

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИ-3-ОКСИАЛКАНОАТОВ: МИКРО- И НАНОСТРУКТУРА

А. П. Бонарцев^{1,2}✉, Г. А. Бонарцева², В. В. Воинова¹, М. П. Кирпичников¹, К. В. Шайтан¹

¹ Биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва

² Институт биохимии имени А. Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

Биоразлагаемые и биосовместимые полимеры, полиоксиалканоаты (ПОА), активно используют для изготовления широкого спектра лекарственных форм, придающих лекарственным средствам такие свойства, как пролонгированное действие, направленная доставка, сниженная токсичность, увеличенная стабильность. В основном в медицинской промышленности используют ПОА, полученные химическим синтезом, но растет интерес к использованию в фармацевтике природных ПОА, полученных биотехнологическим путем. В статье обсуждаются разработка и исследование разнообразных лекарственных форм, полученных на основе природных ПОА как вспомогательных веществ для антибактериальных, противовоспалительных, противоопухолевых, обезболивающих, гормональных и других средств, и связь их свойств с микро- и наноструктурой изделий. Лекарственные системы на основе ПОА позволят устранить недостатки активных действующих веществ, связанных с особенностями их физико-химических характеристик в традиционных лекарственных формах.

Ключевые слова: поли-3-оксиалканоаты, поли-3-оксибутират, микрочастицы, наночастицы, наноструктура, пролонгированное высвобождение

Финансирование: работа поддержана грантом РФФ, проект № 17-74-20104 в рамках раздела 1 и грантом РФФИ офи-м, проект № 15-29-04856 в рамках раздела 2.

✉ **Для корреспонденции:** Антон Павлович Бонарцев
Ленинские горы, д. 1, стр. 12, г. Москва, 119234; ant_bonar@mail.ru

Статья получена: 26.08.2018 **Статья принята к печати:** 22.09.2018

DOI: 10.24075/vrgmu.2018.083

POLY(3-HYDROXYALKANOATE)-BASED DRUG FORMULATIONS: THE MICRO- AND NANOSTRUCTURE

Bonartsev AP^{1,2}✉, Bonartseva GA², Voinova VV¹, Kirpichnikov MP¹, Shaitan KV¹

¹ Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow

² A. N. Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology, RAS, Moscow

Biodegradable and biocompatible polymers referred to as polyhydroxyalkanoates (PHAs) are extensively used in the production of pharmaceutical drugs to ensure sustained release, targeted delivery, reduced toxicity, and increased stability of the drug substance. Although the pharmaceutical industry ordinarily exploits chemically synthesized PHAs, bioengineered polymers are also starting to enjoy growing interest. This article focuses on the research and development of drug formulations based on natural PHAs that act as auxiliary substances for antibacterial, anti-inflammatory, anticancer, and hormonal medications, as well as pain killers, and discusses the association between their properties and the micro/nano structure of the synthetic drug. The problems associated with the poor performance of active components in traditional dosage forms can be overcome in PHAs-based formulations.

Keywords: poly(3-hydroxyalkanoates), poly(3-hydroxybutyrate), microparticles, nanoparticles, nanostructure, sustained release

Funding: this work was supported by the grant of the Russian Science Foundation (project 17-74-20104, section 1) and the grant of the Russian Foundation for Basic Research (project 15-29-04856, section 2).

✉ **Correspondence should be addressed:** Anton P. Bonartsev
Leninskie gory 1, str. 12, Moscow, 119234; ant_bonar@mail.ru

Received: 26.08.2018 **Accepted:** 22.09.2018

DOI: 10.24075/brsmu.2018.083

Использование поли-3-оксиалканоатов для разработки лекарственных систем на их основе

Разработка инъекционных систем для пролонгированного высвобождения лекарственных веществ (ЛВ) на основе микро- и наночастиц (НЧ), изготовленных из биodeградируемых полимеров полиоксиалканоатов (ПОА) является перспективным направлением в современной фармакологии. Иммунизация ЛВ в полимерной матрице медицинского изделия или лекарственной формы в виде

микрочастиц и НЧ и последующее его пролонгированное высвобождение обеспечивает оптимальный уровень концентрации ЛВ локально в органе или ткани в течение длительного периода времени (до нескольких месяцев), что дает эффективный фармакологический ответ. Поддержание концентрации ЛВ в течение длительного времени в терапевтических, но не токсичных концентрациях позволяет избавиться от побочных эффектов традиционных лекарственных препаратов. Среди побочных эффектов следует отметить повышенную

токсичность, нестабильность, неравномерную подачу и неэффективный расход ЛВ. Применение терапевтических полимерных систем обеспечивает равномерное и целенаправленное высвобождение ЛВ в оптимальной дозе, что очень важно при лечении различных заболеваний, особенно хронических. В настоящее время как в клинической практике, так и в научных исследованиях используют следующие полимеры из этого класса: синтетические — поли-2-оксипропановую (полимолочная (ПМК), полилактиды), поли-2-оксиуксусную кислоты (полигликолевая (ПГК), полигликолиды), поли-6-оксиапролактон (ПКЛ) и природные — поли-3-оксимасляную (поли-3-оксибутират (ПОБ)), поли-4-оксимасляную (П4ОБ), поли-3-оксивалериановую кислоты (поли-3-оксивалерат (ПОВ)), поли-3-оксигексаноат (ПОГК), поли-3-оксиоктаноат (ПОО), их сополимеры и близкие по структуре полимеры, такие как поли-р-диоксанон (ПДС). В фармацевтике уже используют или разрабатывают огромный спектр различных лекарственных форм на основе ПОА, придающих им такие свойства, как направленная доставка, пролонгированное действие, сниженная токсичность, увеличенная стабильность. С 1989 г. на фармацевтическом рынке представлен и активно применяется в клинической практике целый ряд препаратов с лекарственной формой на основе ПОА: пролонги пептидных гормонов на основе микрочастиц из полимолочных-со-полигликолевых кислот (ПМГК) для лечения рака предстательной железы (Zoladex, Lupron Depot, Trelstar, Eligard), акромегалии (Sandostatin LAR, Somatuline) и карликовости (Nutropin depot); пролонг противоопухолевого ЛВ в форме имплантируемой мембраны для лечения множественной глиобластомы (Gliadel); пролонги микрокапсулированных антибиотиков для лечения пародонтоза (Atridox, Arestin); пролонг микрокапсулированного противовоспалительного ЛВ для лечения макулярной эдемы глаза (Ozurdex), пролонг микрокапсулированного антинаркотического ЛВ для лечения алкогольной и наркотической зависимости (Vivitrol); пролонг микрокапсулированного атипичного антипсихотического средства для лечения шизофрении (Risperdal Consta) и др. [1].

Активное использование и внедрение в медицинскую практику ПОА обусловлены уникальным сочетанием их свойств: способностью к биодеградации в организме без образования токсичных продуктов, биосовместимостью с органами и тканями человека, физико-химическими свойствами (термопластичностью, специфическими диффузионными свойствами), возможностью использования эффективных технологических процессов при их получении. Несмотря на то что такое сочетание свойств присуще всем представителям класса ПОА, большая доля случаев использования ПОА в фармацевтике принадлежит таким синтетическим ПОА, как поли-2-оксипропановая кислота (полимолочная кислота или полилактид), поли-2-оксиуксусная (полигликолевая кислота или полигликолид) и их сополимеры — ПМГК. Однако эти полимеры являются синтетическими аналогами природных полиоксиалканоатов, поли-3-оксиалканоатов. Природные поли-3-оксиалканоаты представляют собой полиэфиры 3-оксиалкановых кислот, соответственно ПОБ является линейным полиэфиром 3-оксимасляной кислоты. В зависимости от бокового радикала, существуют различные поли-3-оксиалканоаты: ПОБ, поли-3-оксивалерат, поли-3-оксигексаноат, поли-3-оксиоктаноат и т. д. Все они довольно сильно различаются по своим физико-

химическим свойствам, таким как кристалличность, температура плавления, температура стеклования, гидрофобность, пластичность, модуль упругости и др. [2].

Природные ПОА являются перспективными полимерными материалами для изготовления лекарственных систем контролируемого высвобождения ЛВ. Для разработки лекарственных систем на основе ПОБ и его сополимеров были использованы различные ЛВ: модельные ЛВ (2,7-дихлорофлуоресцеин, декстран-ФИТЦ, метиловый красный, 7-гидроксиэтилтеофиллин, кальцеин и судановый красный 5Б (Oil Red O), родамин В изотиоцианат, тимохинон), антибиотики и антибактериальные ЛВ (рифампицин, тетрациклин, цефоперазон и гентамицин, сульперазон и дуацид, сульбактам и цефоперазон, фузидиевая кислота, нитрофурал, норфлоксацин, азитромицин, цефтиофур), противоопухолевые ЛВ (5-флуороурацил, 2',3'-диацил-5-флуоро-2'-деоксиуридин, паклитаксел, доцетаксел, рубомицин, такролимус, хлорамбуцил и этопозид, доксорубицин), противовоспалительные ЛВ (индометацин, флурбипрофен, ибупрофен, триамцинолона ацетонид), анальгетики (морфин, гидроксиморфин, кодеин, бупивакаин, трамадол), антитромбогенные ЛВ (дипидирамол, донор оксида азота, нимодипин, фелодипин), гипотензивные (мандипином гидрохлоридом), иммуносупрессоры (финголимод), гормональные контрацептивы (левоноргестрел, модельные и терапевтические белки и пептиды (бычий сывороточный альбумин, фактор роста гепатоцитов, микобактериальный белок для получения вакцин, костный морфогенетический белок, нафарелин, инсулин) [1].

Для получения содержащих ЛВ полимерных изделий и микрочастиц и НЧ на основе ПОБ были использованы различные методы: осаждение из раствора, одно-, двух- и многоэтапное эмульгирование, распылительное высушивание, послойная самосборка в растворе, диализ, осаждение с помощью углекислого газа в сверхкритическом состоянии, электроформование. Для изготовления ЛВ-содержащих медицинских изделий и лекарственных форм были использованы как гомополимер ПОБ, так и его различные сополимеры, а также композиты с другими полимерами и веществами. Получены экспериментальные объекты (пленки), прототипы медицинских изделий, а также микрочастицы и НЧ, содержащие ЛВ [1].

Показана фармакологическая активность и исследована токсичность *in vitro* и *in vivo* некоторых таких медицинских изделий и лекарственных форм на основе ПОА как вспомогательного вещества: антибактериальная активность, цитотоксичность и противоопухолевая активность на культурах опухолевых клеток млекопитающих, биобезопасность и терапевтическая эффективность на лабораторных крысах и мышах [1].

Микро- и наноструктура лекарственных систем на основе ПОА

Внутренняя структура и морфология поверхности биополимерных микрочастиц зависит не только от метода их получения, но и от физико-химических свойств инкапсулируемого ЛВ и полимера, используемого для загрузки ЛВ. Для получения однородных непористых биополимерных микрочастиц инкапсулируемое в них вещество должно быть хорошо растворимо в том же растворителе, который используют для растворения полимера. Так, нами были получены однородные сферические микрочастицы из ПОБ с паклитакселом, имеющие гладкую поверхность, тогда как поверхность

микрочастиц с доксорубицином имеет довольно выраженную ячеистую структуру (рис. 1А, Б).

При не очень хорошей растворимости ЛВ в используемом растворителе могут формироваться кристаллы ЛВ как в полимерной матрице микрочастиц, так и на их поверхности (рис. 1В) [3].

При плохой растворимости ЛВ в используемом растворителе могут формироваться микрочастицы с нарушенной структурой: слоистые, пористые, неправильной формы и т. д. Такие частицы могут образовываться при использовании самых разнообразных методик их изготовления (рис. 1Г).

Загрузка высокомолекулярных биологически активных веществ, прежде всего терапевтических белков в микрочастицы на основе ПОА, сильно влияет на их микроструктуру. Фактически в этом случае образуется композит из полимеров, сильно различающихся по своим физико-химическим свойствам, что приводит к образованию сложных надмолекулярных структур и также нарушению структуры: появлению пористости, слоистости, искажению формы.

Отдельным направлением является получение НЧ из ПОА [4]. Следует отметить, что в настоящее время в фармакологии частицы до 1 мкм диаметром относят к НЧ, так как уже при таком размере начинают проявляться специфические биологические и физико-химические свойства, связанные с размером. Полимерные НЧ обладают особыми свойствами, например способностью к преодолению физиологических барьеров, повышенной всасываемостью слизистыми оболочками бронхов, носоглотки, ротовой полости и желудка, облегченной способностью к проникновению через клеточную

мембрану по механизму эндоцитоза, невосприимчивостью к иммунным клеткам (микрофагам, лимфоцитам), и, как следствие, повышенной биодоступностью инкапсулированных ЛВ [5, 6]. Как правило, при получении НЧ используют амфифильные сополимеры ПОА. Это позволяет не только значительно увеличить время миграции НЧ в кровяном русле, но и ковалентно пришивать к ним лиганды направленного действия [7, 8].

На кинетику высвобождения ЛВ из микрочастиц на основе ПОБ и его сополимеров основное влияние оказывает частично кристаллическая наноструктура этого полимера. Как правило, ПОБ образует пластинчатый кристалл с размерами около 0,3–2 мкм и 5–10 мкм вдоль короткой и длинной осей соответственно (рис. 2А).

Толщина кристаллов ПОБ варьируется от 4 до 10 нм, в зависимости от молекулярного веса, растворителя и температуры кристаллизации [9]. На рис. 2Б представлено изображение стопки ламелей. Они выглядят как параллельные полосы шириной 11–40 нм. По некоторым данным, толщина ламелей, измеренная малоугловым рентгеновским рассеиванием в аналогичных пленках ПОБ, составила 6,4 нм [10]. Это различие в толщине ламелей, можно объяснить тем, что плоскости ламелей могут располагаться под различными углами к поверхности пленки (рис. 2Б).

На ультратонких пленках из ПОБ было показано, какие кристаллические структуры склонен образовывать этот полимер. Кристаллическая компонента ПОБ может быть представлена кристаллами, имеющими морфологию «водорослей», двумерными сферолитами (рис. 2В). Эти структуры имеют примерно одинаковую среднюю высоту над подложкой, равную 4,5 нм. Они отличаются

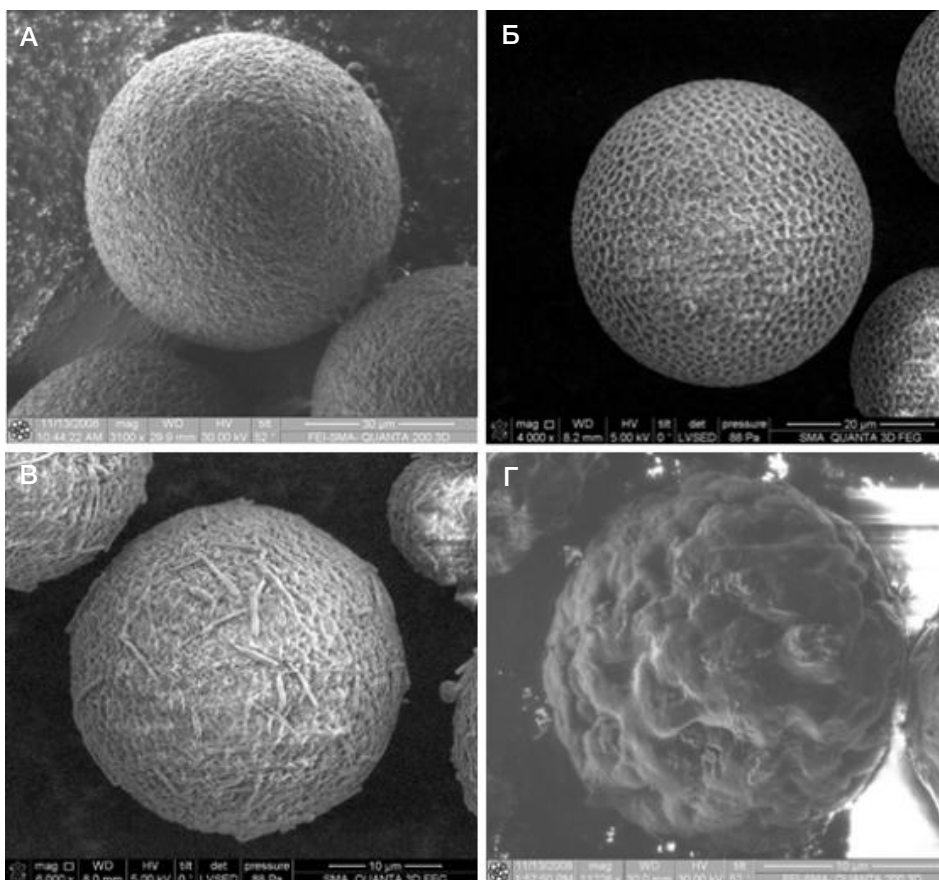


Рис. 1. Микрочастицы из ПОБ с инкапсулированными ЛВ: микрочастицы, загруженные паклитакселом (А); микрочастицы, загруженные доксорубицином (Б); кристаллы кумарина на поверхности микрочастицы, загруженной этим ЛВ (В); микрочастицы, загруженные метотрексатом (Г)

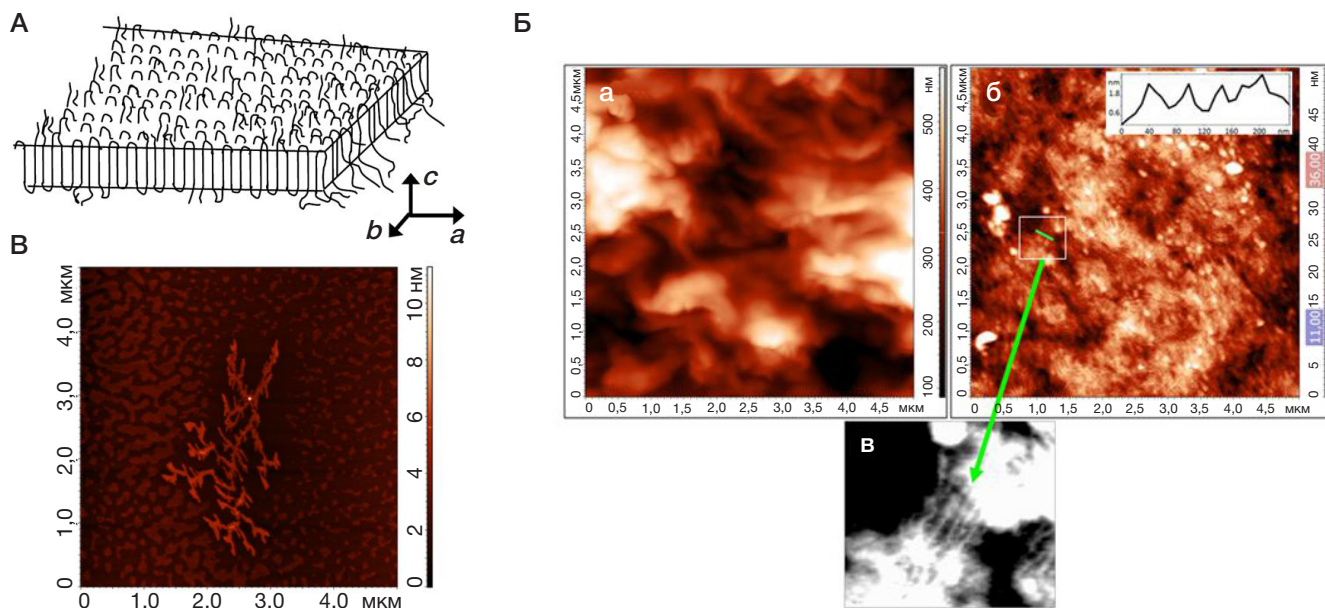


Рис. 2. А. Схематичная модель упаковки молекулярной цепи одиночных кристаллов ПОБ (По данным: Iwata T. et al. [9]). Б. Изображение шероховатой (а) и гладкой (б) поверхности макроскопической пленки ПОБ, а также график сечения стопки ламелей по зеленой линии (в). В. Топографическое изображение ультратонкой пленки ПОБ; видны кристаллические структуры полимера [19]

направлением роста от центра кристаллизации. Так, кристаллическая компонента растет равномерно во все стороны на плоскости у двумерных сферолитов. У «водорослей» рост кристаллической компоненты осуществляется неравномерно из центра кристаллизации в разные стороны. Наблюдаемые частично кристаллические структуры ПОБ аналогичны структурам, которые формируются в ультратонких пленках других полимеров: полиэтиленоксида, полилактида, полистирола [11].

Контролируемое высвобождение ЛВ из полимерной матрицы ПОБ и его сополимеров косвенно связано с природными свойствами этого биополимера. ПОБ синтезируется в бактериальной клетке в особых структурах — гранулах ПОА или карбоносомах, в которых полимер находится не в кристаллическом (как в выделенном состоянии), а в мобильном аморфном состоянии [12]. Существует гипотеза, что роль пластификатора, который поддерживает аморфное состояние биополимера, выполняет вода, в небольших количествах (5–10%) присутствующая в нативных гранулах ПОБ [12, 13]. Удаление воды из нативных гранул приводит к тому, что полимерные цепи образуют ламеллярно-кристаллическую структуру. Было сделано предположение, что благодаря молекулам воды формируются водородные связи между карбонильными группами полиэфирных цепей и, таким образом, образуется что-то вроде сшивок между соседними полимерными цепями. Такая молекулярная организация может объяснить мобильное аморфное состояние ПОБ *in vivo* [14]. Образцы полимера, высаженные из раствора, обладают наноструктурой, способствующей при помещении их в водную среду диффузии воды в толщу полимерной матрицы, пластифицируя тем самым полимер подобно тому (правда, в очень малой степени), как это происходит в ПОА-гранулах бактерий. В то же время столь

специфическая структура ПОБ, даже при поддержании аморфного состояния полимера в гранулах бактерий, препятствует гидролитической деструкции полимера той самой водой, которая его в этих гранулах пластифицирует [15–18]. Вода, пластифицирующая ПОБ, способствует также и длительной диффузии ЛВ, загруженных в изделия и микрочастицы или НЧ на основе этих биополимеров, так как в нативных гранулах ПОБ у бактерий, или так называемых карбоносомах, постоянно происходит активный синтез и расщепление полимерных цепей ПОБ, что сопровождается интенсивной диффузией в матрице аморфного ПОБ мономерных предшественников полимера, АТФ, НАДФ/НАДФН и других низкомолекулярных веществ. Таким образом сам механизм синтеза и расщепления ПОБ в бактериальной клетке предполагает диффузию низкомолекулярных веществ в его полимерной матрице, а взаимодействие биополимера с различными белками в полимерной грануле (карбоносоме) бактериальной клетки предполагает возможность иммобилизации белков и других биомакромолекул в полимерных микрочастицах и НЧ.

Выводы

Можно заключить, что функциональные свойства лекарственных систем на основе ПОА могут быть связаны с биомиметической нано- и микроструктурой этих полимеров, которая в свою очередь обусловлена природными функциями бактериальных ПОА. Разработка новых биомиметических лекарственных систем на основе ПОА позволит устранить недостатки активных действующих веществ с неудовлетворительными физико-химическими характеристиками в традиционных лекарственных формах.

Литература

- Bonartsev AP. Poly(3-hydroxybutyrate): applications. In: Mishra M, editor. *Encyclopedia of Polymer Applications*. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2019; 5250 p. DOI: 10.1201/9781351019422-140000085.
- Bonartsev AP, Voinova VV, Bonartseva GA. Poly(3-hydroxybutyrate) and human microbiota. *Applied biochemistry and microbiology*. 2018; 54 (6): 547–68. DOI: 10.1134/S0003683818060066.
- Lee TH, Wang J, Wang CH. Double-walled microspheres for the sustained release of a highly water soluble drug: characterization and irradiation studies. *J Control Release*. 2002; (83): 437–52.
- Dong Y, Feng SS. Poly(D,L-lactide-co-glycolide)/montmorillonite nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs. *Biomaterials*. 2005; (26): 6068–76.
- Gu FX, Karnik R, Wang AZ, Alexis F, Levy-Nissenbaum E, Hong S et al. Targeted nanoparticles for cancer therapy. *Nano Today*. 2007; (2): 14–21.
- Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis *Adv Drug Deliv Rev*. 2002; (54): 631–51.
- Blanco E, Bey EA, Dong Y, Weinberg BD, Sutton DM, Boothman DA, Gao J. β -Lapachone-containing PEG–PLA polymer micelles as novel nanotherapeutics against NQO1-overexpressing tumor cells. *J Control Release*. 2007; (122): 365–74.
- Nguyen A, Marsaud V, Bouclier C, Top S, Vessieres A, Pigeon P, Gref R, Legrand P, Jaouen G, Renoir JM. Nanoparticles loaded with ferrocenyl tamoxifen derivatives for breast cancer treatment. *Int J Pharm*. 2008; (347): 128–35.
- Iwata T et al. Enzymatic Degradation and Adsorption on Poly[(R)-3-hydroxybutyrate] Single Crystals with Two Types of Extracellular PHB Depolymerases from *Comamonas acidovorans* YM1609 and *Alcaligenes faecalis* T1. *Macromolecules*. 1997; 97 (30): 5290–6.
- Capitán MJ, Rueda DR, Ezquerro TA. Inhibition of the crystallization in nanofilms of poly(3-hydroxybutyrate). *Macromolecules*. 2004; 15 (37): 5653–9.
- Liu YX, Chen EQ. Polymer crystallization of ultrathin films on solid substrates. *Coordination Chemistry Reviews*. 2010; 254 (9–10): 1011–37.
- Barnard GN, Sanders JK. *J Biol Chem*. 1989; 264 (6): 3286–91.
- Harrison ST, Chase HA, Amor SR, Bonthron KM, Sanders JK. Plasticization of poly(hydroxybutyrate) in vivo. *Int J Biol Macromol*. 1992; 14 (1): 50–6.
- Lauzier C, Revol JF, Marchessault RH. *FEMS Microbiol Rev*. 1992; (103): 299–310.
- Sudesh K, Abe H, Doi Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. *Prog Polym Sci*. 2000; (25): 1503–55.
- Abe H, Doi Y. Structural effects on enzymatic degradability for poly[(R)-3-hydroxybutyric acid] and its copolymers: mini-review. *Int J Biol Macromol*. 1999; (25): 185–92.
- Schliecker G, Schmidt C, Fuchs S, Wombacher R, Kissel T. Hydrolytic degradation of poly(lactide-co-glycolide) films: effect of oligomers on degradation rate and crystallinity. *Int J Pharm*. 2003; 266 (1–2): 39–49.
- Kunze C, Edgar Bernd H, Androsch R, Nischan C, Freier T, Kramer S, Kramp B, Schmitz KP. In vitro and in vivo studies on blends of isotactic and atactic poly (3-hydroxybutyrate) for development of a dura substitute material. *Biomaterials*. 2006; 27 (2): 192–201.
- Жуйков В. А. Исследование изменений физико-химических свойств поли-3-оксибутирата и его сополимеров в процессе биодegradации in vitro [диссертация]. М.: 2018.

References

- Bonartsev AP. Poly(3-hydroxybutyrate): applications. In: Mishra M, editor. *Encyclopedia of Polymer Applications*. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2019; 5250 p. DOI: 10.1201/9781351019422-140000085.
- Bonartsev AP, Voinova VV, Bonartseva GA. Poly(3-hydroxybutyrate) and human microbiota. *Applied biochemistry and microbiology*. 2018; 54 (6): 547–68. DOI: 10.1134/S0003683818060066.
- Lee TH, Wang J, Wang CH. Double-walled microspheres for the sustained release of a highly water soluble drug: characterization and irradiation studies. *J Control Release*. 2002; (83): 437–52.
- Dong Y, Feng SS. Poly(D,L-lactide-co-glycolide)/montmorillonite nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs. *Biomaterials*. 2005; (26): 6068–76.
- Gu FX, Karnik R, Wang AZ, Alexis F, Levy-Nissenbaum E, Hong S et al. Targeted nanoparticles for cancer therapy. *Nano Today*. 2007; (2): 14–21.
- Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis *Adv Drug Deliv Rev*. 2002; (54): 631–51.
- Blanco E, Bey EA, Dong Y, Weinberg BD, Sutton DM, Boothman DA, Gao J. β -Lapachone-containing PEG–PLA polymer micelles as novel nanotherapeutics against NQO1-overexpressing tumor cells. *J Control Release*. 2007; (122): 365–74.
- Nguyen A, Marsaud V, Bouclier C, Top S, Vessieres A, Pigeon P, Gref R, Legrand P, Jaouen G, Renoir JM. Nanoparticles loaded with ferrocenyl tamoxifen derivatives for breast cancer treatment. *Int J Pharm*. 2008; (347): 128–35.
- Iwata T et al. Enzymatic Degradation and Adsorption on Poly[(R)-3-hydroxybutyrate] Single Crystals with Two Types of Extracellular PHB Depolymerases from *Comamonas acidovorans* YM1609 and *Alcaligenes faecalis* T1. *Macromolecules*. 1997; 97 (30): 5290–6.
- Capitán MJ, Rueda DR, Ezquerro TA. Inhibition of the crystallization in nanofilms of poly(3-hydroxybutyrate). *Macromolecules*. 2004; 15 (37): 5653–9.
- Liu YX, Chen EQ. Polymer crystallization of ultrathin films on solid substrates. *Coordination Chemistry Reviews*. 2010; 254 (9–10): 1011–37.
- Barnard GN, Sanders JK. *J Biol Chem*. 1989; 264 (6): 3286–91.
- Harrison ST, Chase HA, Amor SR, Bonthron KM, Sanders JK. Plasticization of poly(hydroxybutyrate) in vivo. *Int J Biol Macromol*. 1992; 14 (1): 50–6.
- Lauzier C, Revol JF, Marchessault RH. *FEMS Microbiol Rev*. 1992; (103): 299–310.
- Sudesh K, Abe H, Doi Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. *Prog Polym Sci*. 2000; (25): 1503–55.
- Abe H, Doi Y. Structural effects on enzymatic degradability for poly[(R)-3-hydroxybutyric acid] and its copolymers: mini-review. *Int J Biol Macromol*. 1999; (25): 185–92.
- Schliecker G, Schmidt C, Fuchs S, Wombacher R, Kissel T. Hydrolytic degradation of poly(lactide-co-glycolide) films: effect of oligomers on degradation rate and crystallinity. *Int J Pharm*. 2003; 266 (1–2): 39–49.
- Kunze C, Edgar Bernd H, Androsch R, Nischan C, Freier T, Kramer S, Kramp B, Schmitz KP. In vitro and in vivo studies on blends of isotactic and atactic poly (3-hydroxybutyrate) for development of a dura substitute material. *Biomaterials*. 2006; 27 (2): 192–201.
- Zhujkov VA. Issledovanie izmenenij fiziko-himicheskikh svojstv poli-3-oksibutirata i ego sopolimerov v processe biodegradacii in vitro [dissertacija]. М.: 2018.