

УДК 577.151.45

©Коллектив авторов

ВКЛЮЧЕНИЕ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ МИКРОКАПСУЛЫ

**Т.Н. Бородина^{1*}, Л.Д. Руми², С.М. Кунижев¹, Г.Б. Сухоруков³, Г.Н. Ворожцов⁴,
Б.М. Фельдман⁴, А.В. Русанова⁵, Т.В. Васильева⁵, С.М. Струкова⁵, Е.А. Марквичева²**

¹Ставропольский государственный университет, Ставрополь;
эл. почта: tatborodina@yandex.ru

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;
тел.: +7(495) 336-28-11; факс: +7(495) 335-10-11; эл. почта: lemark@ibch.ru

³Queen Mary University of London, London

⁴Федеральное государственное унитарное предприятие "Государственный
научный центр "НИОПИК", Москва

⁵Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Микрокапсулы, содержащие смесь водорастворимых экстрактов подорожника (*Plantago major*) и календулы (*Calendula officinalis* L.) (ЭПК), были получены послойной адсорбцией каррагинана (КАР) и модифицированного хитозана (ХИТ) на CaCO₃ микрочастицах с последующим растворением ядер при помощи ЭДТА. Включение ЭПК проводили методами адсорбции и соосаждения. Показано, что при включении ЭПК в карбонатную матрицу путем соосаждения значительно повышается степень иммобилизации. Изучена кинетика выхода ЭПК на моделях *in vitro* с использованием искусственного желудочного сока (ИЖС). На модели ацетатной язвы желудка у крыс показано, что высвобождающийся из микрокапсул ЭПК способствует ускорению репарации тканей желудка.

Ключевые слова: микрокапсулы, экстракты подорожника и календулы, каррагинан, пепсин, биодegradация, пролонгированная доставка лекарств.

ВВЕДЕНИЕ. Широко известно использование лекарственных растений для лечения различных заболеваний. Потенциальные возможности фитотерапии огромны, поскольку растениям присущи многие лечебные свойства: болеутоляющие, тонизирующие и успокаивающие, противовоспалительные, потогонные, кровоостанавливающие и замедляющие свёртываемость крови, противомикробные и т.д. [1]. Так, календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.) и подорожник большой (*Plantago major*) относятся к широко известным лекарственным растениям применяемым как в народной, так и в официальной медицине.

Применение календулы лекарственной основано на содержании в сырье комплекса биологически активных веществ (БАВ): каротина, стероидов, тритерпеноидов, флавоноидов, эфирных масел, кумаринов, макро- и микроэлементов. Препараты календулы применяют при язве желудка и

* - адресат для переписки

двенадцатиперстной кишки, острым и хроническом гастрите, заболеваниях печени, желчного пузыря и желчных протоков, при злокачественных заболеваниях. Особенно широко календула применяется наружно: при заболеваниях ротовой полости и глотки, при ранениях, ссадинах и трофических язвах [1]. Так, препарат калефлон (*Caleflonum*), оказывает противовоспалительное, противоязвенное действие, ускоряет заживление кожных ран. Ротокан (*Rotokanum*) усиливает процессы репаративной регенерации в слизистых оболочках, обладает гемостатическими свойствами [2].

В народной медицине подорожник применяется как ранозаживляющее средство. Препараты на основе экстрактов подорожника используются в гастроэнтерологии для лечения гастритов, дуоденитов, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, заболеваний кишечника в качестве средства, обладающего противовоспалительным, антисептическим эффектом. Кроме того, препараты подорожника применяются при терапии ран, т.к. оказывают бактериостатическое действие на гемолитический стрептококк и стафилококк, синегнойную палочку, протей, кишечную палочку [1]. Под влиянием сока наблюдается более быстрое очищение раневой поверхности от гнойных выделений, прекращение воспалительного процесса и интенсивный рост грануляций. Препарат Интросан, содержащий экстракт листьев подорожника, оказывает противовоспалительное действие на слизистую оболочку всего желудочно-кишечного тракта, обладает противоязвенным действием, стимулирует секрецию желудочного сока [3].

Однако существующие препараты на основе лекарственных растений не всегда обеспечивают пролонгированное действие активного компонента, быстро выводятся из организма, тем самым, снижая эффективность конечного продукта. Поэтому, с учетом ранозаживляющих и противовоспалительных свойств ЭПК, нами были предложены матрицы для их инкапсулирования и получения новых более эффективных форм доставки.

Ранее был предложен метод получения микрокапсул с помощью послойной адсорбции противоположно заряженных полиэлектролитов (ПЭ) [4, 5]. В качестве матриц для получения ПЭ микрокапсул были использованы меламинаформальдегидные частицы [6, 7], ядра на основе силикагеля [8], микрочастицы из полигидроксикарбоновых кислот [9], неорганические карбонатные частицы [10], белковые агрегаты [11, 12] и др. При разработке метода послойной адсорбции были использованы синтетические полимеры, такие как поли(стиролсульфонат)натрия, поли(аллиламин)гидрохлорид [4, 5, 13].

Однако для создания эффективных лекарственных препаратов перспективным является использование полимеров природного происхождения. Формирование ПЭ оболочки из природных полимеров позволяет получить микрокапсулы, обладающие свойствами биосовместимости, способности к биodeградации и низкой токсичности. Ранее, для формирования мембраны микрокапсул, были применены альгинат натрия и протаминсульфат [7], хитозан и сульфат хитозана [14, 15], декстран сульфат [7,16] и др. Более того, при использовании подобных полимеров, благодаря их собственной физиологической активности, может быть реализован синергический эффект – усиление активности лекарственной основы [17]. Целью настоящей работы было создание метода включения растительных экстрактов в биodeградируемые микрокапсулы и исследования эффекта полученных микрокапсул в моделях *in vivo*.

МЕТОДИКА. В работе использовали ЭПК (1:1 по массе), полученные на ФГУП “ГНЦ “НИОПИК” водно-спиртовой экстракцией смеси измельченных подорожника и календулы с последующим упариванием экстракта и его сушкой на распылительной сушилке; четвертичные аммониевые основания хитозана с молекулярной массой 9,0 кДа были любезно предоставлены проф. А. Bartkowiak, Польша; χ -каррагинан, пепсин с активностью 800 U/mg, этилендиаминтетрауксусная кислота, карбонат натрия, хлорид натрия (все “Sigma”, Германия); хлорид кальция (“Panreac”, Испания).

Получение микрочастиц карбоната кальция и включение в них ЭПК методом физической адсорбции (метод А).

Микрочастицы CaCO_3 были получены смешиванием эквимольных объемов растворов CaCl_2 и Na_2CO_3 при быстром перемешивании [18, 19]. Синтезированные таким образом частицы были использованы для адсорбции в них ЭПК. Для этого 50-100 мг CaCO_3 микрочастиц (средний диаметр 3,8 мкм) суспендировали в 1 мл раствора ЭПК (20 мг/мл) в дистиллированной воде. После инкубации на шейкере IKA-VIBRAX-VXR (1200/мин) в течение 2 часов, микрочастицы осаждали центрифугированием (1600 g, 5 мин) и отделяли супернатант. Далее частицы промывали водой (1 мл), используя центрифугирование (1600 g, 5 мин)/ресуспендирование.

Включение ЭПК в микрочастицы методом соосаждения (метод Б).

Включение ЭПК в карбонатные микрочастицы также проводили методом соосаждения [19]. Для этого 1,5 мл дистиллированной воды, 0,615 мл 1 М CaCl_2 , 0,615 мл 1 М Na_2CO_3 и 1,0 мл свежеприготовленного раствора ЭПК (20 мг/мл), были быстро перемешаны при помощи магнитной мешалки (650 об/мин) в течении 30 секунд при комнатной температуре. После перемешивания осадок микрочастиц отделяли от супернатанта центрифугированием (1600 g, 1 мин). Количество адсорбированного ЭПК рассчитывали спектрофотометрически ($\lambda=326$ нм) по разнице адсорбции исходных растворов экстрактов и растворов супернатантов, отобранных при осаждении.

Получение ПЭ микрокапсул.

ПЭ микрокапсулы были получены методом послойной адсорбции КАР и ХИТ. Для этого CaCO_3 микрочастицы последовательно инкубировали в растворах ХИТ (2 мг/мл) и КАР (2 мг/мл) в 0,02 М NaCl . В результате, на CaCO_3 матрицу были нанесены 8 слоев ХИТ и КАР. CaCO_3 ядра были удалены путем обработки микрочастиц раствором 0,2 М ЭДТА (рН 7.5), связывающим ионы Ca^{2+} , в течении 5 минут. Данную процедуру повторяли несколько раз до полного растворения карбонатной матрицы. Полученные (ХИТ/КАР)₄ микрокапсулы хранились в виде водной суспензии при 4°C.

Характеристика микрочастиц.

Сканирующая электронная микроскопия. Сканирующая электронная микроскопия была выполнена на приборе LEO 1550 VP SEM (Carl Zeiss SMT Inc., Thornwood, NY, США). Образцы готовились нанесением частиц на поверхность металлической подложки с последующим напылением слоя Au-Pd (80:20) (установка Sputter Coater, BAL-TEC SCD-050, США).

Электрофоретическая подвижность была измерена на приборе Malvern Zetasizer 2000 (Malvern Instrument) [20].

Исследование кинетики выхода ЭПК in vitro.

Кинетику выхода ЭПК изучали спектрофотометрически по поглощению биофлавоноидов при 326 нм (спектрофотометр Beckman DU-70). Для этого 400 мкл микрокапсул с включенным ЭПК добавляли к 1 мл свежеприготовленного раствора ИЖС (концентрация пепсина $\sim 10^{-4}$ М, рН 1-2) [21]. Образцы в пробирках Eppendorf инкубировали на качалке (100 об/мин, 37°C). Через 30 минут, отбирали аликвоты по 100 мкл, центрифугировали (16000 g, 5 мин) и в супернатанте определяли содержание ЭПК.

Эксперименты in vivo.

Эксперименты по заживлению язвы проводили на 24 самцах беспородных крыс, используя модифицированный метод Okabe et al. [22], как описано ранее [23]. Достоверность различий показателей между сравниваемыми группами оценивали по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Микрокапсулы были получены на основе процесса электростатической самосборки противоположно заряженных ПЭ. В качестве матрицы в работе были использованы CaCO_3 микрочастицы, содержащие ЭПК. Использование данных микрочастиц обусловлено рядом причин, таких как их сферическая форма, средний размер – 3,8 мкм, каналоподобная

структура, позволяющая иммобилизовать достаточно высокие количества БАВ [19]. Кроме того, применение данной неорганической матрицы, позволяет проводить процесс получения микрокапсул в “мягких” условиях, при соблюдении физиологически-оптимальных значений pH. Пористая структура и морфологические характеристики CaCO_3 микрочастиц объясняются механизмом их формирования из перенасыщенных растворов. Как было показано ранее [18, 24, 25], построение CaCO_3 микрочастиц – это этап процесса коллоидной агрегации, протекающей при непосредственном перемешивании водных растворов хлорида кальция и карбоната натрия. Процесс последующей рекристаллизации образовавшихся микрочастиц приводит к формированию ромбоэдрических кристаллов кальцита. Поэтому с целью получения пористых CaCO_3 микрочастиц процесс рекристаллизации должен быть прекращен на этапе их формирования. Для этого частицы фильтруют, несколько раз промывают водой с целью удаления исходных растворов солей и сушат на воздухе [18, 19].

В данной работе включение ЭПК в CaCO_3 микрочастицы проводили двумя методами. Рисунок 1 иллюстрирует основную схему процесса получения микрокапсул. В методе А ЭПК были иммобилизованы путем физической сорбции в порах микрочастиц, в методе Б – путем соосаждения CaCO_3 микросфер и ЭПК в процессе формирования матрицы (рис. 1А, 1Б). Фотографии данных микрочастиц, полученные с помощью электронного микроскопа, представлены на рисунке 2. Концентрация ЭПК в обоих случаях составляла 20 мг/мл. Анализ полученных результатов показал, что в случае метода А количество ЭПК, связавшегося с 50 мг частиц, составило 25% (5,1 мг). При использовании метода Б процент включения ЭПК составил 63% (12,6 мг). Таким образом, эффективность включения методом соосаждения практически в 2 раза выше, чем при сорбции. Возможно, это происходит вследствие сорбции ЭПК во всем объеме микрочастиц в методе Б, а в методе А ЭПК локализуется преимущественно на поверхности карбонатного ядра.

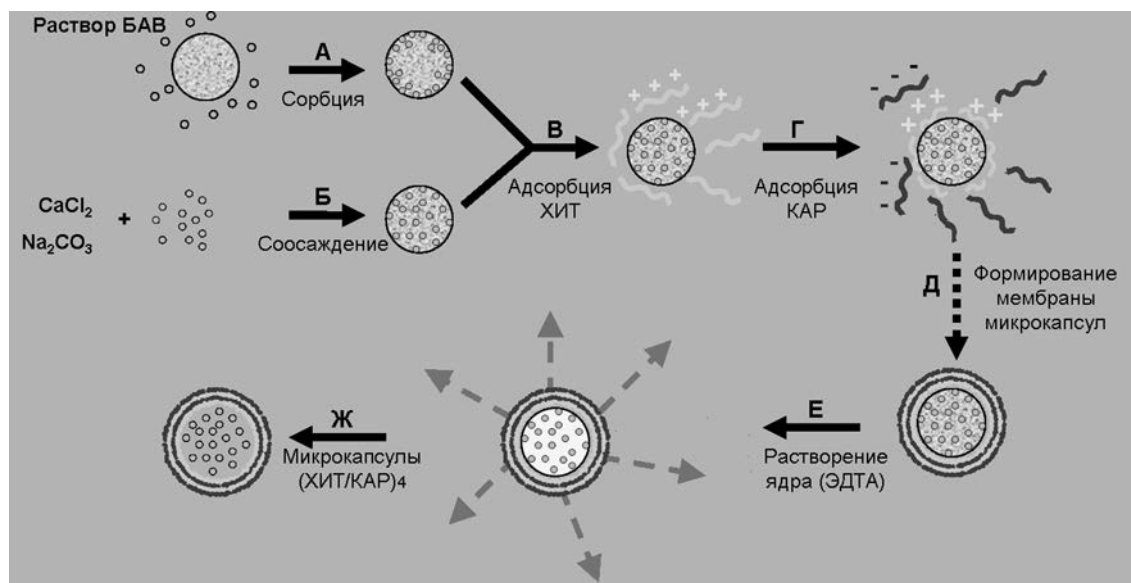


Рисунок 1.
Схема процесса получения ПЭ микрокапсул.

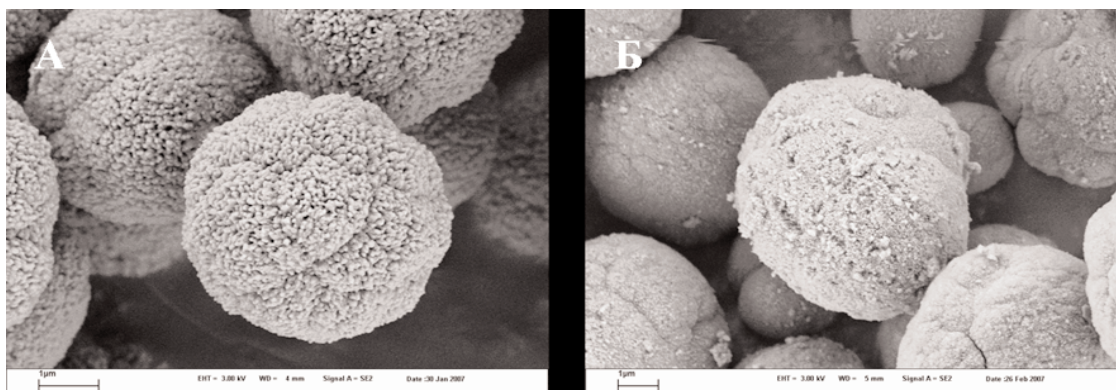


Рисунок 2.

Фотографии микрочастиц карбоната кальция, сформированных в отсутствие ЭПК (А) и соосажденном с ЭПК (Б). Сканирующий электронный микроскоп.

На следующем этапе данные частицы были использованы в качестве матрицы для формирования микрокапсул путем послойной адсорбции противоположно заряженных ПЭ на их поверхности (рис.1 В,Г). В результате чего CaCO_3 ядра были покрыты 8 слоями КАР и ХИТ (рис. 1Д). Биодеструкция и биосовместимость данных полимеров позволяет рассматривать микрокапсулы, полученные на их основе, в качестве систем доставки лекарственных препаратов, обеспечивающих пролонгированный выход активного компонента. Более того, помимо биосовместимости, ХИТ обладает антимикробной активностью, активизирует макрофаги, усиливает пролиферацию фибробластов [26], что открывает дополнительные перспективы его использования при разработке форм доставки ранозаживляющих компонентов. Следует отметить, что КАР представляет собой сульфированный галактан, встречающийся в красных водорослях *Chondrus crispus*, *Chondrus ocellatus*, *Hypnea specifera* и др. [27]. Каррагинаны используют в пищевой промышленности как стабилизаторы белковых растворов и гелеобразователи, при приготовлении фармацевтических препаратов и косметических средств, а также при иммобилизации клеток.

С целью доказательства успешного формирования ПЭ микрокапсул, было проведено измерение Z-потенциала. Изменение заряда поверхности от -28 мВ (последний слой КАР) до $+10$ мВ (последний слой ХИТ) при послойном нанесении полимерных слоев свидетельствует об образовании ПЭ мембраны на поверхности карбонатных микрочастиц (рис. 3). Полученные результаты позволили сделать вывод, что для формирования стабильных микрокапсул с использованием данных полимеров требовалось нанесения не менее 8 слоёв.

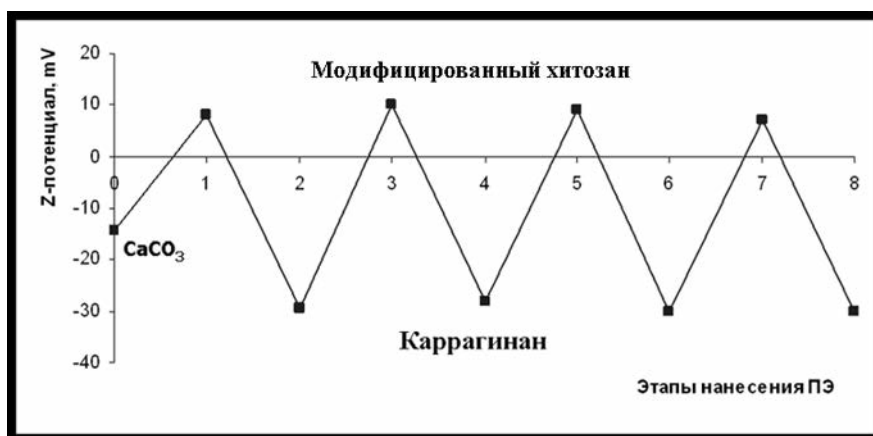


Рисунок 3.

Изменение Z-потенциала при послойной адсорбции КАР и ХИТ на поверхности частиц карбоната кальция. Изменения заряда от -28 мВ (последний слой = КАР) до $+10$ мВ (последний слой = ХИТ).

ЭКСТРАКТЫ РАСТЕНИЙ В БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МИКРОКАПСУЛАХ

На следующем этапе карбонатное ядро было растворено путем добавления к полученным частицам хелатирующего агента (ЭДТА), который взаимодействует с ионами Ca^{2+} с образованием растворимых солей, легко диффундирующих через ПЭ оболочку (рис. 1Е). В результате нами были получены (ХИТ/КАР)₄ микрокапсулы, содержащие ЭПК (рис. 1Ж).

Для изучения биodeградации полученных препаратов использовали ИЖС. Как видно из данных рисунка 4, при инкубации микрокапсул в растворах ИЖС наблюдается выход ЭПК. При этом следует отметить, что в присутствии пепсина ($\sim 10^{-4}$ М), мы видим небольшое увеличение скорости выхода биоактивного компонента из микрокапсул по сравнению с контрольным экспериментом (без фермента). В литературе имеются работы, в которых приведены данные по деградации хитозана пепсином [28, 29]. Данный вопрос до сих пор является спорным, в особенности, учитывая тот факт, что рН оптимум деградации хитозана пепсином лежит в пределах 5. Хотя известно, что рН оптимум пепсина равен 2 [30]. Мы полагаем, что наблюдаемое ускорение скорости выхода ЭПК в присутствии фермента является результатом неспецифического взаимодействия хитозана с пепсином.

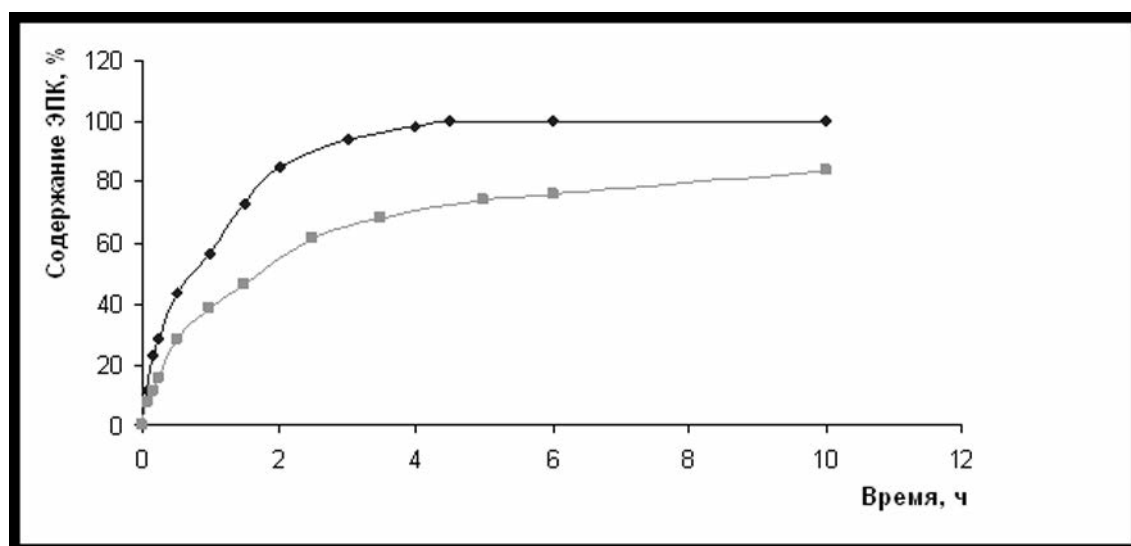


Рисунок 4.

Кинетика выхода ЭПК в раствор ИЖС с концентрацией пепсина $\sim 10^{-4}$ М (♦).
Контрольный эксперимент - ИЖС без пепсина (■).

На следующем этапе для изучения способности иммобилизованных в микрокапсулы ЭПК ускорять репарацию тканей были проведены эксперименты *in vivo* на модели язвы желудка у крыс.

Исследование динамики заживления язвы показало, что на 3 сутки эксперимента в опытных группах животных площадь язв уменьшалась на 65,6%, а на 7 сутки - на 49,7% по сравнению с контрольной группой животных.

В первой серии экспериментов проводили гистологический анализ срезов образцов ткани, взятой в очаге язвообразования на 3 сутки после операции, когда обычно быстрая экссудативно-воспалительная фаза завершается и начинается процесс формирования грануляционной ткани (рис. 5). У животных контрольной группы среди клеточных элементов преобладали нейтрофилы ($62,3 \pm 1,5\%$) и макрофаги ($36,3 \pm 1,2\%$). На фоне массивной инфильтрации нейтрофилов и моноцитов/макрофагов, отека, неравномерного полнокровия сосудов,

в контрольной группе выявлены единичные фибробласты ($1,3 \pm 0,32\%$) (рис. 5В). У животных опытной группы наблюдали увеличение (по сравнению с контролем) фибробластов ($10,7 \pm 1,7\%$), что может свидетельствовать о начальной стадии процесса пролиферации (рис. 5Б). В опытной группе содержание нейтрофилов было в 2 раза ниже, а фибробластов в 8 раз выше, чем в контроле. Таким образом, у животных, получавших микрокапсулы с ЭПК, отмечено более раннее наступление фазы пролиферации.

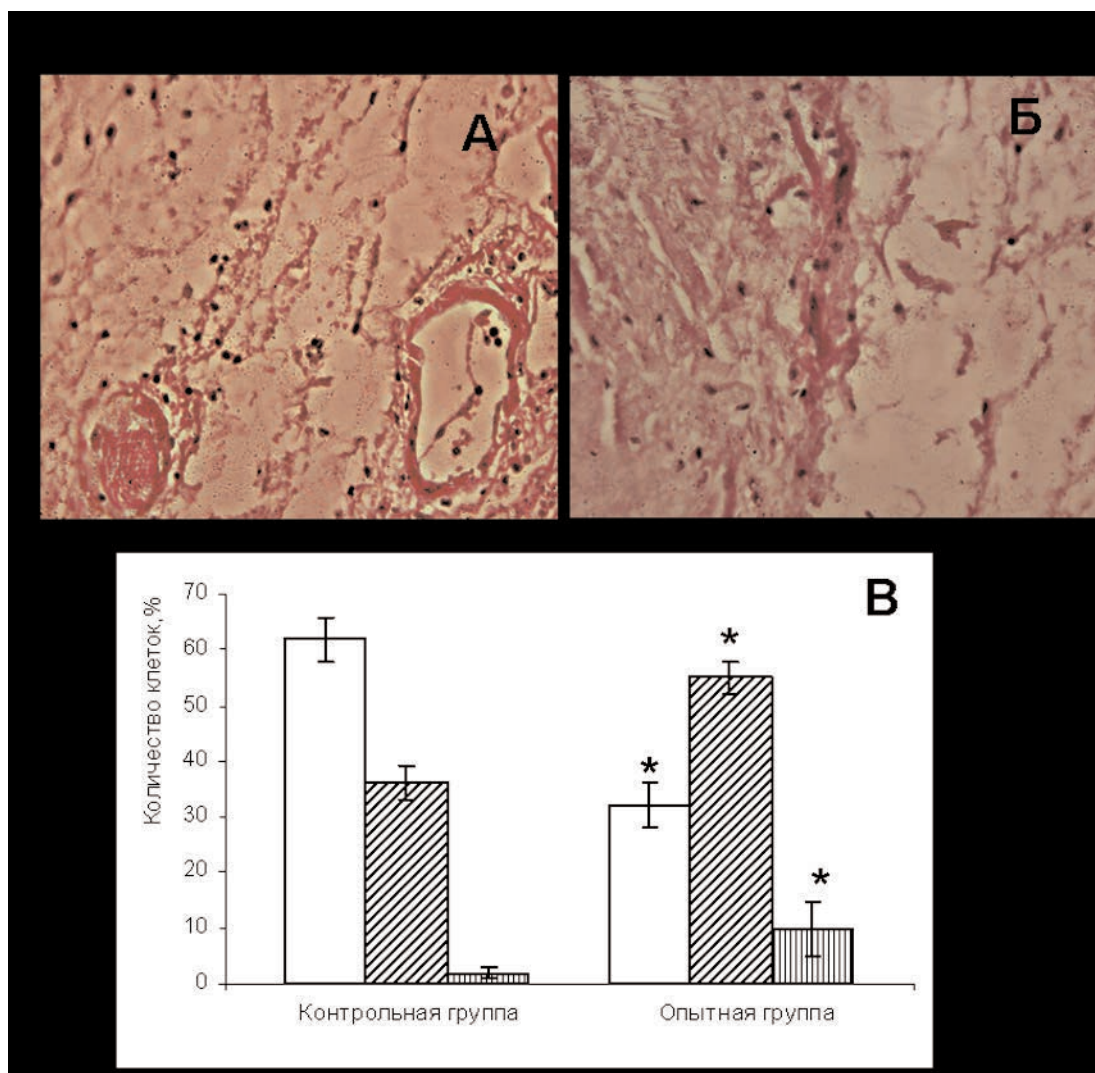


Рисунок 5.

Морфологические изменения подслизистой оболочки желудка у крыс на 3 сутки эксперимента (n=6).

А - Контрольная группа (введение пустых микрокапсул). Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$. Подслизистый слой разрушен, преобладают нейтрофилы.

Б - Опытная группа (введение микрокапсул с ЭПК). Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$. В подслизистом слое наблюдается рыхлая соединительная ткань, преобладают макрофаги.

В - Содержание клеток (%) на 3 сутки язвообразования в контрольной и опытной группах:

□ – нейтрофилы,

▨ – макрофаги,

▤ – фибробласты.

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

ЭКСТРАКТЫ РАСТЕНИЙ В БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МИКРОКАПСУЛАХ

Во второй серии экспериментов анализировали срезы образцов ткани, взятой в очаге язвообразования на 7 день после операции (рис. 6). Как видно из рисунка 6Б, в грануляционной ткани опытных животных преобладают ориентированные фибробластические элементы, около которых выявляется рыхлая сеть межклеточного матрикса. Отмечено снижение макрофагов (на 4,8%) (по сравнению с контрольной группой) и статистически достоверное снижение количества нейтрофилов (на 14,7%) и увеличение количества фибробластов (на 9,6%) (по сравнению с контрольной группой) (рис. 6В).

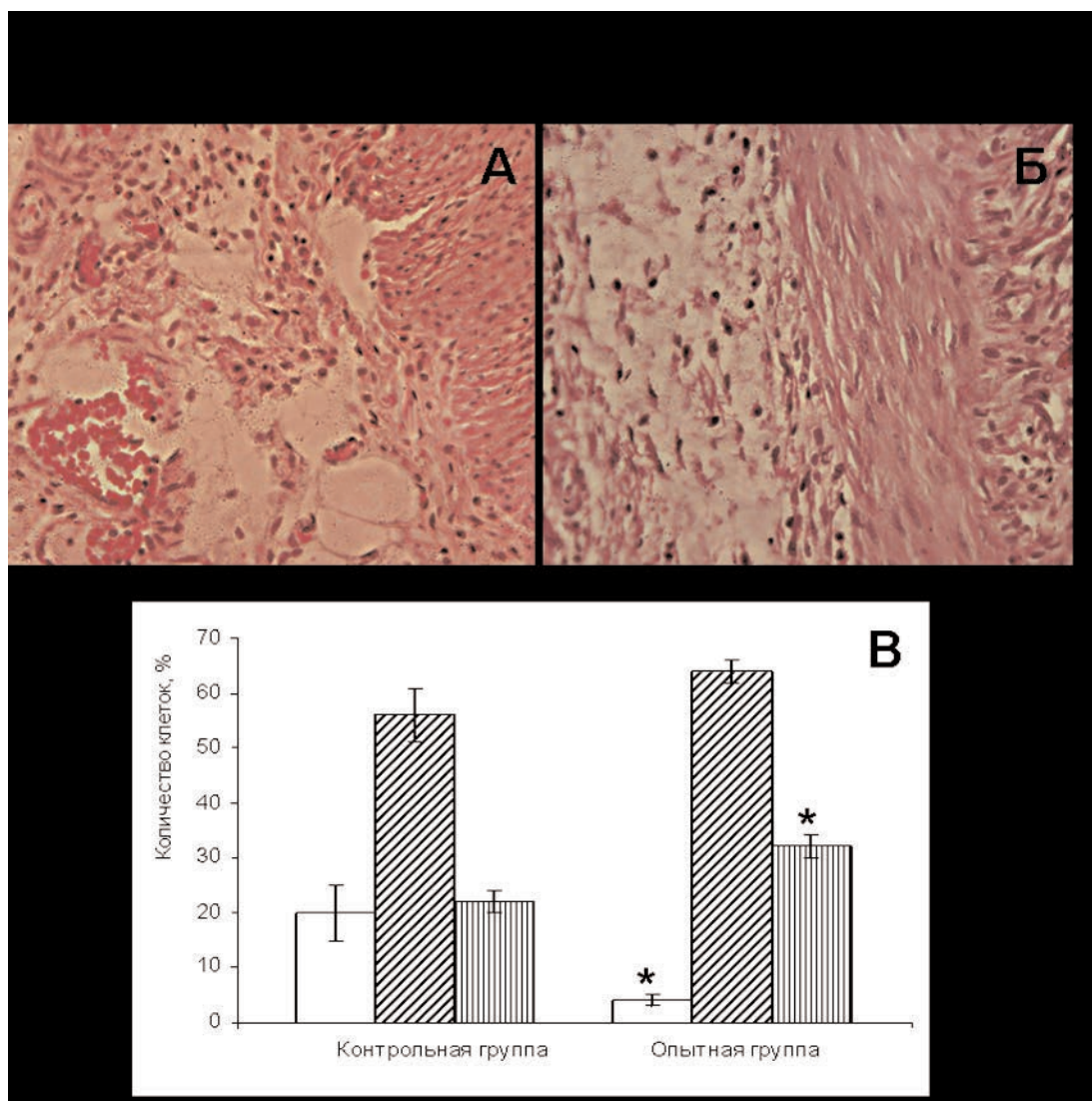


Рисунок 6.

Морфологические изменения подслизистой оболочки желудка у крыс на 7 сутки эксперимента (n=6).
А - Контрольная группа (введение пустых микрокапсул). Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$. В подслизистой оболочке желудка видны единичные коллагеновые волокна, преобладают макрофаги.
Б - Опытная группа (введение микрокапсул с ЭПК). Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$. В подслизистой оболочке видны коллагеновые волокна, преобладают макрофаги и фибробласты.

В - Содержание клеток (%) на 7 сутки заживления язв в контрольной и опытной группах.

- – нейтрофилы,
- ▨ – макрофаги,
- ▤ – фибробласты.

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что использование микрокапсулированного ЭПК при экспериментальной язве ускоряет пролиферацию фибробластов и формирование коллагеновых волокон, что способствует ускоренному процессу заживления повреждений слизистой желудка.

ЗАКЛЮЧЕНИЯ И ВЫВОДЫ. Проведенные исследования показали, что методом послойной адсорбции были получены микрокапсулы с иммобилизованными ЭПК. В качестве матрицы для получения ПЭ микрокапсул были использованы CaCO_3 микрочастицы, макропористая структура которых позволяет иммобилизовать достаточно высокие количества БАВ на их основе. Изучение способов иммобилизации ЭПК в CaCO_3 микрочастицы показало, что метод соосаждения обеспечивает более высокую эффективность включения, чем при сорбции.

Изучение кинетики выхода ЭПК в растворы ИЖС показало, что в присутствии пепсина наблюдается небольшое увеличение скорости выхода инкапсулированного соединения. Результаты позволяют сделать вывод о способности микрокапсул к биodeградации и возможности их использования для направленной доставки лекарственных препаратов в желудок.

Исследование *in vivo* влияния инкапсулированного экстракта на процесс репарации ткани показало, что в присутствии микрокапсул с ЭПК наблюдается ускорение процесса заживления подслизистой оболочки желудка у крыс. Таким образом, можно предположить, что исследованные нами микрокапсулы благодаря своим свойствам представляют собой исключительный интерес и могут найти применение для создания систем адресной доставки БАВ с их контролируемым высвобождением.

Работа выполнена при поддержке Научно-технической программы “Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний” на 2004-2006 г, финансируемой правительством г. Москвы. Авторы статьи благодарят DAAD (реферат 325, A/05/56841) и FEBS за финансовую поддержку аспирантки Бородиной Т.Н.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ладынина Е.А., Морозова Р.С. (1992) Лекарственные растения в медицине и в быту, Ставропольское книжное издательство, Ставрополь, с. 4-10.
2. Исагилов Р.Р., Костылев Д.А. (2000) Календула, БГАУ, Уфа.
3. Андреева Е.А. (2005) Лечение подорожником, Рипол Классик, Москва.
4. Donath E., Sukhorukov G.B., Caruso F., Davis S.A., Möhwald H. (1998) *Angewandte Chemie-International Edition*, **37**(16), 2202-2205.
5. Sukhorukov G.B., Donath E., Davis S., Lichtenfeld H., Caruso F., Popov V.I., Möhwald H. (1998) *Polymers for Advanced Technologies*, **9**, 759-767.
6. Balabushevich N.G., Tiourina O.P., Volodkin D.V., Larionova N.I., Sukhorukov G.B. (2003) *Biomacromolecules*, **4**, 1191-1197.
7. Tiourina O.P., Sukhorukov G.B. (2002) *Inter. J. Pharm.*, **242**, 155-161.
8. Itoh Y., Matsusaki M., Kida T., Akashi M. (2006) *Biomacromolecules*, **7**, 2715-2718.
9. Shenoy D.B., Antipov A.A., Sukhorukov G.B., Mohwald H. (2003) *Biomacromolecules*, **4**(2), 265-272.
10. Antipov A.A., Shchukin D., Fedutik Y., Petrov A.I., Sukhorukov G.B., Mohwald H. (2003) *Colloid. Surf.: Physicochem. Eng. Aspects*, **224**, 175-184.
11. Бобрешова М., Сухоруков Г.Б., Сабурова Е.А., Елфимова Л.И., Шабарчина Л.И., Сухоруков Б.И. (1999) *Биофизика*, **44**, 813-820.
12. Caruso F., Trau D., Mohwald H., Renneberg R. (2000) *Langmuir*, **16**, 1485-1488.
13. Antipov A.A., Sukhorukov G.B. (2004) *Adv. Coll. Interface Sci.*, **111**, 49-61.

ЭКСТРАКТЫ РАСТЕНИЙ В БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МИКРОКАПСУЛАХ

14. Sukhorukov G.B., Donath E., Moy S., Susha A.S. (2000) Microencapsulation, **17**(2), 177-185.
15. Berth G., Voigt A., Dautzenberg H., Donath E., Mohwald H. (2002) Biomacromolecules, **3**(3), 579-590.
16. Балабушевич Н.Г., Ларионова Н.И. (2004) Биохимия, **69**, 930-936.
17. Гольбрайх Л.С. (2001) Сорковский образовательный журнал, **7**, 51-56.
18. Volodkin D.V., Petrov A.I., Prevot M., Sukhorukov G.B. (2004) Langmuir, **20**, 3398-3406.
19. Petrov A.I., Volodkin D.V., Sukhorukov G.B. (2005) Biotechnol. Prog., **21**, 918-925.
20. Geest B.G., Vandenbrouse R.E., Guenther A.M., Sukhorukov G.B., Hennink W.E., Sanders N.N., Demeester J., Smedt S.C. (2006) Advance Materials, **18**, 1005-1009.
21. <http://infopravo.by.ru/fed1999/ch08/akt24128.shtm>
22. Okabe H.S., Roth J.L.A., Pfeiffer C.J. (1971) Amer. J. Digest. Dis., **16**, 277-284.
23. Markvicheva E., Stashevskaya K., Strukova S., Prudchenko I., Rusanova A., Makarova A., Vasilieva T., Bessalova J., Grandfils Ch. (2006) J. Drug Del. SCI. TECH., **16**(4), 321-325.
24. Antipov A.A., Shchukin D., Fedutik Y., Petrov A.I., Sukhorukov G.B., Möhwald H. (2003) Colloids Surf., **224**, 175-183.
25. Sukhorukov G.B., Volodkin D.V., Gynther A.M., Petrov A.I., Shenoy D.V., Möhwald H. (2004) J. Chem. Mater., **14**, 2073-2081.
26. Марквичева Е.А. (2002) В кн. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. (ред. Скрябин К.Г., Вихорева Г.А., Варламов В.П.), Наука, Москва, с. 315-327.
27. Michel G., Nyval-Collen P., Barbeyron T., Czjzek M., Helbert W. (2006) Appl. Microbiol. Biotechnol., **71**, 23-33.
28. Vishu Kumar A.B., Tharanathan R.N. (2004) Carbohydrate Polymers, **58**, 275-283.
29. Tao H., Wei W., Mao Y., Zhang S., Xia J. (2005) Anal. Sci., **21**, 1057-1061.
30. Worthington Enzyme Manual (1993) Worthington Biochemical Corporation, USA, pp. 288-289.

Поступила: 21. 06. 2007.

ENTRAPMENT OF HERBAL EXTRACTS IN BIODEGRADABLE MICROCAPSULES

T.N. Borodina^{1*}, L.D. Rumsh², S.M. Kunizhev¹, G.B. Sukhorukov³, G.N. Vorozhtsov⁴, B.M. Feldman⁴,
A.V. Rusanova⁵, T.V. Vasil'eva⁵, S.M. Strukova⁵, E.A. Markvicheva²

¹Stavropol State University, Stavropol, Russia

²Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Miklukho-Maklaya Str., 16/10, 117871, Moscow, Russia; tel.: +7(495) 336-06-00; fax: +7(495) 335-10-11; e-mail: lemark@ibch.ru

³Queen Mary University of London, London

⁴Federal State Unitary Enterprise "State Scientific Centre "NIOPIK", Moscow, Russia

⁵Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

The microcapsules with entrapped herbal water-soluble extracts *Plantago major* and *Calendula officinalis* L. (HE) were prepared by LbL-adsorption of carrageenan and modified chitosan onto CaCO₃ microparticles with their subsequent dissolving after the treatment of EDTA. Entrapment of HE was performed by adsorption and co-precipitation techniques. The co-precipitation provided better entrapment of HE compared to adsorption. *In vitro* release kinetics in an artificial gastric juice (AGJ) was studied. The HE release was shown to accelerate gastric ulcer treatment in a rat model.

Key words: microcapsules, herbal extracts, modified chitosan, carrageenan, pepsin, biodegradation, sustained drug release.