

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 615.577.1,577.121.2,577.115

©Коллектив авторов

### СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИКИ БИОДЕГРАДАЦИИ БИОПОЛИМЕРНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА

*А.П. Босхонджиев<sup>1\*</sup>, А.П. Бонарцев<sup>1,3</sup>, Т.К. Махина<sup>1</sup>, В.Л. Мышкина<sup>1</sup>,  
Е.А. Иванов<sup>1</sup>, Д.В. Багров<sup>3</sup>, Е.В. Филатова<sup>1</sup>, А.Л. Иорданский<sup>1,2</sup>, Г.А. Бонарцева<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Институт Биохимии им. А.Н. Баха РАН Москва, 119071,  
Ленинский проспект, д. 33, стр. 2; тел.: (495) 954-40-08; эл. почта: bonar@inbi.ras.ru

<sup>2</sup>Институт Химической Физики им. Н.Н. Семенова РАН;

<sup>3</sup>Биологический факультет Московского Государственного Университета  
им. М.В. Ломоносова

Целью настоящей работы является регистрация и сопоставление долгосрочных кинетических кривых биodeградации поли-3-оксибутирата (ПОБ), его сополимера с 3-оксивалератом, а также композита ПОБ с полилактидом. В качестве показателей степени биodeградации использовали суммарную потерю массы образца и изменение средневязкостной молекулярной массы. Скорость биodeградации анализировали в присутствии липазы *in vitro* и при имплантации пленок в ткани животных *in vivo*. Для изучения морфологии поверхности пленок ПОБ использовали метод атомно-силовой микроскопии. Было показано, что биodeградация ПОБ осуществляется как за счет гидролиза биополимера, так и путем его ферментативной биодеструкции. Полученные результаты могут быть использованы при разработке медицинских изделий на основе ПОБ.

**Ключевые слова:** полиоксиканоаты (ПОА), поли-3-оксибутират (ПОБ), сополимер 3-оксибутирата с 3-оксивалератом (ПОБВ), полилактиды (ПЛА), биodeградация, биополимерная система.

**ВВЕДЕНИЕ.** Бактериальные полиоксиканоаты (ПОА) и основной их представитель – поли-3-оксибутират (ПОБ) - создают конкурентную альтернативу традиционным синтетическим полимерам, таким как полипропилен, полиэтилен, полиэферы и т.п. Благодаря удачному сочетанию биосовместимости и способности к биоразложению они широко используются в различных медицинских материалах и изделиях, предназначенных для долгосрочного имплантирования и контакта с кровью и тканями живых организмов. Эти полимеры, как правило, нетоксичны, сырьевые ресурсы их производства возобновляемы, не зависят от добычи углеводородов и, главное, продукты их распада (диоксид углерода, вода и для ПОБ - оксимасляная кислота) не оказывают отрицательного воздействия на организм [1-5].

Известно, что по сравнению с другими распространенными биodeградируемыми полиэфирами (полилактидами, полигликолидами или их сополимерами) ПОБ и его производные разлагаются в организме с более низкой скоростью и поэтому риск интоксикации продуктами биodeградации, накапливаемыми вблизи имплантата, для данного класса полимеров существенно ниже [6].

Использование сополимеров ПОБ, чаще всего это сополимеры оксибутирата и оксикалората, позволяет улучшить эксплуатационные характеристики высоко

\* - адресат для переписки

кристаллического ПОБ, такие как хрупкость, жесткость, снизить температуру переработки. Кроме того, сами эти сополимеры ПОБ с 3-оксивалератом [7], 3-оксигексаноатом [6], 3-оксиоктаноатом [8] и др. обладают улучшенными термическими и механическими свойствами и, главное, расширяют спектр медицинских материалов/изделий.

Для прогнозирования состояния ПОБ и его производных в организме необходимо изучение кинетики и механизма их гидролитической и ферментативной биодеструкции. Поскольку история подобных исследований не насчитывает и 25 лет, проблемы биоразложения аморфных и кристаллических областей полимеров достаточно далеки от конечного разрешения. Помимо крайне редких классических работ по исследованию биодеградации ПОБ [9], в последнее время в зарубежной литературе появилось ряд обстоятельных публикаций, посвященных механизму биоразложения ПОБ и некоторых его сополимеров [6-7, 9-11], однако кинетические исследования биодеградации, особенно при длительных временах экспозиции (инкубации) встречаются крайне редко [6]. Поэтому целью настоящей работы является регистрация и сопоставление долгосрочных кинетических кривых биодеградации ПОБ, его сополимера с валератом, а также композита ПОБ с полилактидом (ПЛА). Для сравнения аналогичные кинетические кривые были исследованы для чистого ПЛА, что позволяет сопоставить скорости биоразложения для наиболее распространенных в настоящее время биополимеров медицинского назначения. Кроме того, значительное внимание уделяется влиянию исходной ММ на скорость деградации полимеров.

**МЕТОДИКА.** В работе были использованы следующие реактивы: полилактиды (Fluka, ММ (мол. масса) = 42,4 и 388,7 кДа), натрий фосфорнокислый 1-замещенный ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , ХИММЕД, ММ=121), трис $\cdot\text{HCl}$  ( $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ , ММ=121,1, Serva, Германия), азид натрия ( $\text{NaN}_3$ , Sigma-Aldrich, США), липаза из поджелудочной железы свиньи ( $A = 20 \text{ U/mg}$ , ММ = 50 кДа, KMF Laborchemie Handels GmbH, Германия), хлороформ (трихлорметан  $\text{CHCl}_3$ , ЗАО “ЭКОС-1”), соляная кислота ( $\text{HCl}$ , “осч 20-4”, ХИММЕД), натрий гидроокись ( $\text{NaOH}$ , хч, ХИММЕД), тиопентал натрия ( $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$ , Biochemi GmbH, Kundle, Австрия). В хирургических операциях использовали хирургические нити (шелковая плетеная нить 4/0, Володь, РФ).

В процессе биохимического синтеза ПОБ использовали высокопродуктивный штамм-продуцент ПОБ *Azotobacter chroococcum* 7Б, способный синтезировать до 80% ПОБ от сухого веса клеток. Коллекционные штаммы *Azotobacter* поддерживали на среде Эшби. Для достижения высокой продуктивности клеток культуру выращивали на среде Берка в условиях избыточного содержания источника углерода в среде [12, 13]. Выделение и очистка полимера из биомассы *Azotobacter chroococcum* описаны в работе [13, 14] Определение содержания ПОБ в клетках проводили по методу Zevenhuisen [15].

Исходные молекулярные массы полимеров и их изменения определяли методом вискозиметрии. Измерения вязкости раствора ПОБ в хлороформе проводили при 30°C. Молекулярную массу вычисляли по уравнению Марка - Хаувинка - Куна, используя следующее степенное уравнение с приведёнными числовыми коэффициентами [16].

$$[\eta] = 7,7 \times 10^{-5} \times M^{0,82}$$

где  $[\eta]$  - приведенная вязкость раствора ПОБ и М - средневязкостная молекулярная масса биополимера.

Образцы были ранее охарактеризованы типом кристаллической решетки и степенью кристалличности полимера [17].

Микрофотографии поверхности пленок ПОБ были получены методом атомно-силовой микроскопии. Для исследования пленок ПОБ использовали атомно-силовой микроскоп Solver PRO-M (Зеленоград). Исследуемый кусочек пленки размером  $\sim 2 \times 2 \text{ мм}^2$  закрепляли на держателе двухсторонним скотчем. Сканирование проводили в полуконтактном режиме с использованием

кантилеверов NSG01 (типичная жесткость 5,1 Н/м), частота сканирования составляла 1-3 Гц, размер кадров от 3×3 до 20×20 мкм<sup>2</sup>.

Для изучения гидролиза и биodeградации в условиях *in vitro* и *in vivo* была получена серия пленок из ПОБ толщиной 40 мкм диаметром 30 мм, разной ММ: 159 кДа (условно обозначенной как 150), 329 кДа (условно обозначенной как 300), 463 кДа (условно обозначенной как 450), 987 кДа (условно обозначенной как 1000), 1482 кДа (условно обозначенной как 1500) и сополимер 3-оксибутирата с 3-оксивалератом (ПОБВ) с ММ = 1056 кДа. Дополнительно была изучена деградация *in vitro* серии пленок из полилактидов (ПЛА) толщиной 40 мкм, разной ММ 40 и 400 кДа. Кроме того, был получен композит ПОБ с ПЛА. Высокомолекулярный ПОБ (ММ = 1000 кДа) и низкомолекулярный ПЛА (ММ = 40 кДа) в соотношении полимеров 1:1 по массе были растворены совместно в хлороформе, после чего были получены пленки композита. Пленки композиции и образцов полимеров были приготовлены путем испарения растворителя (хлороформа) на стеклянной подложке. Вес пленок составлял 50-70 мг. Степень потери веса полимера в результате деструкции определяли гравиметрически на весах AL-64 (Max=60 г, d=0,1 мг, Acculab, США).

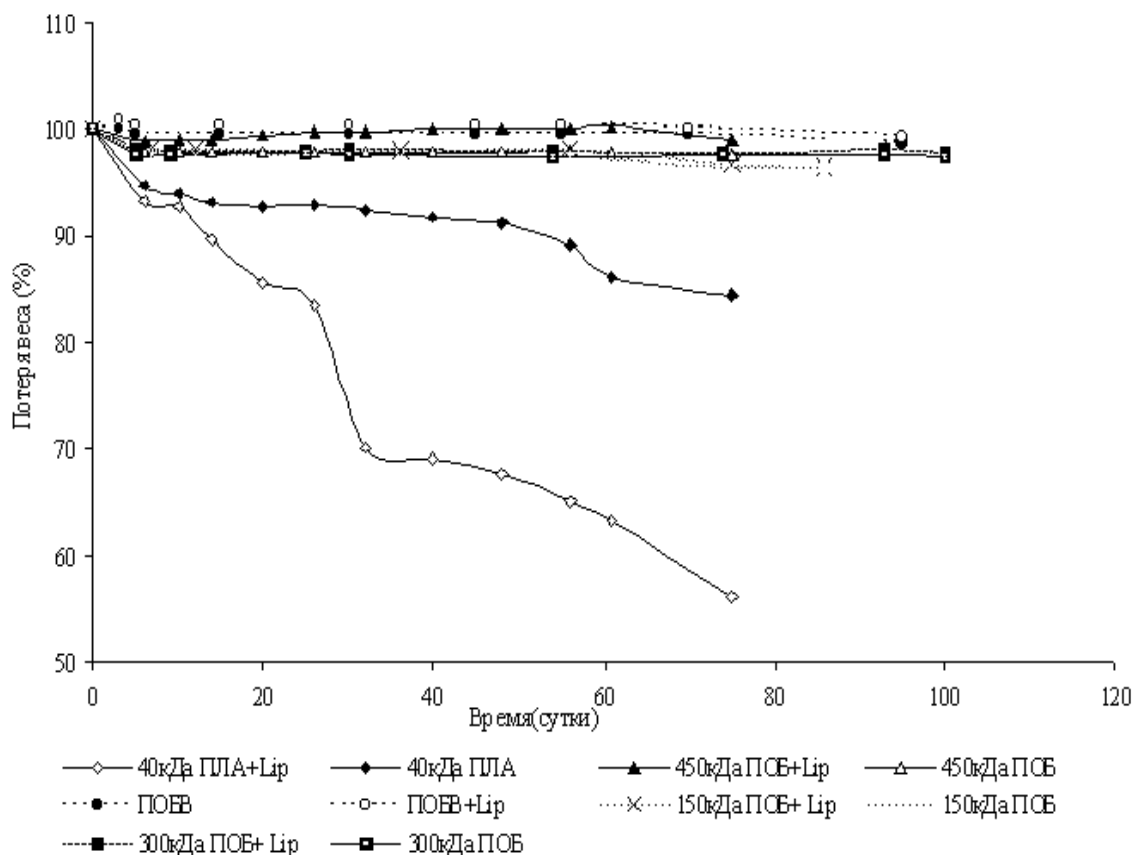
Для измерения гидролитической деструкции пленок ПОБ, ПЛА, ПОБВ и композита ПОБ и ПЛА они инкубировались в буферном растворе трис (100 мМ, pH = 7,7) при 37° в термостате (ЕС 1/80 СПУ, РФ) в течение 83 дней. Контроль pH проводили с использованием pH-метра (Orion 420+, Thermo Electron Corporation, США). Для измерения веса полимера, пленки каждые 3 сут. вынимали из буферного раствора и высушивали. Затем плёнки помещали в термостат на 1 час при температуре 70°С, после чего взвешивали на весах (ошибка измерения d=0,1 мг). Для изучения биодеструкции *in vitro* пленки ПОБ и ПОБВ инкубировали в буферном растворе трис (100 мМ, pH = 7,7) при 37°С с добавлением 10 мг/мл липазы (из поджелудочной железы свиньи, А = 20 U/мг, ММ = 50 кДа) в течение 3 месяцев. В буферный раствор добавляли азид натрия (NaN<sub>3</sub>) 2 г/л для ингибирования роста микроорганизмов и предотвращения их вклада в биодеструкцию. Замену буфера в пробирках производили каждые 3 суток в экспериментах с фосфатным буфером и 2 суток в экспериментах с липазой [10]. Перед измерениями пленки обрабатывали 0,1% SDS в дистиллированной воде в течение 2 часов, отмывали детергент водой и высушивали.

Для оценки биodeградации ПОБ и ПОБВ *in vivo*, пленки толщиной 40 мкм, размером 15×15 мм помещали подкожно на брюшину самцам крыс линии Wistar в течение 180 дней [7]. Предварительно пленки дезинфицировали автоклавированием и дополнительно обрабатывали спиртом и дистиллированной водой перед их непосредственной имплантацией. Крысам внутрибрюшинно вводили раствор тиопентала натрия из расчета 5 мг на 100 грамм массы животного, и ждали наступления хирургической стадии наркоза. Введение пленок выполнялось в строго асептических условиях. Шерсть удалялась выщипыванием в области брюха, затем кожу двукратно обрабатывали 70% спиртом. В продольном направлении производилось рассечение кожи до 1 см., затем производилась сепарация кожи и слабо выраженной подлежащей подкожной клетчатки от брюшины. На выделенный участок тканей помещали 1 имплантат на 1 крысу. Фиксацию плёнок к тканям не проводили. Имплантация заканчивалась наложением швов на кожу нитью Волоть 4/0 и обработкой раны 70% спиртом и йодом. На 7, 14, 30, 90 и 180 сутки животных выводили из эксперимента. Пленки обрабатывали 0,1% SDS в дистиллированной воде в течение 2 часов, отмывали детергент водой, высушивали и измеряли массу пленок и молекулярную массу полимера в процессе биодеструкции. В экспериментах использовалось 150 животных. При послеоперационном контроле состояния животных ни в одном случае не было отмечено отторжения имплантируемых образцов. Для всех полимеров исследование внутренних органов не выявило отличий между контрольной и опытными группами животных.

# РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

*Кинетика биодеструкции ПОБ и его производных in vitro.*

Изучение кинетики ферментативной деградации ПОБ *in vitro* является важным шагом на пути к пониманию механизма распада ПОБ в тканях животных и в окружающей среде. В литературе обычно сообщается об исследованиях деградации ПОБ под влиянием бактериального фермента - ПОБ-деполимеразы. Так, например, результаты по ферментативной деградации ПОБ под действием ПОБ-деполимеразы были подробно описаны в обзоре Sudesh и соавт. [18]. Следует отметить, что ПОБ-деполимераза достаточно специфичный фермент и её воздействие на ПОБ представляет редкую и нетипичную ситуацию. В реальной ситуации в тканях животных и даже в окружающей среде ферментативная деградация ПОБ происходит, главным образом, под влиянием неспецифических эстераз [18,19]. Здесь нами были проведены две серии экспериментов: *in vitro* (плёнки инкубировали в буфере трис с добавлением липазы) и *in vivo* (плёнки имплантировали подкожно крысам). В эксперименте *in vitro* были исследованы полимеры ПЛА 40 кДа, ПОБ с ММ 150, 300 и 450 кДа, а также из ПОБВ (рис. 1). После 95 дней инкубации разницы между влиянием липазы и контрольной группы (трис без добавления липазы) на потерю веса пленок из ПОБ и ПОБВ практически не было заметно. Напротив, после 75 суток ПЛА под действием липазы терял 54% от первоначального веса, тогда как в контрольной группе потеря веса ПЛА составляла всего 15%.



**Рисунок 1.**

Инкубация пленок из ПОБ, ПЛА, ПОБВ в Трис буфере с липазой (+Lip) и в её отсутствии *in vitro* при 37°C pH=7,7.

Известно, что ферментативная деградация пленок ПОБ является двухступенчатой гетерогенной реакцией, состоящей из адсорбции фермента и собственно его каталитического воздействия на функциональные (сложноэфирные)

группы биополимера [20]. На первом этапе происходит адсорбция фермента на поверхности ПОБ при участии его специфических доменов, а затем происходит гидролиз полиэфирных цепей активным центром фермента. Кроме того, дополнительный вклад в разрыв полимерных цепей может вносить гидролитическая деструкция, поэтому в качестве контроля нами была изучена гидролитическая деструкция полимера в буфере трис.

После внедрения имплантата ПОБ в организм животного наблюдаются воспалительно-репаративные изменения, которые приводят к образованию капсулы, сформированной новой соединительной тканью (в нашем случае см. ниже (рис. 2). Поэтому особенность биодegradации полимера *in vivo* заключается в том, что распад ПОБ происходит внутри капсулы. Известно, что основными клеточными элементами, участвующими в деструкции инкапсулированного полимера, являются макрофаги и гигантские клетки инородных тел (ГКИТ). В эксперименте *in vivo* наблюдалось почти полное рассасывание полимера на 4 месяц после имплантации ММ 450 кДа (рис. 3). К этому времени начальный вес пленки у полимеров 1000 и 1500 кДа уменьшалась на 93% и 83%, соответственно. Эти эксперименты подтвердили еще раз, что разрушение ПОБ происходит значительно быстрее в организме животного, чем в условиях *in vitro*, что объясняется преимущественно наличием в организме большего числа неспецифических эстераз, способных расщеплять полимер. Было показано, что неспецифические эстеразы, в частности липаза-1 и липаза-2 экспрессируются и продуцируются макрофагами и ГКИТ в ответ на имплантацию изделий на основе ПОБ [20]. Вклад неспецифических эстераз, макрофагов и ГКИТ в биодegradацию ПОА был продемонстрирован многими исследователями [21-23].

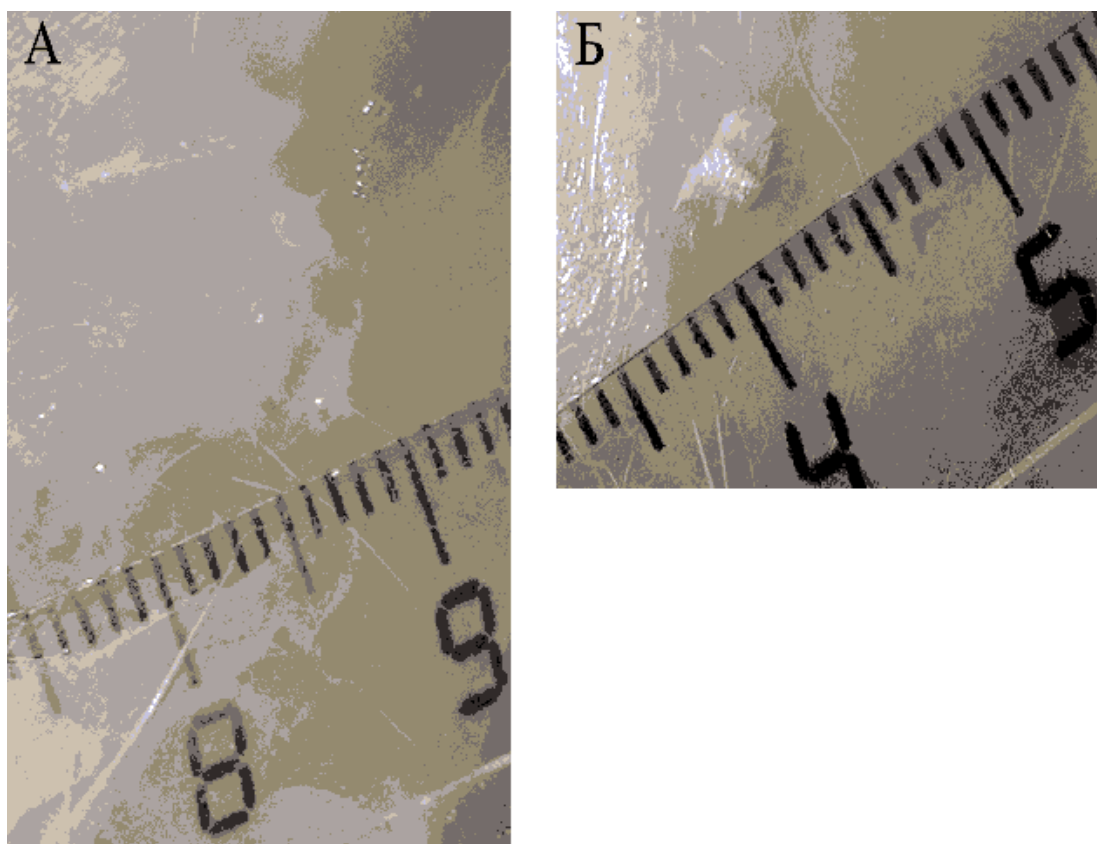
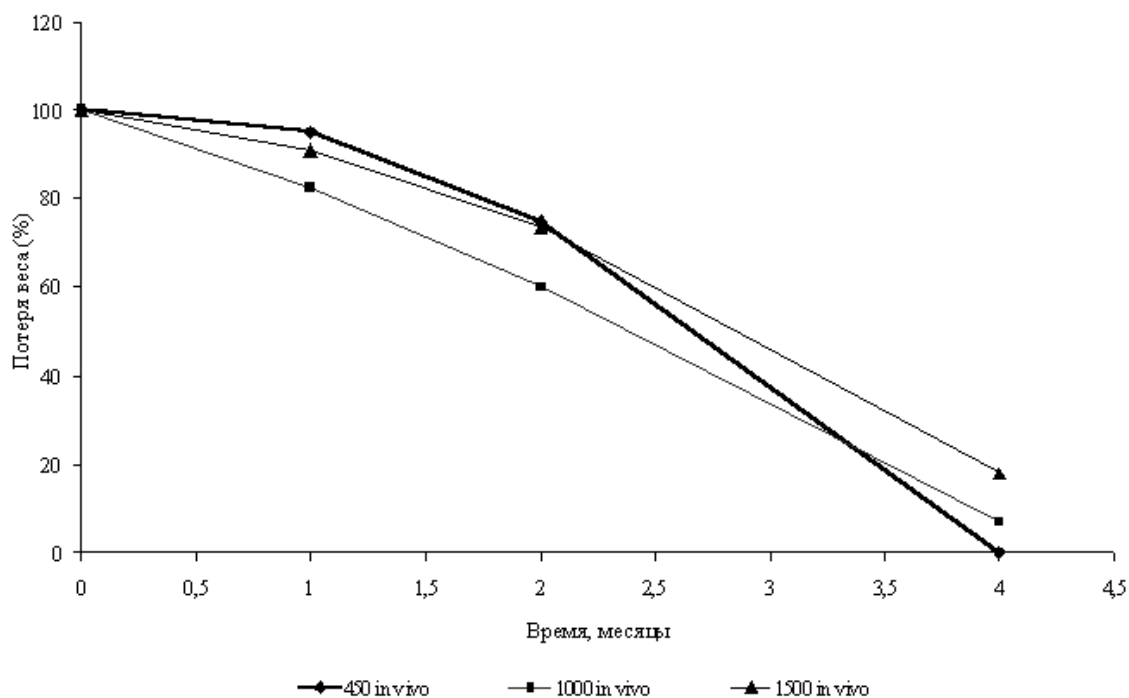


Рисунок 2.

Фотография частично деструктировавшей пленки 450 кДа ПОБ, имплантированной подкожно - *in vivo* в крысе А через 2 недели, Б через 6 месяцев.





**Рисунок 3.**

Сравнительная деградация пленок из ПОб (450, 1000 и 1500 кДа) *in vivo* при подкожной имплантации крысам линии Wistar.

#### *Изменение молекулярной массы ПОб и ПОБВ.*

В эксперименте по изучению ферментативной деструкции *in vitro*, когда пленки инкубировались в буфере Tris при 37°C и pH=7,7 с добавлением липазы (длительность 83 суток), видно значительное уменьшение ММ ПОб и ПОБВ в пробах с липазой по сравнению с контролем (рис. 4). Так ММ полимера снижалась на 16,98% со 159 кДа до 132 кДа в контроле и на 34,6% до 104 кДа с добавлением липазы, на 19,45% с 329 кДа до 265 и на 53,5% до 153 кДа, на 33,91% с 463 до 306 и на 70,4% до 137 кДа, валерат на 47,82% с 1056 до 551 кДа и на 75,09% до 263 кДа соответственно. Из сопоставления этих результатов с результатами предыдущих разделов можно заключить, что уменьшение ММ не вызывает снижения общей массы пленок. Этот эффект можно объяснить тем, что липаза, имея достаточно малый размер, способна проникать в объем полимерной матрицы ПОб и ПОБВ, тем самым, увеличивая площадь ферментативной атаки. Поэтому общая скорость реакции между субстратом и ферментом также растет, но продукты реакции, вследствие их высокой ММ, низкой растворимости в воде и стерических затруднений не могут десорбироваться из полимерного объема образцов.

Дополнительно нами было измерено изменение ММ ПОб 450, 1000, и 1500 *in vivo* через 1 месяц после имплантации (рис. 5). Как и в экспериментах *in vitro* здесь также наблюдалось снижение ММ образцов. Снижение ММ двух образцов с ПОб 450 и 1000 кДа в организме животного составляло 215 и 436 кДа соответственно, т.е. заметно выше, чем в условиях *in vitro* в буфере.

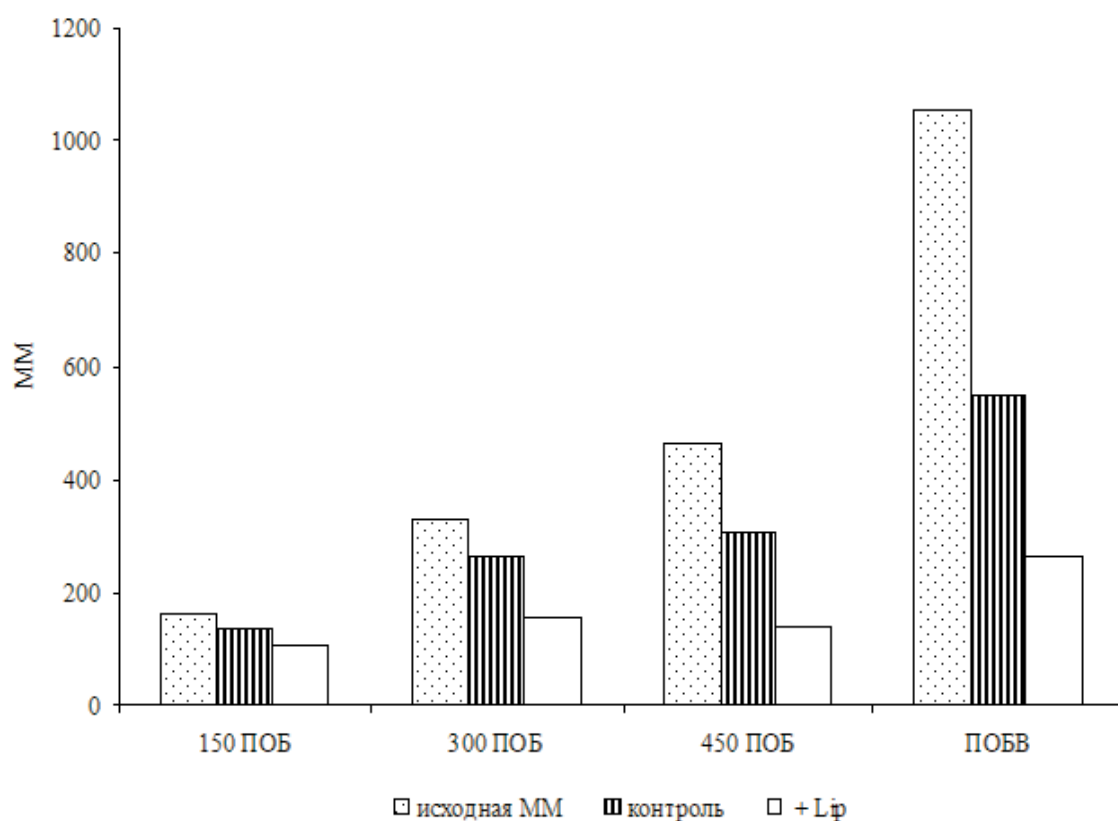


Рисунок 4.

Изменение значения ММ ПОБ (150, 300 и 450 кДа) и ПОВВ через 83 дня в трис буфере *in vitro* с липазой (+Lip) и в ее отсутствии при 37°C pH=7,7.

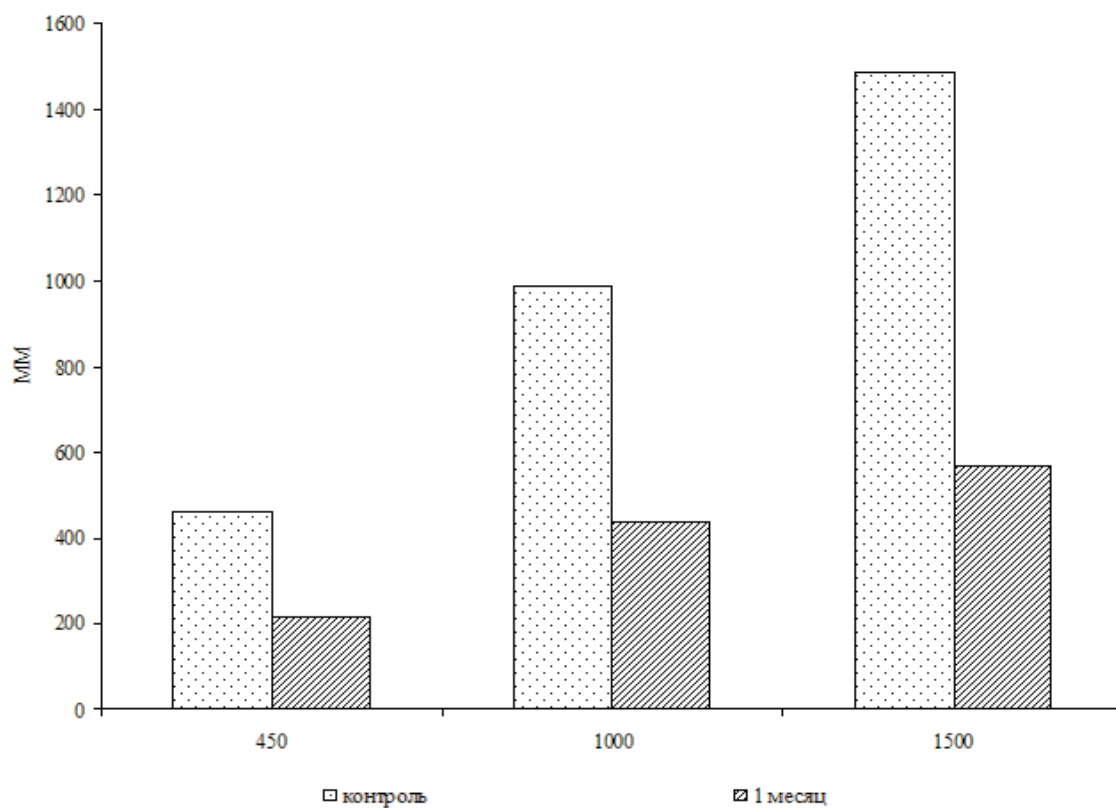
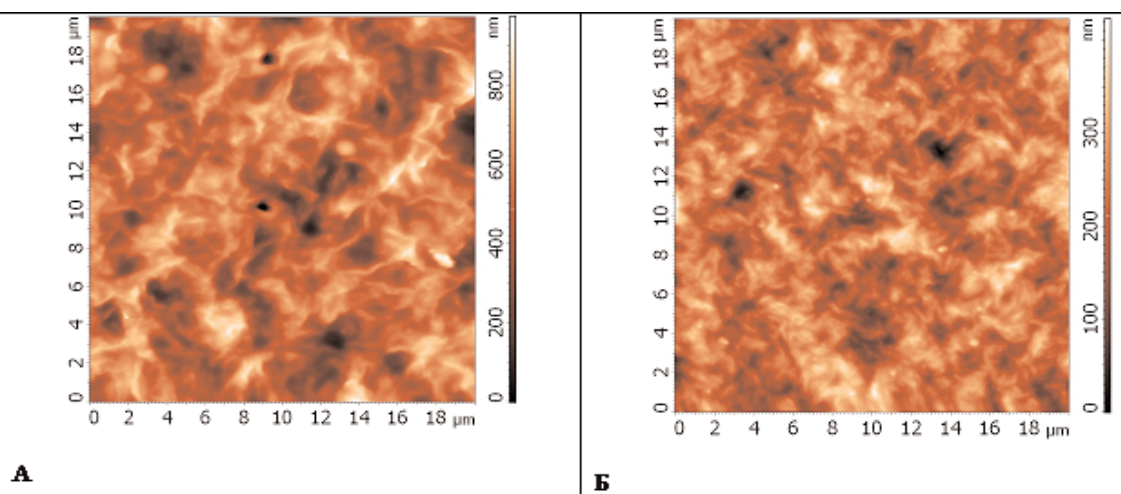


Рисунок 5.

Изменение ММ ПОБ (450, 1000 и 1500 кДа) в организме животного через 1 месяц после имплантации.

*Анализ поверхности пленок ПОБ методом атомно-силовой микроскопии.*

Морфологию, структуру и шероховатость поверхностей пленок ПОБ, подвергнутых воздействию различных коррозионных (фосфатный буфер, раствор NaOH) и биологически активных (липаза) сред, исследовали методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). На рисунке 6 в качестве контрольного образца был выбран образец ПОБ с ММ = 150 кДа, полученный при формировании на стеклянной подложке из раствора полимера в хлороформе. Такой метод получения пленок предполагает возможное различие в структуре/морфологии поверхностей, прилегающих к стеклу или обращенных к воздуху. Действительно, как это видно из рисунка 6, одна из сторон, обращенная на воздух, шероховатая (рис. 6А), с множеством пор глубиной 500-700 нм. Поверхность покрыта переплетающимися выступами шириной 200-400 нм и длиной 1-2,5 мкм, которые, возможно, представляют собой кристаллические области. Обратная сторона пленки, обращенная к стеклу, (рис. 6Б) наблюдается менее рельефная морфология, для которой характерная глубина пор составляет менее 100 нм.



**Рисунок 6.**

Воздействие липазы на поверхности пленки ПОБ в течение 83 суток. А - поверхность (150 кДа) образца, в процессе приготовления обращенная к воздуху, Б - противоположная поверхность, контактировавшая со стеклом.

Различия между сторонами становятся особенно наглядными при сравнении параметров шероховатости. Для описания поверхности образцов вычисляли два параметра шероховатости: средняя шероховатость и среднеквадратичная шероховатость. Эти параметры вычисляли по трем кадрам 20×20 мкм<sup>2</sup>, в каждом кадре 512×512 точек. Кроме того, обычно с каждого образца были получены несколько кадров с лучшим разрешением (например, 5×5 мкм<sup>2</sup>, 512×512 точек) для более детального описания поверхности.

Таким образом, анализ шероховатости различных поверхностей одной и той же пленки показывает, что средняя и среднеквадратичная шероховатости плоскостей, обращенных к воздуху и стеклу, отличаются приблизительно в десять раз. Подобные различия связаны с условиями десорбции растворителя (хлороформа) из формируемых образцов ПОБ. В случае испарения хлороформа с поверхности в окружающую воздушную среду поток растворителя формирует дополнительные каналы - поры, которые фиксируются по мере затвердевания и кристаллизации образца. В то же время, морфология ПОБ на противоположной поверхности менее подвержена воздействию транспорта растворителя и обусловлена поверхностной энергетикой (поверхностным натяжением) на границе стекло-ПОБ. Именно



поэтому морфология, размер пор и шероховатость поверхности, обращенной к воздуху, определяются условиями испарения растворителя, такими как температура, скорость десорбции хлороформа, скоростью формирования кристаллических областей, препятствующих диффузии хлороформа в полимере. Напротив, при фиксированном химическом составе стеклянной матрицы (подложки) и неизменном химическом составе ПОБ энергетика поверхности стекло-полимер будет менее зависима от вышеприведенных факторов. Поэтому в дальнейшем мы будем стараться использовать в качестве стандарта поверхность ПОБ, обращенную в сторону стекла.

Помещение образца ПОБ в буферный раствор (трис) в течение длительного времени (83 суток) приводит к троекратному возрастанию шероховатости на поверхности, ранее обращенной к стеклу, и практически не влияет на шероховатость и морфологию противоположной поверхности (табл.). Для выявления действия липазы на поверхность пленок ПОБ были исследованы образцы, обработанные липазой в буфере трис в течение 83 суток при 37°C (рис. 6).

Таблица. Параметры шероховатости пленок ПОБ.

Образец	Поверхность контакта	$R_a$ , нм	$R_q$ , нм
Исходный	воздух	130±10	165±10
Исходный	стекло	15±2	20±1
После контакта с буфером, 37°C	воздух	135±5	166±7
После контакта с буфером, 37°C	стекло	46±2	59±1
После контакта с липазой, 37°C	воздух	127±7	161±11
После контакта с липазой, 37°C	стекло	48±2	60±2

Для плёнки, обработанной липазой, как и у контрольной пленки, стороны заметно различались по морфологии (рис. 6) и по шероховатости (табл.). В то же время, при сопоставлении этих характеристик для образцов, обработанных липазой, с аналогичными характеристиками образцов, обработанных только буфером трис на исследованных площадях (размер кадров от 5×5 мкм до 20×20 мкм) существенных различий не обнаружено. Как видно из таблицы, значения параметров шероховатости пленок после контакта с раствором липазы и буферным раствором при 37°C близки. Отсюда можно сделать предварительный вывод, что начальная стадия гидролиза ПОБ как в присутствии, так и в отсутствии фермента развивается, преимущественно, в объемной области. Причем, менее пористая структура поверхности полимера, обращенная к стеклу, см. рисунки 2Б и 6Б подвергается большим изменениям, т.к. представляет диффузионный барьер для проникновения фермента в объем ПОБ. Здесь наряду с объемными процессами протекает и поверхностный гидролиз. Напротив, поверхность, обращенная к воздуху с высокопористой морфологией, такого барьера не образует, и мы имеем дело с односторонней диффузией молекулы липазы в объем полимерного образца. Кинетический аспект ферментативного гидролиза будет представлен в дальнейшей работе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного Контракта №02.512.12.2004 от 10 июня 2008 г. Федерального агентства по науке и инновациям РФ. Авторы выражают благодарность проф. Шайтану К.В. и акад. Кирпичникову М.П. за полезные обсуждения и поддержку работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Bonartsev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Zaikov G.E.* (2008) *Polymers Res. J.*, **2**, 127-160.
2. *Williams D.* (2005) *Medical Device Technology*, **16**, 9-10.
3. *Chen G.Q., Wu Q.* (2005) *Biomaterials*, **26**, 6565-6578.
4. *Lenz R.W., Marchessault R.H.* (2005) *Biomacromolecules*, **6**, 1-8.
5. *Anderson A.J., Dawes E.A.* (1990) *Microbiol. Rev.*, **54**, 450-472.
6. *Qu X.H., Wu Q., Zhang K.Y., Chen G.Q.* (2006) *Biomaterials*, **27**, 3540-3548.
7. *Miller N.D., Williams D.F.* (1987) *Biomaterials*, **8**, 129-137.
8. *Fostera L.J.R., Sanguanchaipaiwong V., Gabelisha C.L., Hookc J., Stenzel M.* (2005) *Polymer*, **46**, 6587-6594.
9. *Gogolewski S., Jovanovic M., Perren S.M., Dillon J.G., Hughes M.K.* (1993) *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 1135-1148.
10. *Freier T., Kunze C., Nischan C., Kramer S., Sternberg K., Sass M., Hopt U.T., Schmitz K.P.* (2002) *Biomaterials*, **23**, 2649-2657.
11. *Kunze C., Bernd E.H., Androsch R., Nischan C., Freier T., Kramer S., Kramp B., Schmitz K.P.* (2006) *Biomaterials*, **27**, 192-201.
12. *Бонарцева Г.А., Мышкина В.Л., Загреба Е.Д., Николаева Д.А.* (2001) Патент на изобретение № 2201453 от 18.10.2001.
13. *Бонарцева Г.А., Загреба Е.Д., Мышкина В.Л., Фурина Е.К.* (2001) Патент на изобретение № 2194759 от 18.10.2001.
14. *Бонарцева Г.А., Мышкина В.Л., Николаева Д.А., Ребров А.В., Герасин В.А., Махина Т.К.* (2002) *Микробиология*, **71**, 258-263.
15. *Zevenhuisen L.P., van Leeuwenhoek A.J.* (1981) *Microbiol. and Serol.*, **47**, 481-497.
16. *Akita S., Einada Y., Miyaki Y., Fugita H.* (1976) *Macromol.*, **9**, 774-780.
17. *Ребров А.В., Дубинский В.А., Некрасов Ю.П., Бонарцева Г.А., Stamm M., Антипов Е.М.* (2002) *Высокомолекулярные соединения*, **44**, 347-351.
18. *Sudesh K., Abe H., Doi Y.* (2000) *Prog. Polym. Sci.*, **25**, 1503-1555.
19. *Saito T., Tomita K., Juni K., Ooba K.* (1991) *Biomaterials*, **12**, 309-312.
20. *Lobler M., Sass M., Kunze C., Schmitz K.P., Hopt U.T.* (2002) *Biomaterials*, **23**, 577-583.
21. *Shishatskaya E.I., Volova T.G., Gordeev S.A., Puzyr A.P.* (2005) *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **16**, 643-657.
22. *Malm T., Bowald S., Karacagil S., Bylock A., Busch C.* (1992) *Scand. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **26**, 9-14.
23. *Hoshino A., Isono Y.* (2002) *Biodegradation*, **13**, 141-147.

Поступила: 29. 05. 2009.

**A COMPARATIVE STUDY OF BIODEGRADATION KINETICS OF BIOPOLYMER SYSTEMS BASED ON POLY(3-HYDROXYBUTYRATE)**

*A.P. Boskhomdzhiyev<sup>1</sup>, A.P. Bonartsev<sup>1,3</sup>, T.K. Makhina<sup>1</sup>, V.L. Myshkina<sup>1</sup>, E.A. Ivanov<sup>1</sup>, D.V. Bagrov<sup>3</sup>, E.V. Filatova<sup>1</sup>, A.L. Iordanskii<sup>1,2</sup>, G.A. Bonartseva<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>A.N. Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 33, Moscow, 117071 Russia; tel.: (495) 954-40-08; e-mail: bonar@inbi.ras.ru

<sup>2</sup>N.N. Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences

<sup>3</sup>Faculty of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University

The aim of this study was to evaluate and to compare of long-term kinetics curves of biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate) (PHB), its copolymer poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), and PHB/polylactic acid blend. The total weight loss and the change of average viscosity molecular weight were used as an index of biodegradation degree. The rate of biodegradation was analyzed *in vitro* in presence of lipase and *in vivo* when the films were implanted in animal tissues. The morphology of PHB films surface was studied by atomic force microscopy technique. It was shown that biodegradation of PHB is occurred by means of as polymer hydrolysis, and as its enzymatic biodegradation. The obtained data can be used for development of medical devices on the base of PHB.

**Key words:** polyhydroxyalkanoates (PHA), poly(3-hydroxybutyrate) (PHB), poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV), polylactic acid (PLA), biodegradation, biopolymer system.