженных антибактериальными препаратами. Морфологию и размерное распределение микрочастиц определяли с помощью флуоресцентного микроскопа *Leica DM6000B* (Германия).

#### ***Измерение дзета-потенциала микрочастиц***

Для изучения устойчивости микрочастиц были проведены измерения дзета – потенциала, т.к. данная величина определяет степень и характер электростатического взаимодействия (отталкивания или притяжения) между частицами дисперсионной системы, а так же является одним из определяющих параметров, влияющих на стабильность этой системы (Подколодная и др., 2012). Дзета-потенциал (поверхностный заряд) микрочастиц определяли с помощью анализатора частиц *ZetasizerNano ZS* (*Malvern*, Великобритания).

#### ***Изучение поверхностных характеристик объемных таблетированных форм***

Поверхностные характеристики полимерных изделий изучали с помощью прибора для измерения краевых углов *DSA-25E* («*Krüss*», Германия). На поверхность образца с помощью микрошприцов поочередно наносили капли воды и дийодметана объемом 1,5 мкл с видеофиксацией моментов взаимодействия каждой жидкости с поверхностью 3D-формы. Для нахождения краевых углов смачивания кадр видеозаписи капли после ее стабилизации обрабатывался в полуавтоматическом режиме встроенным в программный пакет методом «*Circle*». Из полученных значений с помощью встроенной программы рассчитывали свободную поверхностную энергию, ее дисперсную и полярную составляющую (мН/м). Для каждой поверхности

проводили не менее четырех измерений, определяли среднее значение и стандартное отклонение.

### ***Изучение фракционного состава пломбировочного материала***

Фракционный состав пломбировочного материала изучали по РЭМ-изображениям, полученным с применением сканирующей электронной микроскопии на микроскопе *TM-3000 (Hitachi, Япония)*. В формате *bmp* с использованием программы обработки данных «Scanmaster» сканирующего мультимикроскопа «СММ-2000» с учетом параметров, задающих размеры изображения.

### **2.3.2 Исследование кинетики оттока антибактериальных препаратов из лекарственных носителей**

Микрочастицы и образцы пломбировочного материала предварительно стерилизовали УФ-излучением в течение 30 минут. Таблетированные 3D-формы предварительно были простерилизованы обработкой  $H_2O_2$ -плазмой на приборе «SterradNX, Jh.&Jh», США.

Содержание лекарственных препаратов в модельной среде (ФСБ) определяли спектрофотометрированием с помощью спектрофотометра «Cary 60 UV-Vis, Agilent Technologies», при определенной длине волны, которая является оптимальной для каждого антибактериального препарата (тиенам – 304 нм; цефтриаксон – 255 нм; гентамицин К – 262 нм).

Соответствие оптической плотности и количества антибактериального препарата диффундированного в модельную среду определяли с помощью калибровочного графика.

### **2.3.3 Антибактериальный тест *in vitro***

Исследование лекарственной эффективности полимерных носителей различной геометрии, содержащих антибиотики, проводили в модельных культурах грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, на примере *Escherichiacoli* и *Staphylococcus aureus* соответственно.

Для проведения антибактериального теста были изготовлены лекарственные носители разной геометрии: 3D-формы, микрочастицы и пломбировочный материал с 10%-ным содержанием антибактериальных веществ широкого бактерицидного спектра действия: тиенам, цефтриаксон и гентамицин.

[Изъято 2 страницы]

#### **2.4 Обработка данных**

Обработку результатов эксперимента проводили в программе Microsoft Excel 2010. Оценивали средние значения и ошибки среднего в зависимости от величины выборки по t-критерию Стьюдента (уровни значимости: 0,05 и 0,01). Результаты приведены в виде  $X \pm m$ .

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследований были сконструированы полимерные носители лекарственных препаратов разной геометрии на основе П(ЗГБ), нагруженные антибактериальными препаратами широкого бактерицидного спектра действия, такие как микрочастицы, пломбировочный материал и объемные таблетированные формы.

Изучены свойства полимерных лекарственных носителей, проведены исследования динамики выхода антибиотиков из сконструированных систем *invitro*, исследована лекарственная эффективность полимерных носителей на примере модельных культур микроорганизмов *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*.

#### 3.1 Характеристика микрочастиц

Эмульсионным методом были получены микрочастицы на основе П(ЗГБ) с тремя антибактериальными препаратами широкого бактерицидного спектра действия.

На рисунке 3.1.1 представлены микрочастицы с 10%-ным содержанием антибиотиков. Независимо от выбранного лекарственного препарата, полученные микрочастицы гетерогенны по размерам, и имеют правильную сферическую форму. Средний диаметр микрочастиц незначительно зависел от типа антибиотика. Так, средний диаметр микрочастиц с тиенамом составил около  $109,31 \pm 5,06$  мкм, с цефтриаксоном –  $89,93 \pm 4,92$  мкм и микрочастиц, нагруженных гентамицином –  $145,65 \pm 9,64$  мкм. Следует отметить, что микрочастицы, содержащие гентамицин, имели наиболее ярко выраженную размерную гетерогенность, диаметр микрочастиц колеблется в пределах от 75 до 220 мкм.

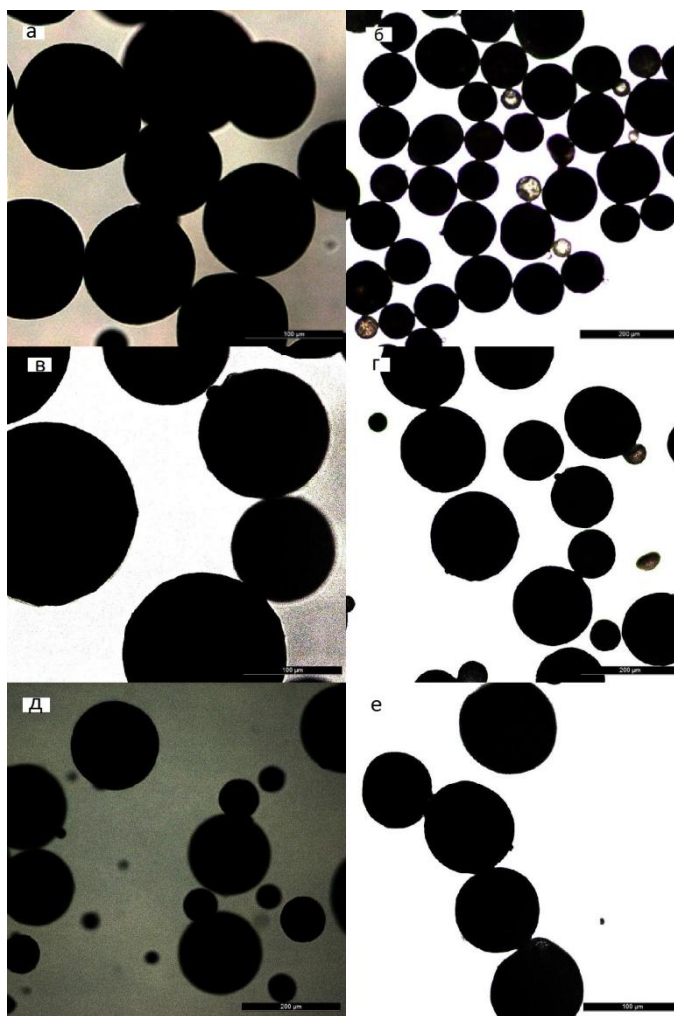


Рисунок 3.1.1 – Микрочастицы на основе П(ЗГБ), полученные методом трехкомпонентной эмульсии, содержащие антибактериальные препараты: (а,б) – тиенам, (в,г) – гентамицин, (д,е) – цефтриаксон ((флуоресцентный микроскоп «Leica DM6000B» ,Германия) Маркер: 100 мкм(а,в,д); 200 мкм (б,г,е)

Для изучения устойчивости микрочастиц были проведены измерения дзета – потенциала.

В дисперсионных системах на поверхности частиц (на границе раздела частица – дисперсионная среда) возникает двойной электрический слой (ДЭС). Двойной электрический слой представляет собой слой ионов, образующихся на поверхности частицы в результате адсорбции ионов из раствора или диссоциации поверхностных соединений. При движении частицы ДЭС разрывается. Место разрыва при перемещении твердой и жидкой фаз относительно друг друга называется плоскостью скольжения. Потенциал на плоскости скольжения называют дзета-потенциалом.

Дзета-потенциал – это разность потенциалов дисперсионной среды и неподвижного слоя жидкости, окружающего частицу. Дзета-потенциал определяет степень и характер электростатического взаимодействия (отталкивания или притяжения) между частицами дисперсионной системы, а так же является одним из определяющих параметров, влияющих на стабильность этой системы (Гельфман и др., 2004).

[Изъяты 21 страница]

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная работа посвящена конструированию полимерных лекарственных носителей разной геометрии на основе П(ЗГБ): микрочастицы, таблетированные 3D-формы и пломбировочный материал, исследованию их свойств и характеристик с оценкой эффективности действия *invitro*.

В данной работе в сравнительном аспекте изучены и описаны характеристики полимерных лекарственных носителей, содержащих антибактериальные препараты: тиенам, цефтриаксон, гентамицин. Лекарственные носители, нагруженные антибактериальными препаратами с различной исходной концентрацией были получены с применением различных методов и технологий.

При изучении свойств полимерных лекарственных носителей было показано, что микрочастицы, нагруженные тиенамом, имеют низкие значения дзета-потенциала, относительно микрочастиц, содержащих другие антибиотики, что определяет их наилучшую стабильность. Проанализировав полученные в ходе ряда экспериментов данные, можно заключить, что в зависимости от выбранного антибактериального препарата и его исходной концентрации, а так же от типа лекарственного носителя зависят его свойства. Так, показано, что образцы пломбировочного материала обладают наиболее высокой кинетикой оттока антибиотиков в модельную среду *invitro* так же обладают наиболее высокой лекарственной эффективностью против модельных микроорганизмов *E.coli* и *S.aureus*, в сравнении с другими полимерными носителями.

Установлено, что высокой кинетикой оттока, независимо от типа лекарственного носителя обладают образцы, нагруженные гентамицином, что может быть связано с его высоким показателем растворимости в воде (1г/мл). Однако, они значительно уступают в лекарственной эффективности образцам, нагруженным тиенамом.

Таким образом, полученные данные могут служить основой для дальнейших исследований лекарственных носителей *in vivo*.

## ВЫВОДЫ

1. Изучены различные методы и технологии получения полимерных лекарственных носителей на основе П(ЗГБ) с антибактериальными препаратами. Освоен метод холодного прессования под давлением и эмульсионный метод получения микрочастиц. Освоен метод депонирования антибактериальных препаратов в полимерные матриксы;

2. Получены лекарственные носители разной геометрии на основе П(ЗГБ), нагруженные антибактериальными препаратами: тиенам, цефтриаксон, гентамицин. [Изъят 1 абзац]

3. Изучены свойства полученных на основе П(ЗГБ) лекарственных носителей. [Изъят 1 абзац]

4. Исследована динамика выхода антибактериальных препаратов: тиенам, цефтриаксон, гентамицин из полимерных носителей на основе П(ЗГБ) в модельную среду *in vitro*. [Изъят 1 абзац]

5. Оценили лекарственную эффективность полимерных носителей на основе П(ЗГБ), нагруженных антибактериальными препаратами на примере модельных микроорганизмов *Escherichiacoli* и *Staphylococcus aureus*, установлено что наиболее эффективным лекарственным действием в отношении данных микроорганизмов обладает пломбировочный материал, нагруженный тиенамом.



## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Белоусов, Ю. Б. Клиническая фармакология / Ю. Б. Белоусов, В. Г. Кукес, В. К. Лепяхин, В. И. Петров. – Москва: ГЭОТАР-Медиа. – 2009. – 976 с.
2. Волова, Т. Г. Материалы для медицины, клеточной и тканевой инженерии: учебно-электронный курс / Т.Г. Волова, Е. И. Шишацкая, П.В.Смирнов – Красноярск: ИПК СФУ. – 2009.
3. Волова, Т. Г. Полиоксиалканоаты – биоразрушаемые полимеры для медицины: Монография. – 2-е изд., дополн. и переработ. / Т. Г. Волова, В. И. Севастьянов, Е. И. Шишацкая – Красноярск. – 2006. – 288 с.
4. Волова, Т. Г. Разрушаемые биополимеры: получение, свойства, применение / Т. Г. Волова, Е. И. Шишацкая – Красноярск. Издательство «Красноярский писатель». – 2011. – 392 с.
5. Волова, Т. Г. Физико-химические свойства полигидроксиалканоатов различного химического строения / Т. Г. Волова, Н. О. Жила, Е. И. Шишацкая, П. В. Миронов, А. Д. Васильев, А. Г. Суковатый, А. J. Sinskey // Высокомолекулярные соединения. – 2013. – Серия А. - Т. 55. - № 7. - С. 775–786.
6. Гажва, Ю. В. Разработка и исследование *invivo* и *invitro* костно-пластического материала на основе композиции гидроксиапатита, поли-3-оксибутирата и альгината натрия / Ю. В. Гажва, А. П. Бонарцев, Р. Ф. Мухаметшин, И. И. Жаркова, Н. В. Андреева, Т. К. Махина, В. Л. Мышкина, А. Е. Беспалов, А. Л. Зернов, и др. // GTM: Разработка и исследование нового костно-пластического материала. – 2014. – Т.6. - №1. – С. 6-13.
7. Гельфман, М. И. Коллоидная химия / М. И. Гельфман, О. В. Ковалевич, Ю. П. Юстратов – 2-ое изд., стер. – СПб: Издательство «Лань». – 2004. – 336 с.
8. Горева, А. В. Характеристика полимерных микрочастиц на основе резорбируемых полиэфиров оксиалкановых кислот в качестве

платформы для депонирования и доставки препаратов / А. В. Горева, Е. И. Шишацкая, Т. Г. Волова, Э. Дж. Сински // Высокомолекулярные соединения. – 2012. – Сер. А. – Т. 54. - № 2. – С. 224–236.

9. Ивонин, А. Г. Направленный транспорт лекарственных средств: современное состояние вопроса и перспективы /А. Г. Ивонин, Е. В. Пименов, В. А. Оборин, Д. А. Девришов, С. Н. Копылов // Известия Коми научного центра УрО РАН. Выпуск 1(9) – Сыктывкар, 2012.

10. Канюков, В. Н. Материалы для современной медицины: учеб.пособие / В. Н. Канюков, А. Д. Стрекаловская, В. И. Килькинов, Н. В. Базарова – Оренбург: ГОУ ОГУ, 2004. – 113с.

11. Леонова, М. В. Новые лекарственные формы и системы доставки лекарственных средств: особенности пероральных лекарственных форм. Часть1. / М. В. Леонова // Лечебное Дело. - № 2. – 2009.

12. Лутик, И.Л. Липосомы как средство доставки лекарственных препаратов при сердечно-сосудистых заболеваниях / И. Л. Лутик, И. Э. Адзериho // Здравоохранение. Лекции и обзоры. – 2013. - №7.

13. Лившиц, В. А. Микросферы из поли(3-гидроксипропиридата) для пролонгированного высвобождения лекарственных веществ / В. А. Лившиц, А. П. Бонарцев, А. Л. Иорданский, Е. А. Иванов, Т. А. Махина, В. Л. Мышкина, Г. А. Бонарцева// Высокомолекулярные соединения. – 2009. – Сер. Б. – Т. 51. - № 7. – С. 1243–125.

14. Лысенко Е. А. Смешанные мицеллы на основе катионного и анионного амфифильных диблок-сополимеров с идентичным гидрофобным блоком / Е. А. Лысенко, А. Н. Трусов, П. С. Челушкин, Т. К. Бронич, А. В. Кабанов, А. Б. Зезин // Высокомолекулярные соединения. – 2009. Сер. А. – Т. 51. - №6. – С. 929-939.

15. Муруева, А. В. Исследование полимерных микроносителей, нагруженных противовоспалительными препаратами, для терапии модельных дефектов кожных покровов / А. В. Муруева, А. М. Шершнева,

Е.И. Шишацкая, Т. Г. Волова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т.157. - №5.

16. Подколотная, О. А. Пути поступления наночастиц в организм млекопитающих, их биосовместимость и клеточные эффекты / О. А. Подколотная, Е. В. Игнатъев, Н. Л. Подколотный, Н. А. Колчанов // Успехи современной биологии. – Т.132, №1. – 2012. – С. 3-15.

17. Соснов, А. В. Разработка систем доставки лекарственных средств с применением микро- и наночастиц/ А. В. Соснов, Р. В. Иванов, К. В. Балакин, Д. Л. Шоболов, Ю. А. Федотов, Ю. М. Калмыков // Качественная клиническая практика: новые лекарственные средства и технологии. - №2. – 2008.

18. Стецюк, О. У. Ципрофлоксацин и норфлоксацин: определение чувствительности диско-диффузионным методом / О. У. Стецюк, Г. К. Решедько, Е. Л. Рябкова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия - №1. – Т.1. – 1999.

19. Шишацкая, Е. И. Исследование лекарственной эффективности доксорубицина, депонированного в микрочастицы из резорбируемого «Биопластотана» на лабораторных животных с солидной формой карциномы Эрлиха / Е. И. Шишацкая, А. В. Горева, А. М. Кузьмина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т.154. - №12.

20. Тец, В. В. Микроорганизмы и антибиотики. Инфекции кожи, мягких тканей, костей и суставов / В. В. Тец // СПб.:КЛЕ-Т. – 2006. – 128 с.

21. Шишацкая, Е. И. Экспериментальное исследование деградируемых биополимеров нового класса для пластики костных дефектов и остеомиелитических полостей / Е. И. Шишацкая, Ю. С. Винник, Н. Н. Маркелова, А. А. Шагеев, И. В. Камендов, С. И. Старосветский, В. А. Хоржевский, Ю. А. Назарьянц, А. А. Шумилова, Р. А. Пахомова// Московский хирургический журнал. – 6 (28) 2012.

22. Штильман, М. И. Полимеры в биологически активных системах / М. И. Штильман // Соросовский образовательный журнал / Российский

химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева. – Москва, 1998.  
- №5.

23. Штильман, М. И. Полимеры медико-биологического назначения /М. И. Штильман - Москва: Академкнига, 2006. – 399 с.

24. Belcarz, A. Biphasic mode of antibacterial action of aminoglycoside antibiotics-loaded elastic hydroxyapatite–glucan composite / A. Belcarz, A. Zima, G. Ginalska// International Journal of Pharmaceutics. – 2013. – P. 454.

25. Brigham, C.J. Applications of polyhydroxyalkanoates in the medical industry / C.J. Brigham, A.J. Sinskey // International Journal of Biotechnology For Wellness Industries. – 2012. – Vol. 1, no. 1. – P. 53–60

26. Chen, J. The release of diazepam from poly(hydroxybutyrate-hydroxyvalerate) microspheres / J. Chen, S.S. Davis // Microencapsulation. – 2002. – Vol. 19. - №2. – P. 191-201.

27. Efentakis, M. Comparative evaluation of various structures in polymer controlled drug delivery systems and the effect of their morphology and characteristics on drug release / M. Efentakis, S. Politis // EurPolym J. – 2006. – Vol.42. – P. 1183-1195.

28. Emanuel, N. A lipid-and-polymer-based novel local drug delivery system—BonyPid: From physicochemical aspects to therapy of bacterially infected bones / N. Emanuel, Y. Rosenfeld, O. Cohen, Y. H. Applbaum, D. Segal, Y. Barenholz // Journal of Controlled Release. – 2012.

29. Feng, K. Novel antibacterial nanofibrous PLLA scaffolds / K. Feng, H. Sun, M. A. Bradley, E. J. Dupler, W. V. Giannobile, Peter X. Ma // Journal of Controlled Release. – 2010.

30. Grund, J. Predictability of drug release from water-insoluble polymeric matrix tablets / J. Grund, M. Korber, R. Bodmeier // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2013.

31. Gursel, I. In vitro antibiotic release from poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) rods / I. Gursel, F. Yagmurlu, F. Korkusuz, V. Hasirci // Microencapsulation. – 2002. – Vol. 19. - №2. – P. 153-164.

32. Hazer, B. Preparation of poly(ethylene glycol) grafted poly(3-hydroxyalkanoate) networks / B. Hazer, R. W. Lenz, B. Cakmakli, M. Borcakli, H. Kocer // *Macromol. Chem. Phys.*. 200. – 1999. – P. 1903-1907.

33. Li, Z. Synthesis, Characterization and Biocompatibility of Biodegradable Elastomeric Poly(ether-ester urethane)s Based on Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) and Poly(ethylene glycol) via Melting Polymerization / Z. Li, X. Yang, L. Wu, Z. Chen, Y. Lin, K. Xu, G-Q. Chen // *Journal of Biomaterials Science*, 20. – 2009. – P. 1179–1202.

34. Malafaya, P. B. Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications / P. B. Malafaya, G. A. Silva, R. L. Reis // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2007. – P. 207–233.

35. Senior, P. G. Polyhydroxybutyrate, a speciality polymer of microbial origin In / P. G. Senior, A. Dean, D. Ellwood, C. Evans, E. Horwood // eds. *Continuous culture*. – 1984. – V. 8. – P. 266–271.

36. Shi M. Antibiotic-releasing porous polymethylmethacrylate/gelatin/antibiotic constructs for craniofacial tissue engineering/ M. Shi, J. D. Kretlow, P. P. Spicer, Y. Tabata, N. Demian, M. E. Wong, F. K. Kasper, A. G. Mikos // *Journal of Controlled Release* – 2011. – P. 196–205.

37. Shi M. Antibiotic-releasing porous polymethylmethacrylate constructs for osseous space maintenance and infection control / M. Shi, J. D. Kretlow, A. Nguyen, S. Young, L. S. Baggett, M. E. Wong, F. K. Kasper, A. G. Mikos // *Biomaterials*, 31. – 2010.

38. Shi X. A protein/antibiotic releasing poly(lactic-co-glycolic acid)/lecithin scaffold for bone repair applications / X. Shi, Y. Wang, L. Ren, W. Huang, D-A. Wang // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2009. – P. 373.

39. Velema J. Biopolymer-Based Biomaterials as Scaffold for Tissue Engineering / J. Velema, D. Kaplan // *BiochemEngin/ Biotechnol.* – 2006. – Vol. 102. – P. 187-238.

40. Wu H. Chitosan-based polyelectrolyte complex scaffolds with antibacterial properties for treating dental bone defects / H-D. Wu, D-Y. Ji, W-J.

Chang, J-C. Yang, S-Y. Lee //Materials Science and Engineering. – 2012. – P. 207–214.

41. Wu, H. pH-sensitive poly(histidine)-PEG/DSPE-PEG co-polymer micelles for cytosolic drug delivery / H. Wu, L. Zhu, V.P. Torchilin // Biomaterials. – 2013. – Vol. 34. – P. 1213-1222.

42. Yoo, J.-W. Drug delivery systems for hormone therapy / J.-W. Yoo, C. H. Lee // Review Article Journal of Controlled Release. – 2006. – V. 112. – I. 1. – P. 1-14.