

Journal of Siberian Federal University. Biology 2 (2014 7) 103-133

~ ~ ~

УДК 579, 57.013; 615.462

Modern Biomaterials: World Trends, Place and Role of Microbial Polyhydroxyalkanoates (PHAs)

Tatiana G. Volova*

Institute of Biophysics SB RAS

50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036, Russia

Siberian Federal University

79 Svobodny, Krasnoyarsk, 660041, Russia

Received 12.02.2014, received in revised form 21.03.2014, accepted 11.05.2014

Development of environmentally friendly materials that could be involved in the biospheric cycling is one of the key issues of the present time due to both environmental hazard caused by accumulation of synthetic materials in the biosphere and the needs of modern biomedical technologies. The study analyzes the state of the art and current international trends in biomaterials research and the position and role of degradable bioplastics synthesized by microorganisms (polyhydroxyalkanoates, PHAs). The data are reported on the processes and production of this class of polymers by world's leading companies; potentials for the development of commercial production of degradable PHAs in Russia are investigated. Institute of Biophysics SB RAS and Siberian Federal University have developed the technologies of the synthesis of PHAs with different chemical structure, exhibiting properties of high-crystallinity thermoplasts and construction elastomers, and used them in pilot production of these polymers. The researchers have constructed 2D and 3D polymer devices, implants, prostheses, biocompatible coatings, microcarriers of drugs and functioning cells as nanoparticles and ultrafine fibers; preclinical trials have been performed and clinical trials started. PHAs have been studied as material for packaging, for constructing fertilizer formulations and plant protectants; for biomedical applications.

Keywords: biopolymers, polyhydroxyalkanoates, PHA, synthesis, properties, applications.

© Siberian Federal University. All rights reserved

* Corresponding author E-mail address: Volova45@mail.ru

Современные биоматериалы: мировые тренды, место и роль микробных полигидроксиалканоатов

Т.Г. Волова

*Институт биофизики СО РАН
Россия, 660036, Красноярск, Академгородок, 50/50
Сибирский федеральный университет
Россия, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79*

Создание экологически чистых материалов, вписывающихся в биосферные круговоротные циклы, является одной из ключевых проблем современности. Связано это с экологическими проблемами, возникшими в связи с накоплением в биосфере синтетических материалов, а также потребностями новейших биомедицинских технологий. В статье даны результаты анализа состояния и современные мировые тренды в области биоматериалов, место и роль синтезируемых микроорганизмами разрушаемых биопластиков (полигидроксиалканоатов, ПГА). Представлены результаты, полученные по технологиям производства полимеров этого класса ведущими мировыми компаниями, рассмотрены перспективы для становления промышленной отрасли ПГА в РФ. Представлен обзор результатов, полученных в Институте биофизики СО РАН и Сибирском федеральном университете, в которых разработаны и реализованы на уровне опытных производств технологии синтеза ПГА различной химической структуры со свойствами высококристаллических термопластов и конструкционных эластомеров; сконструированы полимерные изделия в виде 2D- и 3D-форм, самостоятельные имплантаты и эндопротезы, биосовместимые покрытия, микроносители лекарственных препаратов и функционирующих клеток в виде наночастиц и ультратонких волокон; выполнены доклинические и начаты клинические исследования. Оценены перспективы ПГА в качестве упаковочного материала для конструирования удобрений и средств защиты растений, в биомедицине.

Ключевые слова: биополимеры, полигидроксиалканоаты, ПГА, синтез, свойства, применение.

Введение

Разработка и освоение новых, экологически чистых материалов, включающихся в биосферные круговоротные циклы, соответствует концепции экологически безопасного устойчивого промышленного развития. Связано это с тем, что охрана окружающей среды является неотъемлемым компонентом устойчивого развития. В результате активной хозяйственной деятельности на фоне возрастания населения планеты в настоящее время

под угрозой находятся биотические и абиотические компоненты окружающей среды, так как во все более широком масштабе возрастает производство и потребление химических веществ. Это приводит к чрезмерному росту количества не утилизируемых отходов, что вступает в противоречие с мероприятиями, направленными на защиту окружающей среды. Поэтому неуклонно увеличивается количество проблем, связанных с охраной окружающей среды (Kijchavengkul, Auras, 2008).

Глобальной экологической проблемой стало возрастающее использование человеком синтетических пластмасс. Объемы выпуска неразрушаемых в природной среде синтетических пластмасс, главным образом полиолефинов (полиэтиленов и полипропиленов), получаемых в процессах нефтеоргсинтеза, огромны, к настоящему моменту достигли 300 млн т в год и ежегодно возрастают примерно на 25 млн т. Основная их часть складывается на свалках, так как повторной переработке в развитых странах подвергается не более 16-20 %. Под полигоны и свалки отходов отчуждаются плодородные земли; полиэтиленовый мусор выводит из строя канализационные и дренажные системы городов, загрязняет водоемы, представляя серьезную угрозу для качества воды и биоты Мирового океана (Moore et al., 2001; Tanabe et al., 2004).

Одним из путей снижения антропогенного давления на экосистемы является замена синтетических полимеров новыми материалами, которые подвержены биологической деградации и разлагаются в естественной среде до безвредных для окружающей среды продуктов, вовлекаясь в глобальные круговоротные циклы (Chanprateer, 2010).

Особенно остра потребность в биосовместимых материалах, обладающих способностью резорбироваться в биологических средах без образования токсичных продуктов для организма, в медицине. Мировая наука нацелена сегодня на создание и освоение новых биоматериалов, объемы производства которых приближаются к объемам фармпрепаратов.

Освоение новых биосовместимых материалов и создание специализированных биомедицинских изделий из них становятся лидирующими направлениями исследований и коммерциализации. Ежегодный бюджет медицинских центров в Европе, Япо-

нии и США, занимающихся проведением фундаментально-прикладных исследований в области тканевой и клеточной инженерии, составляет многие сотни млн долларов США (Штильман, 2006). С использованием новых биоматериалов к настоящему времени удалось достичь существенных успехов в области разработки конструирования экстракорпоральных устройств и имплантатов. Это позволяет улучшить и спасти жизнь миллионов людей.

Среди материалов, применяемых и исследуемых в настоящее время, – металлы, керамики, полимеры синтетического и природного происхождения, в т.ч. биоразрушаемые полиэфиры. Разработка биосовместимых и биоразрушаемых в биологических средах материалов для изделий временного действия представляет собой более остро стоящую и сложную задачу, так как такие материалы и изделия предназначены для восполнения дефектов тканей и органов с последующим замещением биологическими структурами в строго заданные сроки.

Расширяется спектр биоразрушаемых биоматериалов, применяемых и исследуемых в настоящее время: полимеры синтетического и природного происхождения, в т.ч. алифатические полиэфиры, полиамиды, сегментированные полиэфируретаны (СПУ), силикон, полиэтилентерефталат (ПЭТФ), сложные полиэфиры алифатических гидроксикарбоновых кислот различного строения. Важной особенностью последних является их высокая биосовместимость и подверженность биодеградации через механизм биодеструкции макромолекулярной цепи.

Как правило, стоимость синтетических материалов ниже полимеров природного происхождения, из них легко формировать трехмерные структуры, не возникает также трудностей с сырьем и производством полимеров

с воспроизводимыми и контролируемыми свойствами, такими как прочность, скорость деградации, микроструктура. Однако большим недостатком синтетических материалов являются их иногда непредсказуемое взаимодействие с клетками и компонентами иммунной системы пациента, а также неконтролируемое время биodeградации в среде организма. Главные причины осложнений при использовании синтетических биodeградируемых материалов в медицине – возможные проявления негативных реакций (воспалительная и аллергическая реакции) организма на продукты деструкции и проявление канцерогенности.

В России, в отличие от мировых трендов, исследования по разрушаемым полимерным материалам в целом не получили развития; индустрия биоразрушаемых полимерных материалов отсутствует. Значительный сегмент российского рынка занимает импортная медицинская продукция в связи с отсутствием отечественных производств широкого ассортимента высокотехнологичных медицинских приборов, средств диагностики, лекарственных препаратов, хирургических материалов, эндопротезов и др. Практически вся фармпромышленность в РФ работает на импортном сырье, что стало решающим фактором снижения ее конкурентоспособности. Наибольшим спросом пользуются такие изделия медицинской техники, как средства функциональной диагностики, жизнеобеспечения, реанимации, хирургии, для производства которых необходимы функциональные материалы нового поколения.

Потребность российского рынка в биоразлагаемых биосовместимых полимерах для медицинских изделий составляет 200 т/год, в т.ч. для изготовления костных имплантатов – 300 тыс. кг в год (27 операций на каждые 10 000 жителей РФ, по данным Российского НИИ

травматологии и ортопедии); остеиндуктивных материалов нового поколения, несущих лекарственные препараты и факторы роста костной ткани (крепежных элементов, цементов, и т.д.), – 50 тыс. кг; полимерных биоразлагаемых перевязочных материалов – десятки тыс. т (материалы ТП «Медицина будущего»). По данным Минпромторга РФ, общий объем рынка медизделий РФ в 2012 г. составил более 155 млрд руб., в т.ч. изделия медицинского назначения, включающие в себя перевязочные и гигиенические средства, стоматологические материалы, медицинскую одежду, расходные материалы для медицинских исследований. Прогнозируемая потребность в медизделиях из разрушаемых полимеров для восстановительных операций в челюстно-лицевой хирургии – до 800 тыс. шт.; для костно-мышечной системы – 30 тыс., реконструкции дефектов кожных покровов – 250 тыс., прочие – 10 тыс., в год.

Оценка сложившейся ситуации по разработке и освоению биodeградируемых полимеров позволяет выделить три главных направления в этой области: получение пластмасс на основе воспроизводимых природных полимеров, придание биоразлагаемости широко используемым в настоящее время высокомолекулярным синтетическим материалам, синтез биоразрушаемых полимеров. Все большее значение приобретают экологически чистые материалы, получаемые из возобновляемого сырья, источником которого служат биомасса растений и продукты микробиологического синтеза (так называемые биополимеры, или биопластики). Разрабатываемые прогнозы наращивания объемов выпуска разрушаемых биопластиков показывают, что к 2020 г. четверть мирового рынка пластмасс может приходиться на биопластики. Среди наиболее перспективных сфер применения разрушаемых биопластиков – легкая и пищевая

промышленность, сельское и коммунальное хозяйство (тара, упаковка, одноразовая посуда, одежда, технический текстиль и ткань, детские игрушки, изделия для тепличного и рыбозаводного хозяйств, корпуса оргтехники, мобильных телефонов, элементы кузовов автомобилей, мебели и многое другое).

Массовое применение биоразрушаемых полимеров сегодня сдерживается относительно высокой ценой по сравнению с синтетическими, получаемыми из нефти, последние дешевле биопластиков в 2,5 и более раз. Однако несколько лет назад этот разрыв был больше на порядок. Конструирование биополимеров за последние десять лет превратилось в одно из основных междисциплинарных исследований. Долгосрочной целью данного направления работ является: 1) поиск и изучение новых биополимеров; 2) разработка научно-практической базы для конструирования биологических систем, синтезирующих полимеры с заданными свойствами, предназначенных для использования в определенных целях.

Направления получения разрушаемых полимерных материалов: 1) придание разрушаемости синтетическим пластикам за счет добавок; 2) синтез разрушаемых пластиков; 3) разработка и биосинтез биопластиков.

1. Придание биоразлагаемости синтетическим пластикам – полиэтилену, полипропилену (фото- и оксидобавки – молекулы, содержащие в составе функциональные группы, способствующие ускоренному фоторазложению полимеров; получение композиций многотажных полимеров с биоразлагаемыми природными добавками, способными в определенной степени инициировать распад основного полимера).

2. BASF и Bayer AG занимаются получением биоразлагаемых синтетических пластиков путем синтеза полиэфиров и полиэфира-

мидов. С 1995 г. BASF освоил производство биоразлагаемого пластика Ecoflex F. Использование фирмой собственного исходного сырья и производственных мощностей позволяет производить гранулы синтетического полиэфира по 6,5-8,0 EUR/кг в зависимости от качества. Композиции, содержащие основной компонент – сополиэфир повышенной вязкости, используют для получения биоразлагаемых пенопластов для упаковки. Со второй половины 90-х гг. прошлого века Bayer AG выпускает новые компостируемые, биоразлагаемые в аэробных условиях термопласты ВАК-1095 и ВАК-2195 на основе полиэфирамида. Материал имеет высокую адгезию к бумаге, что позволяет широко использовать его для изготовления влаго- и погодостойкой упаковки.

3. Наиболее существенную долю рынка природных биопластиков сегодня занимают полимеры из полилактида, далее следуют пластмассы на основе крахмала и целлюлозы. В 2010 г. Braskem открыл в Бразилии завод по выпуску полиэтилена из растительного сырья мощностью 200 тыс. мегат/год.

Биоразрушаемые синтетические полимеры

Ряд синтетических полимеров подвергается действию жидкостей и при этом способен разбухать или растворяться. Молекулы жидкости диффундируют в толщу таких полимеров, раздвигая цепи и увеличивая объем. Этот процесс может возникать главным образом в местах трещин на поверхности, приводя к созданию локального растягивающего напряжения, что, в свою очередь, вызывает образование микротрещин или растрескивание под действием напряжений окружающей среды. Полимеры, производимые посредством конденсации, которая является реакцией с водой, в результате чего получают связи –ОН, –

также склонны к гидролизу. Кроме того, полимеры могут содержать побочные группы, способные к гидролизу. Скорость гидролиза зависит от водопоглощения полимера и часто ограничивается диффузией воды по полимеру. Диффузия воды в полимерах соотносится с их растворимостью, температурой стеклования и со степенью кристалличности. Сложные полиэфиры, основанные на $(-R-COO-)_n$, подвержены гидролизу. Распад зависит от pH. Сложные эфиры гидролизуются с большей скоростью при кислотных и щелочных условиях, чем при нейтральном pH. Поскольку при гидролизе сложного эфира образуется карбоновая кислота, pH падает во время гидролиза, что ускоряет процесс распада.

Оксипроизводные монокарбоновых кислот считаются наиболее перспективными биodeградируемыми материалами. Цепи этих полимеров образованы повторяющимися остатками короткоцепочечных кислот, среди которых наиболее известные и распространенные – молочная (ПМК) и гликолиевая (ПГК). Полимеры на основе молочной и гликолиевой кислот разрешены для использования в медицине и фармакологии Департаментом по контролю качества продуктов и лекарств США (United States Food and Drug Administration – F.D.A.) с 1970 г. В медицинской практике эти полимеры нашли широкое применение в виде шовного материала, армирующих конструкций, сеток для герниопластики, в реконструктивной хирургии и регенеративной медицине для восстановления дефектов костной и хрящевой ткани, как раневые покрытия.

Полигликолиид (ПГК, английская аббревиатура – PGA) – продукт полимеризации $(O-CO-CHR)_n$, где $R = H$. Полигликолиид высокого молекулярного веса представляет собой твердый кристаллический полимер с температурой плавления 228 °C; температура стеклования составляет 37 °C. Молекулярный

вес существенно зависит от условий синтеза и переработки в изделия и может составлять от 2×10^4 до $1,45 \times 10^5$. Этот полимер получают посредством полимеризации с раскрытием кольца в присутствии в качестве катализаторов солей металлов. Полимер нерастворим в большинстве органических растворителей. Механическая прочность в сочетании с пластичностью делает этот полимер пригодным для изготовления различных конструкций – от нетканых и губчатых материалов до пластин и винтов, применяемых для фиксации костных отломков. Материал не обладает цитотоксическими свойствами, обеспечивает адгезию и поддерживает пролиферацию клеток. Однако механическая прочность имплантированных изделий из ПГК сохраняется в течение непродолжительного периода, от 20 до 30 сут, со значительной потерей массы изделия за этот период до 40-50 %.

Полилактиды (ПЛК, в англоязычной аббревиатуре – PLA) образованы повторяющимися остатками $(O-CO-CHR)_n$, где $R = CH_3$. Замена H^+ на CH_3 приводит к образованию более сложного гидрофобного полиэфира и вызывает более низкое водопоглощение и более низкие скорости гидролиза. Наличие $R = CH_3$ дает в результате хиральный центр и образует формы D и L, а также рацемические формы, в которых имеет место произвольное расположение хиральных центров. Обе формы полилактида (D и L) могут кристаллизоваться в отличие от рацемической формы, которая не кристаллизуется. Мономер ПЛК – молочную кислоту (лактид) – получают химическим синтезом (из лактона, хлорпропионовой кислоты, а также перекристаллизацией толуола) или микробиологической ферментацией сахаров, которые предварительно получают гидролизом и экстракцией из природного сырья (кукурузы, крахмала и т.д.). Мономеры молочной кислоты далее химическим спосо-

бом подвергают полимеризации в ПЛА. По химическим, физическим и биологическим свойствам полилактид близок к полигликолиду. ПЛК уступают многим синтетическим полимерам по теплостойкости, при нагревании свыше 50 °С изделия из него деформируются и, как следствие этого, не могут быть подвергнуты стерилизации с применением тепловых методов. Полилактид относится к разрушаемому полимерам, для него характерны высокие скорости разрушения в биологических средах. Поэтому время его резорбции *in vivo* исчисляется небольшим периодом (10-12 сут). Разрушение часто является автокаталитическим. Разрушение толстых участков может происходить быстрее, чем тонких, из-за накопления молочной кислоты и локализованного низкого pH (3,2-3,4), сопровождающего разрушение внутри толщи полимера. Это может приводить к быстрому выходу молочной кислоты и олигомеров полилактида, вызывая токсическую реакцию со стороны окружающих имплантат тканей. Быстрое уменьшение молекулярного веса полимера при разрушении приводит к заметному снижению прочности изделий.

Смеси полилактида с полигликолидом имеют лучшие характеристики по теплостойкости, сроку биоразрушения и механической прочности. В зависимости от соотношения молочной и гликолиевой кислот в полимере его свойства существенно варьируют. В организме эти полиэфиры деградируют в основном путем неферментативного гидролиза. На биodeградацию полимеров на основе ПМК и ПГК в значительной степени влияет значение pH. Процесс биodeградации полимеров подавляется в кислотной и ускоряется в щелочной среде. Гидролитическая деградация изделий из этих полимеров контролируется не только диффузией воды, проникающей в поры изделия, но и релизом водорастворимых кис-

лотных олигомерных побочных продуктов разрушения полимеров. Примечательно, что деградация ПМК и сополимеров ПМ/ГК быстрее происходит в объеме, чем в поверхностном слое как результат автокаталитического эффекта, что негативно отражается на прочностных характеристиках изделий.

В настоящее время биоразрушаемый полилактид – лидер на мировом рынке биопластиков, этот полимер лидирует более 30 лет среди упаковочных материалов. Крупнейшие производители ПЛ: «Cargill Inc» (США) – продукт «Eco-Pla»; линия 6000 т/год; в перспективе увеличение объёмов производства до 150 000 т/год, а также снижение стоимости ПЛ с 250 до 2,2 дол/кг. Мощность производства Nature Works составляет 140 000 т/год; фирма Nuscail, Нидерланды – 50 000 т/год. Голландская фирма CSMN выпускает 34 тыс. т/год молочной кислоты под маркой «PURAC» с возможным увеличением мощности в 2 раза. Для удешевления полимера японской фирмой Mitsui Toatsu освоена технология получения полилактида в одну стадию. Помимо упаковки и технических применений (элементы бытовой техники, автомобилей и др.) полилактиды активно внедряются в медицину (шовный и перевязочный материал, раневые покрытия, скрепляющие элементы для костных отломков, материалы для остеосинтеза, эндопротезы, в т.ч. разрушаемые стенты, биосовместимые покрытия и др.). Основные проблемы синтеза полилактидов – оптимизация процессов полимеризации/поликонденсации молочной кислоты, очистка полимеров от мономеров, повышение термopластичности и улучшение физико-механических свойств изделий из них; снижение затрат на производство.

Полиуретаны (ПУ) – полимеры, содержащие уретановую группу. Семейство полимеров этого класса характеризуется

различными физическими и биологическими свойствами. Синтезируются ПУ в ходе двухэтапного процесса, состоящего из стадии приготовления фторполимера с низкой молярной массой, далее реализуются реакции удлинения цепи полимера и/или сшивания. Сложные полиэфиры-уретаны, как правило, содержат поликапролактоны. В полиуретановых полимерах также могут присутствовать группы мочевины -NH-CO-NH- и группы уретана -NH-CO-O-. Полиуретаны являются одной из основных групп полимерных материалов, используемых при изготовлении различных имплантатов и изделий. Большинство полиуретанов медицинского применения представляют собой двухфазные блок-сополимеры. В начальные периоды медицинского применения этих полимеров имели место острые реакции на их имплантации в организм, так как использовали неочищенные образцы полимеров. Негативные реакции, как было выяснено позднее, были связаны с гидролизом в среде макроорганизма сложного эфира сложных полиэфиров-уретанов. На смену этим сложным ПУ пришли простые полиэфиры-уретаны с различной жесткостью сегментов в макромолекуле. Сегментированные полиуретаны различного химического строения и структуры выпускаются многими фирмами. Среди таких продуктов, обладающих различными свойствами, в том числе есть представители, обладающие в различной степени биоразрушаемостью: «*Cardiothane*» (старое название «*Avcothane*®»), выпускаемый фирмой Avco (США), и «*Силурам*» (ВНИИСК, С.-Петербург); «*Pellethane*®» (Dow Chemical Co., США); «*Tecoflex*™» (фирма Thermedics, Inc, США) и др. Среди полиуретанов – группа биодegradуемых полиуретановых эластомеров «*ChronoFlex*®» (типы AL, C, AR), содержащие гибкие поликарбонатные блоки;

полиуретан «*Chrono Thane*™», содержащий ароматические фрагменты и блоки простого полиэфира; гидрофильный термопластичный полиуретан «*Hydrothane*™». Отечественные сегментированные полиуретаны типа «*Гемотан*», получаемые на основе политетраметиленаоксида, этилендиамина и ароматического дифенилметан-4,4'-диизоцианата, разработаны во ВНИИ медицинских полимеров (Москва). Применение находят также материалы марок «*Surethane*», «*Petrach*» и ряд других. Простые полиэфиры-уретаны обладают высокой гемосовместимостью и являются одним из предпочтительных типов полимеров для изделий, контактирующих с кровью.

Поливиниловый спирт (ПВС) используется в замещении органов и тканей в ограниченном числе случаев. Это определяется быстрой биодegradацией в организме изделий из этого полимера, определяемой его высокой гидрофильностью и растворимостью в воде. ПВС, сшитый глутаровым альдегидом, под маркой «*Гелевин*» самостоятельно и в композициях может быть использован как сорбционный материал для поглощения раневого экссудата. ПВС, как и большинство карбоцепных полимеров, с трудом подвергается биодеструкции в организме. В определенных условиях он также может подвергаться биодеструкции, например, с участием некоторых микроорганизмов. Окисленный поливиниловый спирт, содержащий карбонильные группы, может быть получен также окислением ферментом алкогольдегидрогеназой. Дальнейший распад полимера может проходить как в присутствии ферментов, так и химически.

Природные биоразрушаемые полимеры

В последние десятилетия растет интерес к биодegradуемым природным (биологическим) полимерам (альгинатам, коллагену,

желатину, хитозанам, фиброинам шелка) и полиэфирам бактериального происхождения – полигидроксиалканатам (ПГА), синтезируемым микроорганизмами. К недостаткам природных биополимеров относят высокую стоимость их получения, сложность обработки, недостаточную механическую прочность. Довольно широкое применение в медицине нашли распространенные природные полисахариды хитозан и альгинат, которые по структурным характеристикам сходны с гликозаминогликанами. Гликозаминогликаны – гидратные составляющие внеклеточного матрикса, находятся в соединительной ткани в виде комплексов с белками и связаны с ними слабыми и прочными межмолекулярными взаимодействиями. В медицинской практике эти полисахариды в виде пленок, губок и гидрогелей используют как раневые, ожоговые и заживляющие покрытия, в системах доставки клеток, лекарственных веществ и различных факторов роста, в качестве шовных материалов и тканевых адгезивов.

Собственно хитин и его производные, а также в сочетании с другими природными материалами (желатином, гепарином, альгинатом) используют достаточно широко. Недостатками хитозанов являются известная хрупкость и изменение структуры при стерилизации различными методами, включая радиационный. Среди полисахаридов внимание привлекает хитозан, получаемый гидролизом хитина, который выделяют из панцирей ракообразных. Доступность хитозанов, способность к биодegradации и биосовместимость позволяют использовать их в качестве перевязочного материала, для закрытия ожоговых поверхностей, а также в клеточной и тканевой инженерии в качестве матриксов для выращивания клеток.

Альгинат – природный линейный полисахарид, получаемый из морских водорослей

или биотехнологической ферментацией, одобрен Департаментом по контролю качества продуктов и лекарств США (United States Food and Drug Administration – F.D.A.) в качестве ранозаживляющего материала. Альгинаты в виде волокон (смесь альгината натрия и кальция) и пленок используют для первичной обработки ран и ожогов. Благодаря способности альгинатов полимеризоваться и формировать гели в присутствии двухвалентных металлов (кальция, магния и других) их используют в качестве матриксов для культивирования клеток.

Альгинаты с высоким содержанием гиалуроновой кислоты – распространенный матрикс для депонирования (методом механического захвата или включения в гели) и доставки алло-, ксено- и генетически модифицированных клеток и тканей, а также лекарственных средств. Альгинат, стабилизированный полилизинном, используют для иммобилизации островковых клеток поджелудочной железы, фибробластов, гематопэтических клеток костного мозга, паратериоидных клеток, различных клеток, выделяющих моноклональные антитела, комплексные биомолекулы (антибиотики, гормоны, вакцины, ферменты и другое). Известны примеры использования пористых альгинатных губок для восстановления проводимости нервной ткани. Однако вследствие потери альгинатным гелем ионных сшивок свойства альгинатных матриксов со временем ухудшаются.

Гиалуроновая кислота (ГК) – гликозаминогликан, естественный компонент межклеточного вещества мягких тканей позвоночных, – перспективный материал для восстановительной хирургии и тканевой инженерии. Одна молекула гиалуроновой кислоты способна связывать до 1000 молекул воды. Этот гликозаминогликан используется в медицине при офтальмологических

операциях, болезнях суставов в ортопедии, в качестве барьерных мембран, ожоговых покрытий, а также в косметологии. Установлено, что экзогенная ГК ингибирует пролиферацию фибробластов, и относительно высокая концентрация ГК во внеклеточном пространстве в процессе и в первую фазу регенерации тканей частично ограничивает отложения внеклеточного матрикса и коллагена, что предполагает роль ГК в предотвращении фиброза и формировании рубцовой ткани.

Коллаген – распространенный природный полимерный материал, широко применяется в медицине. Этот фибриллярный белок является одним из основных компонентов костной, хрящевой и соединительной тканей. Молекула коллагена имеет стержневидную форму и состоит из трех α -цепей, формирующих правозакрученную тройную спираль. Недостатком коллагена является нерегулируемое время биodeградации и ограниченный срок функционирования (не более месяца) в организме. В настоящее время разработаны методы получения больших количеств коллагена медицинской чистоты. В результате многолетних исследований и дискуссий было принято решение, что достоверного уровня ограничений к имплантационному введению медицинского коллагена животного происхождения (например, продукта марки «Collagen™» фирмы Collagen Corporation) нет, несмотря на известные случаи отрицательной реакции на коллагеновые имплантаты. Области применения коллагена в медицине – эндопротезы мягких тканей, компоненты материалов для лечения поражений кожного покрова, эндопротезирование жидкостных протоков, основы шовных волокон и др. Для улучшения свойств имплантируемых материалов на основе коллагена и придания им большей механической

прочности предложено получать композиты коллагена с керамиками и синтетическими полимерами (полиэтиленом, поливиниловым спиртом, полисилоксанами). Композиты коллагена и гидроксипатита рассматриваются в качестве остеозамещающего материала для восстановления дефектов костной ткани в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии.

Белки группы фибрина представляют интерес для медицины. Фибрин – мономер, участвующий в процессе тромбообразования и образующийся при отщеплении от гликопротеина крови фибриногена двух низкомолекулярных пептидов ($M_v = 2000$ и 2500 Да) под действием фермента тромбина. Фибрин может быть использован в виде фибрин-полимерного сгустка для покрытия пораженных участков кожного покрова, в качестве тканевого адгезива в офтальмологии, сосудистой и лицевой хирургии, в виде порошка в качестве гемостатического агента для обработки ран, в составе пломбирующих композиций для заполнения дефектов костей, в виде фибриновой пены в качестве гемостатического и пломбирующего средства, в виде пленки в качестве покрытия для кожных поражений. На основе фибрина разработан специализированный материал «Bioplast», содержащий от 20 до 50 % глицерина, обладающий повышенной механической прочностью (прочность при сжатии до 76 МПа, прочность при разрыве до 83 МПа, прочность при изгибе до 35 МПа). Поэтому этот материал используют в качестве пластификатора, исходного материала при операциях на суставах; в офтальмологии при отслаивании сетчатки и др.

Желатин – денатурированная форма коллагена. Этот природный полимер находит применение в качестве матриксов для выращивания клеток *in vitro*.

Биоразрушаемые природные полигидроксиалканоаты

Особое место среди биоматериалов нового поколения занимают полимеры микробиологического происхождения – так называемые полигидроксиалканоаты (ПГА, (английская аббревиатура – PHA, polyhydroxyalkanoates) (Volova, 2004; Sudesh, Abe, 2010; Chanprateep, 2010.). Потенциально сферы применения ПГА широки и могут включать сельское и коммунальное хозяйство, радиоэлектронику, фармакологию. Особо перспективны эти полимеры для разработки изделий и устройств медико-биологического назначения, включая возможность получения нетканых и одноразовых изделий, шовных и перевязочных материалов, контролируемых систем доставки лекарственных средств, матриц для клеточной и тканевой инженерии, элементов для восстановительной хирургии и трансплантологии (Volova et al., 2013; Microbiol. Monogr. Plastics from bacteria. Natural functions and applications, 2010; Sudesh, 2010).

Полигидроксиалканоаты находятся на втором месте по значимости среди разрабатываемых сегодня биопластиков. Эти полимеры изучают сравнительно недавно, с конца 80-х – начала 90-х гг. XIX в. ПГА синтезируются в одну стадию биотехнологическим способом на различных типах сырья, включая отходы сахарной промышленности, производства пальмового масла, гидролизаты растительных биомасс и др. В отличие от полилактидов ПГА термопластичны, имеют более высокие прочностные характеристики, не растворяются в водных средах, поэтому сроки их биодеструкции более длительны; продукт распада – мономеры масляной кислоты – не вызывает такого резкого закисления тканей, как молочная кислота. ПГА имеют следующие особенности и преимущества: 1) технология биосинтеза ПГА позволяет получать образцы

полимеров разной химической структуры, различающихся степенью кристалличности, гибкости, механической прочности, скоростями биodeградации; 2) базовые свойства ПГА дают возможность применять различные способы переработки (прессование из расплавов и порошков, экструзию из расплавов, переработку из растворов и эмульсий) для получения широкого спектра изделий – пленок, мембран, шовных волокон, объемных плотных и пористых матриц, полимерных покрытий, полимерных эндопротезов различных типов; 3) основной компонент ПГА – 3-гидроксимасляная кислота – является естественным продуктом обмена клеток и тканей, а конечный продукт биodeградации ПГА – диоксид углерода и вода; это позволяет получать изделия для биомедицины высокой биосовместимости, имплантация которых не сопровождается образованием продуктов, влияющих, например, на pH тканей, вызывающих воспалительные или иные негативные реакции (например, имеющие место при деградации полилактидов); 4) истинная биологическая деградация и возможность варьирования состава ПГА позволяют задавать времена и кинетику разрушения.

Среди зарубежных научных коллективов, плодотворно работающих по проблемам синтеза и изучению свойств разрушаемых полигидроксиалканоатов, признанные лидеры: профессор Сински (Массачусетский институт технологий (MIT), США); профессор Витольт и доктор Зинн (Институт биотехнологии, Цюрих, Швейцария); Институт молекулярной биотехнологии и микробиологии во главе с его директором, профессором Штайнбюхелем (Мюнстер, Германия); коллектив профессора Дои (Технологический университет, Япония); лаборатория профессора Джендросека (Институт микробиологии Университета Штутгарта, Германия); коллектив, возглавляемый

профессором Ли (Химико-биоинженерный центр, Южная Корея); лаборатория профессора Маршалта (Канада), профессор Реах (отделение микробиологии и молекулярной генетики Мичиганского университета, США); профессор Скандола (отделение химии Университета Болоньи, Италия); профессор Чхен (отделение биологии и биотехнологии Пекинского университета, Китай) и др.

За рубежом имеется серия технологий с применением различных штаммов-продуцентов и субстратов для получения ПГА (табл. 1).

В основном исследованы и применяются высококристаллический гомополимер 3-гидроксимасляной кислоты (ПЗГБ) и сополимеры 3-гидроксипропионата с 3-гидроксивалератом (ПЗГБ/ЗГВ).

Большое внимание в настоящее время уделяется резиноподобным сополимерам П(ЗГБ/4ГБ). Природные штаммы *Ralstonia eutropha* и рекомбинантные продуценты на основе *Ralstonia* и *E.coli* используются для получения этого типа ПГА в США и Китае. Этот сополимер синтезируется на среде с добавками гамма-бутиролактона или 1,4-бутандиола. Полагают, что этот тип сополимера станет лидером на рынке разрушаемых ПГА.

Наименее продвинутыми типами ПГА сегодня являются среднецепочечные сополимеры, образованные мономерами с длинной углеродной цепи C_4-C_{12} . Самые ранние работы по этим типам ПГА проведены в конце 80-х гг. прошлого века в компании «Procter & Gamble», где был получен большой массив данных по структуре и свойствам этих ПГА (Noda, 1999). Семейство ПГА, образованных среднецепочечными мономерами различной длины, выпущено под торговой маркой Nodax™ сотрудниками «Meridian» (Noda et al., 2005). В 2007 г. для

коммерциализации этого класса ПГА технологию, разработанную «Procter & Gamble», приобрела компания «Meridian», которая занялась планированием крупномасштабных производств. В настоящее время эти сополимеры потенциально перспективны, однако их стоимость пока еще достаточно высока для крупного масштабирования и широкого применения.

Для производства ПГА используются различные штаммы-продуценты и типы сырья. Это природные штаммы *Ralstonia eutropha* (переименованные в *Cupriavidus necator*); *Alcaligenes latus*, *Aeromonas hydrophila*; *Pseudomonas oleovorans*.

С ростом цен на нефть в начале XXI в. повсеместно за рубежом произошло активное масштабирование лабораторных процессов синтеза ПГА до уровня пилотных и малых промышленных производств. Несмотря на драматическое снижение стоимости нефти, которое случилось в 2008 г., и закрытие ряда компаний, разрабатывающих производства ПГА, эти полимеры считают наиболее перспективным материалом не только в силу высоких потребительских свойств, но и в экологическом плане как фактор снижения накопления CO_2 в биосфере. Решающей для расширения масштабов производства и сфер применения является необходимость снижения стоимости ПГА, а также разработка новых специализированных полимерных продуктов, имеющих высокую добавочную стоимость, например медико-биологического назначения.

В России исследования, ориентированные на разрушаемые полимерные материалы, в целом пока не получили должного развития. Что касается полимеров класса ПГА, то в настоящее время изучение этих полимеров, главным образом гомогенного и высококристаллического поли-3-гидроксипропионата, в сфе-

Таблица 1. Природные и рекомбинантные штаммы бактерий и субстраты, используемые для пилотных и промышленных способов получения ПГА

Вид	Штамм	Тип ПГА, объем выпуска (тыс. т)	Источник углерода	Выход биомассы (г/л)	Выход ПГА (%)	Компании
<i>Ralstonia eutropha</i>	Природный штамм	П(ЗГБ) (10)	Глюкоза	200	80	«Tiangin Northern Food» (Китай)
<i>Alcaligenes latus</i>	Природный штамм	П(ЗГБ) (10–300)	Глюкоза или сахароза	60	75	«Chemie Linz», «bfF» (Австрия); «Biomers» (Германия)
<i>Escherichia coli</i>	Рекомбинантный штамм	П(ЗГБ) (10)	Глюкоза	150	80	«Jian Su Nan Tian» (Китай)
<i>Ralstonia eutropha</i>	Природный штамм	П(ЗГБ/ЗГВ) (300–2000)	Глюкоза-пропионат	160	75	«ICI» (УК); «Zhejiang Tian An», Китай
<i>Ralstonia eutropha</i>	Природный штамм	П(ЗГБ/4ГБ)	Глюкоза + 1,4-бутан-диол	100	80	«Metabolix» (США)
<i>Escherichia coli</i>	Рекомбинантный штамм	П(ЗГБ/4ГБ) (410 000)	1,4-бутан-диол	100	75	«Tianjing Green Bio-Science» (Китай)
<i>Ralstonia eutropha</i>	Рекомбинантный штамм	П(ЗГБ/ЗГГ) (1)	Жирные кислоты	100	80	«P&G» (USA); «Kaneka» (Japan)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Природный штамм	П(ЗГБ/ЗГГ) (1)	Лауриновая кислота	50	50	«P&G» (USA); «Jiangmen Biotech Ctr» (Китай)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	phbAV + vgb	П(ЗГБ/ЗГГ) (0.1)	Лауриновая кислота	50	450	«Shandolng Lukanng» (Китай)
<i>Pseudomonas putida</i> , <i>P. oleovorans</i>	Природный штамм	П(ЗГБ/ЗГГ) (0.1)	Жирные кислоты	45	60	«ETH» (Швейцария)
<i>Bacillus spp.</i>	Природный штамм	П(ЗГБ) (5)	Сахароза	90	50	«Biocycles» (Бразилия)

ре внимания нескольких не связанных между собой научных коллективов.

Помимо Сибирского федерального университета (СФУ) (до 2007 г. – Красноярский госуниверситет) и Института биофизики СО РАН (ИБФ СО РАН), сотрудниками которых инициированы исследования ПГА в РФ и получен приоритетный массив результатов, следует отметить Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН и Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. К.Г. Скрыбина РАН (ИБФМ РАН) (Пушино).

В Институте биохимии им. А.Н. Баха РАН (г. Москва) создана коллекция штаммов азотфиксирующих микроорганизмов, разработаны и запатентованы технологии синтеза поли-3-гидроксibuтирата и сополимеров с 3-гидроксивалератом на глюкозе бактериями рода *Rhizobium*, *Azotobacter*. Совместно с кафедрой биоинженерии МГУ исследуются физико-химические свойства полимеров, применимость П(ЗГБ) в качестве платформы для депонирования лекарственных и ларвицидных препаратов, биосовместимых покрытий и др.; изучается возможность получения из ПГА изделий биомедицинского назначения.

В Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. К.Г. Скрыбина (Пушино) проведены обширные фундаментальные исследования способности к синтезу ПГА метилотрофных микроорганизмов с различными биохимическими путями усвоения метанола. В результате варьирования условий углеродного питания на примере метилотрофных микроорганизмов с сериновым путем авторам удалось реализовать процесс получения поли-3-гидроксibuтирата и сополимеров с 3-гидроксивалератом при изменении соотношения мономеров в полимере в достаточно широких пределах. Подобранные условия культивирования метилотрофных организмов позволили авторам реализовать

лабораторную технологию получения полигидроксialканоатов и приступить к исследованию. В настоящее время коллективом решается проблема повышения молекулярной массы поли-3-гидроксibuтирата для улучшения технологических свойств.

В Сибирском федеральном университете совместно с Институтом биофизики СО РАН, который является базой кафедры биотехнологии университета, выполнен цикл пионерных фундаментальных исследований закономерностей синтеза разрушаемых полигидроксialканоатов; найдены ключевые факторы, определяющие выходы, химическую структуру и физико-химические свойства полимеров; разработаны, реализованы и запатентованы процессы получения полимеров различного состава, двух-, трех- и четырехкомпонентных сополимеров, образованных мономерами 3- и 4-производными гидроксibuтирата, 3-гидроксивалерата, 3-гидроксигексаноата с различными свойствами (от высококристаллических термопластов до конструкционных эластомеров) с высокими выходами на различных субстратах (фруктозе, глюкозе, ацетате, сахаросодержащих гидролизатах растительных биомасс, смесях водорода с диоксидом углерода; водородсодержащих продуктах переработки бурых углей, гидролизного лигнина). Полученные результаты опубликованы в представительной серии журнальных статей и защищены патентами. Обобщением результатов стала серия изданных монографических изданий (Волова с соавт., 2003; 2006; Волова, Шишацкая, 2011; Volova, 2004; Volova et al., 2013). Разработаны и исследованы биосовместимые конструкции пленочного, мембранного и объемного типов, в т.ч. образованные ультратонкими волокнами методом электростатического формования в качестве матриц функционирующих клеток для задач клеточной и тканевой инженерии;

микрочастицы, нагруженные лекарственными препаратами, пригодные для различных способов введения, в т.ч. для доставки цитостатиков в место развития опухолей; конструкции и гибридные композиты с гидроксипатитом для репаративного остеогенеза, самостоятельные эндопротезы и полимерные покрытия. Зарегистрирована торговая марка полимеров и изделий «Биопластотан». Выполнены комплексные и многоцентровые медико-биологические исследования; ряд изделий прошел пилотные клинические испытания (шовный материал, сетчатые эндопротезы, эндобилиарные стенты, раневые покрытия, костнопластический материал, в т.ч. для реконструкции дефектов костной ткани, осложненных остеомиелитом).

Проработаны вопросы инженерной реализации и масштабирования технологий. В рамках проекта Международного научно-технического центра (МНТЦ) совместно с АОО «Биохиммаш» (г. Москва) создано первое в России Опытное производство полигидроксиполлактонатов, укомплектованное серийным РФ и нестандартным оборудованием. В ходе эксплуатации ОПУ в 2004-2006 гг. показано, что его основные технико-экономические показатели соответствуют расчетным; получены крупные партии полимеров для технологических испытаний и исходные данные для последующего масштабирования технологии (Волова с соавт., 2006).

В результате выполнения Сибирским федеральным университетом двух мегапроектов по Постановлениям Правительства РФ № 219 и 220 от 9 апреля 2010 г. в нем создана инновационная структура по биотехнологии разрушаемых биопластиков мирового уровня, не имеющая аналогов в России, включающая опытное производство полимеров с ферментационной линией «Bioengineering» (Швейцария), аналитическое подразделение

и серию лабораторий для процессинга полимеров и получения специальных полимерных изделий, их изучения, которые укомплектованы самым современным оборудованием и приборами.

Промышленный синтез ПГА

За рубежом продвижением и коммерциализацией технологий синтеза ПГА занимаются многие фирмы и компании в промышленно развитых странах (табл. 2). С 1980-х гг. до настоящего времени различные компании пытались и продолжают создавать производства для выпуска ПГА в опытном или производственном масштабах. Основой для развития этого направления работ являются колебания цен на нефть с прогнозируемой исчерпаемостью ее запасов, что в конечном счете должно заставить человечество перейти на экологически чистые полимерные материалы, получаемые за счет возобновляемых ресурсов. Среди активных разработчиков процессов производства ПГА – различные фирмы, компании и корпорации, включая «Монсанто Ко», «Metabolix Inc.», «Tepha», «Procter&Gamble», «Berlin Packaging Corp.», «Bioscience Ltd.», «BioVentures Alberta Inc.», «Merck», выпускающие полимеры под марками Biopol[®], Biopol[™], TephaFLEX[™], DegraPol/btc[®], Nodax[™].

Первой промышленной корпорацией, начавшей освоение индустриального производства ПГА, была корпорация ICI в Великобритании, в рамках которой фирмы «Zeneka Seeds» и «Zeneka Bio Product» в 1992 г. начали выпуск поли-3-гидроксиполлактоната и сополимеров 3-гидроксиполлактоната с 3-гидроксиполлактонатом (товарное название продукта «Биопол[®]»). При масштабах производства в 10–15 тыс. т в год цена биопола достигала \$16 000/т. Это было более чем на порядок выше стоимости на мировом рынке полипропилена.

Таблица 2. Зарубежные компании, ориентированные на производство ПГА

Компания	Типы ПГА	Масштаб производства (т/год)	Период времени	Применение
«ICI» (Великобритания)	П(ЗГБ/ЗГВ)	300	1980–1990 гг.	Упаковка
«Chemie Linz» (Австрия)	П(ЗГБ)	20–100	1980-е гг.	Упаковка, доставка лекарств
«BtF» (Австрия)	П(ЗГБ)	20–100	1990-е гг.	Упаковка, доставка лекарств
«Biomers» (Германия)	П(ЗГБ)	Неизвестно	1990-е гг. до настоящего времени	Упаковка, доставка лекарств
«BASF» (Германия)	П(ЗГБ), П(ЗГБ/ЗГВ)	Пилотный масштаб	1980-е гг. до 2005 г.	Смешивание с Ecoflex
«Metabolix» (США)	П(ЗГБ), П(ЗГБ/ЗГВ)	Неизвестно	1980-е гг. до настоящего времени	Упаковка
«Terpa» (США)	Различные ПГА, в т.ч. П(ЗГБ/4ГБ)	Неизвестно	1990-е гг. до настоящего времени	Медицинские биоимпланты
«ADM» (США) (с «Metabolix»)	П(ЗГБ), П(ЗГБ/ЗГВ)	50 000	с 2005 до настоящего времени	Сырье
«P&G» (США)	Среднепечочечные ПГА	Изготавливает по контрактам	1980-е гг. до настоящего времени	Упаковка
«Monsanto» (США)	ПЗГБ, ПЗГБ/ЗГВ	Заводское производство ПГА	1990-е гг.	Сырье
«Meridian» (США)	П(ЗГБ), П(ЗГБ/ЗГВ)	10 000	с 2007 г. до настоящего времени	Сырье
«Kaneka» (Япония) (с P&G)	П(ЗГБ), П(ЗГБ/ЗГВ)	Неизвестно	1990-е гг. до настоящего времени	Упаковка
«Mitsubishi» (Япония)	П(ЗГБ)	10	1990-е гг.	Упаковка
«Biocycles» (Бразилия)	П(ЗГБ)	100	1990-е гг. до настоящего времени	Сырье
«Bio-Op» (Италия)	ПГА	10 000	с 2008 до настоящего времени	Сырье
«Zhejiang Tian An» (Китай)	П(ЗГБ/ЗГВ)	2 000	1990-е гг. до настоящего времени	Сырье
«Jiangmen Biotech Str» (Китай)	П(ЗГБ/ЗГГ)	Неизвестно	1990-е гг.	Сырье
«Yikeman, Shandon» (Китай)	П(ЗГБ)	3 000	с 2008 г. до настоящего времени	Сырье
«Tiangin Northern Food» (Китай)	П(ЗГБ)	Пилотный масштаб	1990-е гг.	Сырье
«Shantou Lianyi Biotech» (Китай)	Различные ПГА	Пилотный масштаб	1990-е до 2005	Упаковка и медицина
«Jian Su Nan Tian» (Китай)	П(ЗГБ)	Пилотный масштаб	1990-е гг. до настоящего времени	Сырье
«Shenzhen O'Bioer» (Китай)	Различные ПГА	Неизвестно	с 2004 г. до настоящего времени	Неясно
«Tianjing Green Bio-Science» (Китай)	П(ЗГБ/ЗГБ)	10 000	2004 г. до настоящего времени	Сырье и упаковка

Лидером в области коммерциализации ПГА сегодня является фирма «Metabolix, Inc.» (США), основанная в 1992 г. в Кембридже (Массачусетс). Компания имеет свыше 500 патентов и лицензий на этот процесс по всему миру. В настоящее время производит полимеры с использованием рекомбинантных штаммов *E.coli* K12 на основе сахаров. Торговые марки полимеров – Biopol®, Biopol™. Компания имеет дочерние фирмы в ряде стран.

В 2004 г. «Metabolix» сформировал стратегический альянс с компанией «Archer Daniels Midland Company» (ADM) для коммерциализации ПГА, используя производственные мощности второго партнера. В 2009 г. «Metabolix» планировал выпустить на рынок линейку ПГА под маркой «Mirel». Для этого были созданы промышленные мощности в г. Клинтон (штат Айова) и планировался запуск производства трех типов продукта под этой маркой объемом 55 тыс. т/год. Для разработки нового продукта подписан договор с австралийским Центром исследования сахара. «Metabolix» также активно сотрудничает с компанией «British Petroleum» для дальнейшего развития прямого производства пластиков с использованием сахаросодержащих продуктов переработки проса. Технология получила поддержку на государственном уровне от Департамента сельского хозяйства США и в рамках Программы разработки перспективных технологий Департамента торговли США.

«Tepha Inc.» (США) организована в 1998 г. как сестринская компания «Metabolix, Inc.» и ориентирована на медицинское применение полигидроксиалканоатов. Имеет более 30 лицензий на производство изделий из ПГА. Для синтеза полимеров применяется запатентованная ферментация трансгенных микроорганизмов. Марка продукта – «TephaFLEX™». «Procter & Gamble, Chemicals» (США) разра-

батывает и осваивает производство многокомпонентных ПГА, содержащих мономеры с длиной углеродной цепи от C₄ до C₁₂. Стратегия фирмы, в отличие от «Metabolix», нацелена на разработку другой разновидности биополимеров, производимых ферментацией сахаров и жирных кислот и выпускаемых под маркой Nodax™. Эти биопластики представляют собой сополимеры алкановых кислот (3-гидроксibuтирата и 3-гидроксигексаноата) и тройные сополимеры 3-гидроксibuтирата/3-гидроксигексаноата/3-гидроксидеканоата. По строению биополимеры Nodax схожи с полиэтиленом низкого давления и характеризуются наличием боковых ответвлений от основной цепи, поэтому полимеры марки Nodax имеют меньшую по сравнению с Biopol температуру плавления и стеклования, а также меньшую кристалличность, что облегчает переработку полимера в изделия.

Производства ПГА в настоящее время осваивают или планируют практически все развитые страны, однако решающим для начала широкомасштабного получения и применения является снижение их стоимости (Chen, 2010). Так, промышленный процесс синтеза гомополимера 3-гидроксимасляной кислоты реализуется в Австрии, где в качестве продуцента используют *Alcaligenes latus*, синтезирующий П(ЗГБ) с содержанием до 90 %. В качестве сырья используют различные соединения, включая отходы. Имеется производство мощностью до 1 т в неделю в аппаратах объемом 15 м³. Этот процесс в настоящее время приобретен компанией «Biomer» (Германия).

В 1995 г. в Бразилии запущено пилотное производство поли-3-гидроксibuтирата для наработки полимера в количествах, необходимых для проведения всех испытаний и тестирования, а также обучения персонала, технико-экономической оценки и последую-

щего масштабирования процесса. По технологии этой компании процесс производства составляет 120–150 г/л биомассы с содержанием полимера 60–65 %, т.е. при продуктивности 1,44 кг/м³ в час с расходом сахарозы 3,1 кг/кг полимера. Сахарной компанией «Copersucar» в 2001 г. реализован процесс производства ПГА с использованием отходов переработки сахарного тростника (Natano et al., 2001). Энергетические потребности технологии покрываются в результате использования энергии зеленой биомассы. В 2001 г. разработчиками было объявлено о намерении масштабирования технологии до уровня производства объемом 10 000 т/год. Развитие производства ПГА будет при этом позитивно влиять на сахарную отрасль страны, т.е. у этого процесса есть высокий потенциал для дальнейшего расширения. С учетом гигантских масштабов сахарной промышленности в Бразилии и уровня синтезируемой ежегодно зеленой биомассы на плантациях сахарного тростника имеется хорошая перспектива для трансформации этого источника в разрушаемые полимеры без негативного влияния на структуру и эффективность сахарной промышленности.

Производство ПГА в Китае базируется на использовании высокопродуктивных природных штаммов *Ralstonia eutropha* и рекомбинантных штаммов, а также штаммов других таксонов. В Китае разработан процесс синтеза сополимера 3-гидроксипропионата с 3-гидроксивалератом эффективным способом, без добавления в ферментер чистого кислорода. Получены выходы по биомассе до 160 г/л за 48 ч в ферментере объемом 1000 л. Выход сополимера при этом составляет 80 % с продуктивностью 2,5 г/л·ч. Содержание 3-гидроксивалерата в сополимере – 8–10 мол. %. Имеется возможность дальнейшей оптимизации процесса и снижения стоимости сополимера.

Технология производства этого сополимера может быть коммерчески выгодной при ряде условий, включая высокие выходы биомассы и высокие выходы собственно сополимера, а также снижение затрат на исходное сырье. С использованием штаммов *Ralstonia* на пилотном производстве в ферментере объемом 1 м³ отработаны режимы ферментации; достигнутые показатели: за 48 ч на глюкозо-минеральной среде выход биомассы равен 160 г/л при концентрации полимера в клетках 80 %. Аналогичный результат получен в 10 м³ ферментере, но с использованием рекомбинантного штамма *E. coli* (Chen, 2010).

Области применения ПГА

ПГА по основным физико-химическим свойствам сходны с широко применяемыми и выпускаемыми в огромных количествах и неразрушаемыми в природной среде синтетическими полиолефинами. Помимо термопластичности, ПГА-полимеры обладают биоразрушаемостью и биосовместимостью, а также оптической активностью, антиоксидантными свойствами, пьезоэлектрическим эффектом. Линейная структура молекул ПГА придает им свойство термопластичности и изменения прочности (возрастание по направлению растяжения). При нагревании молекулярные цепи в ПГА легко сдвигаются относительно друг друга, в результате чего материал размягчается и приобретает текучесть. Данное технологическое свойство имеет большую коммерческую ценность, так как позволяет с использованием различных методов (прессования, экструзии и др.) получать из этих полимеров разнообразные изделия. Следует отметить, что при переработке и прессовании широко используемых в настоящее время многих синтетических пластиков необходимы различные добавки (стабилизаторы, наполнители, красители и

пр.). Этого практически не требуется при переработке ПГА, которые формируются из растворов и расплавов.

ПГА-полимеры имеют перспективы применения в различных областях:

- сельское хозяйство (горшечная продукция для рассады, разрушаемая пленка для теплиц и парников и др., инвентарь для теплиц);
- разрушаемые покрытия семян и удобрений, основа для депонирования ядохимикатов и удобрений с целью их адресности, снижения норм внесения и рисков аккумуляции в трофических цепях биоты; пролонгированные ларвицидные препараты;
- легкая промышленность и коммунальное хозяйство – разрушаемая упаковка и тара, одноразовые посуда и бытовые изделия;
- предметы санитарии и гигиены (нетканая одноразовая одежда, постельные принадлежности, памперсы, салфетки и т.п.);
- фармакология – биоразрушаемая основа для депонирования и адресной и долговременной доставки лекарственных препаратов;
- медицина – эндопротезы и имплантаты для реконструктивной хирургии (шовный материал, стенты, пломбировочный материал, костнопластический материал и элементы для остеосинтеза, биосовместимые покрытия для металлических и синтетических эндопротезов и др.); материал и конструкции для клеточной и тканевой инженерии.

Технологии получения из ПГА специализированной продукции базируются на способности этих полимеров перерабатываться из различных фазовых состояний (порошков,

растворов, эмульсий, расплавов) доступными методами:

- прямым холодным прессованием,
- прессованием и экструзией расплавов,
- техникой испарения растворителя,
- техникой микроинкапсулирования и микродроппинга,
- электростатическим формованием.

Возрастающие требования к охране окружающей среды, с одной стороны, и имеющиеся перспективы снижения стоимости полимеров за счет повышения эффективности производства – с другой, делают этот класс биополимеров одним из перспективных материалов XXI в. Для более широкого применения ПГА возможны два подхода.

Первый подход – это крупномасштабное применение, т.е. наращивание объемов производства при условии снижения стоимости для выпуска доступных и недорогих изделий (упаковка, тара, бытовые изделия, пленочная и горшечная продукция для тепличных хозяйств и т. п.).

Второй подход – это малотажные производства полимеров для выпуска специализированной продукции с высокой стоимостью. Особо перспективным считается применения ПГА в медицине и фармакологии. Мягкий иммунный ответ на имплантацию ПГА и длительность процесса разрушения в биологических средах делают эти полимеры привлекательными для создания лекарственных препаратов с длительным и контролируемым выходом, в качестве имплантатов и хирургических эндопротезов для восстановления тканей и органов, для новых направлений, связанных с клеточной инженерией и конструированием биоискусственных органов.

Полигидроксibuтират и его сополимеры с валератом используют для получения термопластичных адгезивных материалов, а длинноцепочечные ПГА – в качестве адгезивов,

устойчивых при прессовании. ПГА применимы для замены нефтехимических полимеров в качестве тонеров и проявителей, а также ион-проводящих полимеров. Из ПГА возможно получение гибких пленок различной толщины, в том числе полупроницаемых мембран, нитей, нетканых материалов, различных полых форм (бутыли, контейнеры, коробки и пр.), а также гелей и клеев.

ПГА активно исследуются для переработки в США, Скандинавии, Германии и Голландии. Безусловные перспективы и широкий рынок изделий из ПГА наметился в косметологии – это получаемые экструзией различной формы флаконы, банки, бутылки, контейнеры и коробки. Первой бутылки из ПГА для шампуня стала использовать компания «Wella AG» в Германии. Компании «Biomers», «Metabolix» начали применять короткоцепочечные ПГА как упаковочную пленку, пакеты, контейнеры, для ламинирования бумаги, для покрытия различных бытовых предметов – для изготовления пишущих ручек, игрушек, спортивных изделий, контейнеров, одноразовых предметов, таких как лезвия для бритвы, посуда, подгузники, женские одноразовые гигиенические изделия, компостируемые сумки, тубики для кремов и др.

Отдельные типы ПГА образуют прочные гели и латексы, поэтому на их основе возможно изготовление клеев, наполнителей, в том числе для стабилизации красителей. Ламинаты ПГА с бумагой и другими полимерами хорошо зарекомендовали себя для изготовления мешков и пакетов для хранения разрушаемого мусора, а также одноразовой посуды. Такие композиционные материалы быстро разрушаются в компостах и почве. Расплавами ПГА возможно ламинирование бумаги и картона. Из ПГА можно производить нетканые материалы, различные предметы личной гигиены и пр.

Помимо упаковочной тары, контейнеров для пищи и одноразовой посуды ПГА применяются также в качестве пищевых добавок, например заменителя сливок, средств доставки ароматизаторов и отдушек. Из ПГА, находящихся в различных фазовых состояниях (растворы, гели, порошки, расплавы), возможно получение различных изделий с использованием общепринятых методов переработки полимеров.

Данный материал исследуется и внедряется в различные сферы, включая необычные, например применение в условиях морской воды. Это направление возникло после того, как стало известно, что ПГА достаточно прочны, но при этом хорошо разрушаются не только в почве, но и в морской воде. Монофильные крученые нити из сополимерных ПГА используются для изготовления рыболовных сетей, ловушек для крабов, канатов, а также в практике морской аквакультуры. Биodeградируемые пленки из Биопола®, покрытые поливинилом, используются для выращивания морских водорослей. Такие изделия сохраняют исходные прочностные свойства в течение 3 месяцев, а смеси поликапролактона с ПГА препятствуют прикреплению водорослей в ходе эксплуатации, тем самым создавая условия для выращивания морской фауны с целью получения морепродуктов.

Более широкие возможности для применения открывает получение ПГА различного химического состава, имеющих высокие потребительские свойства (Noda et al., 2010; Poliakoff and Noda, 2004). Это, прежде всего, среднецепочечные ПГА, изделия из которых, в отличие от короткоцепочечных ПГА, имеют более высокую механическую прочность и большую эластичность. Необычные ПГА, содержащие различные функциональные группы, включая двойные связи, гидроксильные и/или карбоксильные группы, а также легко

заменяемые боковые группы, имеют потенциально широчайший спектр свойств и областей применения. Таким образом, сегодня стало реальным создание и получение ПГА с ожидаемой структурой. ПГА, содержащие запланированные функциональные боковые группы, позволяют через модификацию химической структуры изменять состояние полимера, ведущее к расширению применений ПГА.

На рынке представлены также продукты деполимеризации и гидролиза ПГА. Из этих полимеров возможно получение спектра оптически чистых многофункциональных гидроксикислот. Обсуждаются и потенциальные питательные свойства ПГА. Несколькими исследовательскими группами в ходе изучения ряда нарушений обмена, например, метаболического ацидоза в качестве альтернативы мономерам натриевых солей оценены мономеры R-3-полигидроксимасляной кислоты и их пищевой и терапевтический потенциал. Используя такие полимерные формы вместо натриевых солей, можно контролировать выход мономеров из них, особенно это важно в случаях наличия высоких уровней ионов натрия *in vivo*.

Открывающееся направление перспективности ПГА – это получение биотоплива. Сравнительно недавно показано (Zhang et al., 2009), что метиловые эфиры 3-гидроксibuтирата и среднепечечных ПГА, полученные этерификацией ПЗГБ и среднепечечных ПГА, могут быть использованы как биотопливо. Температура сгорания этих соединений 20–30 кДж/г, что сопоставимо с температурой сгорания этанола (27 кДж/г). Установлено, что добавка 10 % метиловых эфиров 3-ГБ увеличивает температуру сгорания этанола до 30 кДж/г, но снижает температуры сгорания пропанола и бутанола, а также газolina и дизеля. По предварительным

оценкам, стоимость биотоплива на основе ПГА может составить порядка 1200 дол. США за т. Поскольку биотопливо, получаемое сегодня, включая этанол и биодизель, всегда рассматривается как «пища против топлива» и «топливо против пахотных земель», производство биотоплива на основе ПГА, потенциально возможное на различных промышленных отходах, включая сточные воды и илы, открывает новую сферу применения ПГА в энергетике.

Существует рынок изделий из ПГА сельскохозяйственного назначения – это пленочная продукция для упаковки продуктов, удобрений, для тепличных хозяйств; горшечная продукция; сетки, канаты и др. В этой связи новым и экологически значимым направлением применения ПГА может стать его использование для депонирования и доставки сельскохозяйственных препаратов.

Экологически ориентированным направлением использования ПГА является разработка экологически безопасных сельскохозяйственных препаратов с адресным и контролируемым выходом активного начала за счет использования специальных покрытий и/или матриц (основы) из биоразрушаемых материалов. Связано это с тем, что бурное развитие химии и переход сельского хозяйства на интенсивные технологии привели к появлению и применению огромного разнообразия химических веществ для борьбы с вредителями, сорняками и возбудителями болезней культивируемых видов. Традиционное применение пестицидов вступило в противоречие с глобальной проблемой защиты окружающей среды. Используемые в большинстве случаев в виде порошков, суспензий и эмульсий пестициды зачастую не обеспечивают адресную доставку препаратов, что ведет к их рассеиванию и последующей аккумуляции в биосфере. Широкое применение пестицидов

не обеспечило полную защиту сельскохозяйственных культур. Большое число насекомых и сорняков остаются неконтролируемыми. Они продолжают наносить огромный вред сельскому хозяйству. Одним из серьезных недостатков современных препаратов является аккумуляция в биосфере и приобретение нежелательными организмами резистентности к ним. Пестициды, обладающие мутагенным и канцерогенным действием, попадая в организм человека с продуктами питания, представляют угрозу для здоровья. Это вызывает необходимость поиска более эффективных средств и методов защиты полезной биоты, не оказывающих отрицательного воздействия на человека и окружающую среду в целом.

В работах сотрудников Сибирского федерального университета исследована применимость ПГА в качестве носителя для конструирования экологически безопасных и долговременных форм пестицидов для грунтового применения, пригодных к внесению в почву вместе с семенами, т.е. в довсходовом периоде (Волова с соавт., 2008; Prudnikova et al., 2013). Для депонирования пестицидов в качестве носителя использовали сополимер 3-гидроксипропионата и 3-гидроксивалерата (ПЗГБ/ЗГВ). В качестве препаратов исследовали α -гексахлорциклопексан (ГХЦГ), линдан (гамма-изомер ГХЦГ) и гербицид Зеллексупер. Получены результаты, показавшие перспективность развития этих работ.

Актуальное направление применения ПГА, не требующее больших объемов производства полимеров, связано с биомедициной. Направления потенциальных медико-биологических приложений ПГА достаточно широки. Пресс-релизы известных фирм-лидеров в области исследования и применения этих полимеров (Tepha Inc, Metabolix, Procor&Gambel, Monsanto) свидетельствуют о нарастающем интересе к ПГА и активизации работ,

ориентированных на получение, модификацию и исследование ПГА применительно к сердечно-сосудистой хирургии, стоматологии, ортопедии и фармакологии. К настоящему времени показана принципиальная возможность получения в основном из гомогенного ПЗГБ и в меньшей степени – из сополимерных ПГА изделий биомедицинского назначения: пленочных покрытий, шовных нитей, матриц и конструкций для тканевой инженерии, а также пролонгированных систем доставки лекарственных веществ. Эти изделия, как полагают, перспективны для многих направлений, включая сердечно-сосудистую хирургию, ортопедию, урологию, стоматологию и др. (Williams, Martin, 2002; Sudesh, Abe, 2010; Volova et al., 2013).

Большое внимание уделяется ПГА применительно к сердечно-сосудистой хирургии. ПГА положительно оценены в качестве материала для изготовления сосудистых протезов. Обнадеживающие результаты получены в ходе исследования ПГА в качестве материала для клапанов сердца, сконструированных по технологии клеточной и тканевой инженерии (Stock et al., 2000). В работе (Hoerstrup et al., 2000) проведена успешная пересадка протезов 3-створчатых сердечных клапанов ягнтятам. В связи с тем, что после кардиохирургических операций возникает большая проблема в результате сращивания тканей околосердечной сумки и грудины, это делает необходимым проведение повторных операций. Пленки из ПГА перспективны в качестве барьерного средства для разделения перикардия и грудины (Williams, Martin, 2002). В отделении грудной и сердечно-сосудистой хирургии университетского госпиталя г. Упсала (Швеция) исследованы экспериментальные образцы перикардов, изготовленные из ПЗГБ в клинических условиях. По мере биодеградации лоскута из ПЗГБ формировалась ткань, сходная

с таковой у нативной межпредсердной перегородки, достаточно прочная для предотвращения развития шунта между предсердиями.

О возможности использования ПГА применительно к остро стоящей проблеме повышения биосовместимости сосудистых эндопротезов (стенгов) информация ограничена. Известен не вполне удачный пример исследования стента, изготовленного из полностью разрушаемого полигидроксibuтирата (Unverdorben et al., 2002). Сотрудники компании Terpha (США) совместно с коллегами из Германии (Институт биомедицинской инженерии, Росток) исследовали полимерные стенты, изготовленные из политетрафлюоретана и смеси полилактид/полигидроксibuтирата (Grabow et al., 2007) в сравнении с металлическими эндопротезами. Для того чтобы эндопротез выдерживал давление сосуда, исследуемые стенты были достаточно массивными. Это негативно сказалось на реакции сосудистой стенки, выразившейся в разрастании неоинтимы и более сильной воспалительной реакции по сравнению с металлическим стентом. В настоящее время разработкой полимерных стентов активно занимается Terpha Inc (США).

В России оценка эффективности применения покрытия из ПГА выполнена на отечественном внутрисосудистом нитиновом стенте «Алекс» (производитель фирма «Комед», г. Москва). Были сконструированы и исследованы две экспериментальные модели эндопротезов: стент с полимерным покрытием из Биопластотана и стент с полимерным покрытием, нагруженным цитостатическим препаратом. С использованием контрастной ангиографии и стандартной гистологической техники в экспериментах на животных изучен характер ответа сосудистой стенки на имплантацию экспериментальных стентов с полимерным покрытием в сравнении с нити-

новым. Показана эффективность покрытия сосудистых эндопротезов биодеградируемым полимером Биопластотан, в особенности при включении в его состав антипролиферативного препарата (рубомидина) с целью уменьшения реакции сосудистой стенки и предупреждения осложнений, имеющих место при использовании металлических стентов (Протопопов в соавт., 2008).

Потенциальная применимость поли-3-гидроксibuтирата для получения биодеградируемого шовного материала была показана еще в начале 1960-х гг. (Baptist, Ziegler, 1965). В серии работ японских авторов рассмотрен процесс получения монофильных волокон из расплава ПЗГБ и сополимеров ПЗГБ/ЗГВ и исследованы структура и свойства таких волокон. Монофиламентные волокна, полученные прядением из расплава, в принципе могут иметь удовлетворительные физико-механические свойства, в том числе разрывную прочность – свыше 300 МПа, модуль упругости до 10 ГПа, обладая при этом высокой степенью обратимой деформации. Шовный материал из сополимера ЗГБ/4ГБ, который разработан фирмой Terpha (США), разрешен для клинических применений. Нити получены из расплава сополимера на одношнековом экструдере с последующим многократным ориентированием. В зависимости от процедуры экструдирования и последующего ориентирования нити имеют разрывную прочность свыше 126 МПа и длительно сохраняют свои свойства (потеря M_w за 26 недель имплантации составляет 43 % от исходной при сохранении до 80 % разрывной прочности). Фирма выпустила на рынок серию изделий из ПГА, включая моно- и полифиламентные нити, сетки и пленки под торговой маркой TerphaFLEX®, проведя цикл необходимых испытаний и получив разрешительные документы в FDA.

В России монофиламентные ориентированные волокна из ПГА с хард-эластическими свойствами впервые были получены методом гель-формования С.А. Гордеевым в лаборатории доктора химических наук Е.М. Антипова в Институте нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН (Gordeev and Nekrasov, 1999). Авторы использовали образцы поли-3-гидроксibuтирата, синтезированного бактериями *R. eutropha* В 5786, выделенными и очищенными в Институте биофизики СО РАН. Волокна имели абсолютную прочность 190 МПа и модуль Юнга 3-4 КПа. В следующей работе С.А. Гордеева изучена проблема термостабильности волокон, полученных гель-технологией с последующим ориентированием при нагревании. Были использованы образцы ПЗГБ, также полученные в Институте биофизики СО РАН. Свойства волокон, полученных гель-технологией с последующим ориентированием, измеренные через 6 месяцев после получения, показали стабильность прочностных характеристик. Получение монофильных волокон из сополимеров ПЗГБ/ЗГВ с различным включением 3-гидроксивалерата описано в работе (Shishatskaya, 2008). Волокна были сформованы из расплава с использованием одношнекового лабораторного экструдера фирмы «Брабендер» (Германия). Найдены оптимальные значения этих параметров, позволяющие получать максимальную стабильность экструзии/приемки и монофиламентные волокна диаметром 0,15-0,20 мм высокого качества. Медико-биологические характеристики волокон, динамика прочностных свойств в ходе деградации при ушивании мышечных разрезов исследованы в цикле работ ученых ИБФ СО РАН и СФУ (Volova, 2004). Показано, что монофильные волокна из ПГА обладают высокой биосовместимостью и пригодны для ушивания мышечно-фасциальных разрезов,

наложения кишечных швов и для формирования кишечных анастомозов (Markelova et al., 2008).

Высок потенциал ПГА и для реконструкции дефектов костной ткани, поскольку данный материал обладает высокой механической прочностью, медленно деградирует *in vivo*, обладает пьезоэлектрическим эффектом. Показана принципиальная возможность получения механически прочных композитов этих полимеров с гидроксиапатитом (ГАП) и установлено, что добавление ГАП повышает прочностные характеристики полимера. Поли-3-гидроксibuтират, усиленный частицами синтетического гидроксиапатита, исследован с положительным результатом *in vivo* в качестве заменителя костной ткани в сравнении с нативным полимерным имплантатом. В экспериментах на животных показана эффективность применения штифтов, изготовленных из смеси сополимеров различных типов (ПЗГБ/4ГВ и ПЗГБ/ЗГВ) и антибиотиков для подавления модельного воспалительного процесса костно-мозгового канала (Korkusuz et al., 2001). В работе (Kraup et al., 2001) для закрытия дефекта незаращенного твердого неба были использованы пленки и пластины из поли-3-гидроксibuтирата; через 6 месяцев дефекты полностью закрылись регенерированными тканями. Помимо использования трехмерных матриц из ПГА и композитов ПГА с керамиками, представляется перспективным исследование применимости гибких пленок и мембран из ПГА в качестве временных деградируемых.

В цикле работ ученых СФУ и ИБФ СО РАН ПГА комплексно исследованы в качестве костнопластического материала для реконструктивного остеогенеза, разработан композит из полигидроксibuтирата (ПГБ) и гидроксиапатита (ГАП) с различным соотно-

шением компонентов, исследованы физико-химические и физико-механические свойства плотных и пористых 3D-имплантатов, полученных различными методами. В экспериментах на животных показано, что композит ПЗГБ/ГАП обладает остеокондуктивными свойствами и способствует образованию костной ткани в тесте эктопического костеобразования, а также индуцирует остеогенез (Shishatskaya et al., 2006). На животных с экспериментальной формой хронического остеомиелита установлено, что пломбирочный материал из смеси ПЗГБ/тиенам пригоден для пластики костных полостей, инфицированных *Staphylococcus aureus*. Заполнение инфицированных костных дефектов длинных трубчатых костей после хирургической обработки гидрофобным пломбирочным материалом из ПЗГБ и смеси ПЗГБ/тиенам обеспечивает подавление инфекции, более быстрое восстановление костных дефектов и раннее восстановление опорных свойств оперированной конечности по сравнению с контролем (препарат аллокости) (Shishatskaya et al., 2014).

Одно из новых направлений применения ПГА – это реконструктивная хирургия желчевыводящих путей, которая также остро нуждается в функциональных эндопротезах. Зарубежных аналогов с применением ПГА не найдено. Впервые полностью резорбируемые эндобилиарные стенты из ПГА разработаны в ИБФ СО РАН. Сотрудниками кафедры общей хирургии Красноярского государственного медицинского университета им. проф. Войно-Ясенецкого получены пионерные результаты исследований полимерных стентов для эндобилиарного протезирования (Markelova et al., 2008). Показано, что эндобилиарные полимерные стенты сохраняют свои физико-химические свойства при длительном нахождении во внепеченочных желчных протоках,

не мигрируют, не способствуют отложениям желчи, сохраняют просвет, т.е. пригодны для применения в качестве протезирующих конструкций с целью восстановления проходимости билиарного тракта. Полученные экспериментальные результаты позволили провести пилотные исследования в клинических условиях. Показано, что использование эндобилиарных стентов для лечения больных с механической желтухой различной этиологии позволяет сократить время оперативного вмешательства, в более короткие сроки купировать гипербилирубинемия, улучшить качество жизни этой тяжелой категории пациентов.

ПГА исследуются в качестве биосовместимого покрытия сетчатых эндопротезов, широко применяемых при операциях грыжесечения. Этому аспекту потенциального применения ПГА в России уделено существенное внимание. В ИНБИ им. А.Н. Баха РАН в эксперименте на лабораторных крысах исследован ответ тканей на имплантацию сетчатого эндопротеза «Линтекс-Эсфил» с покрытием из поли-3-гидроксипропиридата и показано, что ответ тканей на экспериментальный эндопротез характеризуется умеренной воспалительной реакцией по сравнению с таковой на исходный полипропиленовый аналог. Сделан вывод о состоятельности этого покрытия для повышения биосовместимости сетчатых полипропиленовых эндопротезов. В экспериментально-клинической работе, выполненной во ВНИЦ трансплантологии и искусственных органов им. В.И. Шумакова, исследован сетчатый эндопротез из полипропилена «Линтекс-Эсфил 1-010» с покрытием «ЭластоПОБ» (поли-3-гидроксипропиридат с добавлением полиэтиленгликоля). Клинические исследования модифицированного эндопротеза выполнены у больных с паховыми грыжами и в случаях послеоперационных

вентральных грыж; в обоих случаях показано снижение частоты осложнений раннего и отдаленного послеоперационных периодов и средних сроков стационарного лечения по сравнению с имплантацией эндопротезов «Линтекс-Эсфил 1-010». Аналогичный положительный эффект получен в результате нанесения покрытия «ЭластоПОБ» на лавсановый сетчатый эндопротез «Эслан» для экстракардиального моделирования сердца; показано, что при использовании эндопротезов, покрытых биodeградируемой мембраной «ЭластоПОБ»[®], распространённость спаечного процесса в полости перикарда статистически достоверно ниже.

Цикл исследований сетчатых эндопротезов, модифицированных полимерным покрытием из ПГА, выполнен сотрудниками кафедры общей хирургии в Красноярском государственном медицинском университете им. проф. Войно-Ясенецкого. В экспериментах на животных показано, что эндопротезы, модифицированные покрытием из Биопластана, обладают преимуществами в сравнении с коммерческими аналогами (эндопротезы «Линтекс», Санкт-Петербург и «VIPRO II», «Ethicon», США). В клинических условиях показано, что использование модифицированных эндопротезов позволяет предотвратить развитие спаечного процесса в брюшной полости и улучшить результаты хирургического лечения грыж передней брюшной стенки у пациентов, перенесших герниопластику (снижение частоты послеоперационных осложнений, сокращение сроков временной нетрудоспособности, повышение качества жизни пациентов). В Государственном региональном центре стандартизации, метрологии и испытаний по Красноярскому краю Росстандарта РФ выполнены стандартизованные исследования сетчатых эндопротезов и стентов; зарегистрированы Технические условия

на разработанные изделия (эндобилиарные стенты и сетчатые эндопротезы).

Разрабатываются полимерные носители из ПГА для депонирования и доставки препаратов и клеточных технологий. В настоящее время активно обсуждается возможность применения ПГА для разработки пролонгированных лекарственных систем нового поколения. Доказана возможность депонирования в полимерный матрикс из ПЗГБ различных препаратов, в том числе высокомолекулярных пептидных и гормональных. Описаны микрокапсульные экспериментальные системы доставки лекарств длительного пользования на основе ПГА и композитов для доставки противоопухолевых препаратов, антибиотиков, гормональных, в т.ч. контрацептивных препаратов, инсулина и др. Разработаны и исследованы, но главным образом *in vitro*, различные лекарственные препараты (антибиотики, цитостатики, гормоны и пр.), включенные в полимерный матрикс из ПГА. Однако эти исследования в основном касаются отработки способов депонирования препаратов в полимерный матрикс, а результаты изучения кинетики резорбции матрикса и выхода лекарства в основном ограничены системами *in vitro*.

В России исследования применимости ПГА для депонирования и доставки лекарственных препаратов также имеют место. В Институте биофизики СО РАН на первом этапе были разработаны полимерные носители в виде полимерных пленок и прессованных форм; далее были отработаны способы получения микроносителей в виде микрочастиц из ПГА различного состава, включая применение сурфактантов; выявлены факторы, влияющие на размеры и морфологию поверхности частиц, кинетику ливкации из них различных лекарственных препаратов (Goreva et al., 2012). Аналогичные результаты были

получены в ИНБИ им. А.Н. Баха РАН (Москва) при использовании в качестве носителя для изготовления полимерных микрочастиц поли-3-гидроксибутирата.

Биологическая безопасность микрочастиц из ПГА и возможность длительного функционирования микрочастиц *in vivo* при различных способах введения (внутримышечно, внутривенно, внутрибрюшинно, наочно) доказана в серии экспериментов на лабораторных животных; изучено распределение и биодegradация полимерных микрочастиц во внутренних органах животных (Shishatskaya et al., 2008; 2011). В культуре опухолевых клеток и на животных с модельным опухолевым процессом установлено, что цитостатический препарат, депонированный в полимерные микрочастицы, тормозит развитие опухолей сопоставимо с введением препаратов внутривенно, при этом позволяет обеспечить локальную доставку антипролиферативных препаратов в место развития опухоли и снизить общее токсическое воздействие на организм (Горева с соавт., 2012; Муруева с соавт., 2014). Полученные результаты являются научной основой для разработки лекарственных форм препаратов с пролонгированным действием на основе биоразрушаемых микроносителей из ПГА.

Тканевая инженерия – активно исследуемый аспект применения ПГА. В представительной серии работ зарубежных авторов проанализированы свойства ПГА с точки зрения пригодности для тканевой инженерии и показано, что ПГА обладают всеми свойствами, необходимыми для изготовления носителей (scaffolds) для выращивания клеток разного происхождения, включая фибробласты, гепатоциты, остеобласты, хондроциты, а также стволовые клетки, обеспечивая их дифференцировку в заданном направлении.

В России исследования применимости ПГА в качестве клеточных носителей выполняются в ФНЦ трансплантологии и искусственных органов (Москва), ИБФ СО РАН и СФУ (Красноярск). По инициативе В.И. Шумакова в отделе по исследованию биоматериалов (проф. В.И. Севастьянов) разработаны 2D- и 3D-матрицы из образцов ПЗГБ и сополимеров ПЗГБ/ЗГВ, синтезированных в Институте биофизики СО РАН (ЭластоПОБ и ЭластоПОБ-АР), которые исследованы в лаборатории биотехнологии стволовых клеток под руководством профессора Н.А. Онищенко. В цикле работ, в т.ч. с использованием клеточных матриц из ПГА, оптимизированы режимы культивирования прогениторных клеток костного мозга и предифференцировки мезенхимных стволовых клеток (МСК) в кардиомиоцито-, остеобласто- и фибробластоподобные клетки. На моделях острого повреждения тканей у животных: кожи, сердца и трубчатых костей, нервной и мышечной ткани, а также при моделировании дислипидемии с хроническим повреждением стенки сосудов, установлены позитивные терапевтические эффекты применения прогениторных клеток костного мозга после культивирования. Показано, что трансплантация фибробластоподобных мезенхимальных стволовых клеток ауто- и аллогенного костного мозга на ожоговую поверхность кожи ускоряет процесс заживления кожных ран более интенсивно, чем трансплантация фетальных фибробластов; разработаны методы восстановления дефектов тканей с помощью тканеинженерных систем, содержащих иммобилизованные клетки, полученные из различных источников.

Разработанные в ИБФ СО РАН пленочные матрицы из ПГА различного химического состава исследованы в культурах клеток различного происхождения; показано, что все типы матриц обладают высокими

адгезионными свойствами и при прямом контакте с клетками не проявляют цитотоксического эффекта (Николаева с соавт., 2011; Shishatskaya et al., 2014). С применением физических методов (лазерная резка, обработка H₂O₂ плазмой) разработаны методы повышения гидрофильности, улучшения поверхностной структуры и свойств полимерных клеточных носителей.

Впервые из ПГА различного химического строения сконструированы матриксы, полученные методом электростатического формования (ЭСФ), исследовано влияние структуры поверхности матриксов на адгезию и рост клеток (Волова с соавт., 2006; Volova et al., 2014). Исследованы условия дифференцировки мезенхимильных стволовых клеток костного мозга (ММСК) в клетки фибробластического и остеобластического ряда, состоявшаяся дифференцировка ММСК подтверждена маркерами-белками. Сконструированы гибридные матриксы, несущие предифференцированные из ММСК клетки остеобласто- и фибробластического ряда; начато их исследование для реконструкции модельных дефектов тканей у лабораторных животных.

Таким образом, приведенные примеры позволяют констатировать наличие за рубежом, а также в России значительного научно-го задела для развертывания многоцентровых экспериментально-клинических исследований высокотехнологичных изделий из ПГА для повышения качества лечения и результативности медицинских реконструктивных технологий.

Список литературы

1. Севастьянов В.И., Кирпичников М.П. (ред.) (2011) Биологические материалы: учебное пособие. М.: МИА, 544 с.
2. Волова Т.Г., Шишацкая Е.И. (2011) Биоразрушаемые полимеры: синтез, свойства, применение. Красноярск: Красноярский писатель, 389 с.

Заключение

В статье представлены современные мировые тренды в области биоматериалов, обозначены место и роль полигидроксиалканоатов – природных разрушаемых полимеров микробиологического происхождения. Дан анализ разработок, ориентированных на промышленный выпуск полимеров этого класса, обозначены ведущие мировые производители крупнотажных производств ПГА и показаны перспективы развития исследований по этим полимерам в РФ. Представлен обзор результатов, полученных в ИБФ СО РАН и Сибирском федеральном университете, в которых разработаны и реализованы технологии синтеза ПГА различной химической структуры со свойствами высококристаллических термопластов и конструкционных эластомеров; сконструированы и исследованы полимерные изделия в виде 2D- и 3D-форм, самостоятельные имплантаты и эндопротезы, биосовместимые покрытия, микроносители лекарственных препаратов и функционирующих клеток в виде наночастиц и ультратонких волокон; выполнены доклинические и начаты пионерные клинические исследования. Продемонстрированы перспективы ПГА в биомедицине, а также для широких применений в качестве упаковочного материала, для конструирования удобрений и средств защиты растений. Показано, что, несмотря на то, что активные исследования полимеров этого класса начаты сравнительно недавно, эти полимеры по праву называют материалом XXI в.

3. Волова Т.Г., Войнов Н.А., Муратов В.С., Бубнов Н.В., Гурулев К.В., Калачева Г.С., Горбунова Н.В., Плотников В.Ф., Жила Н.О., Шишацкая Е.И., Беляева О.Г. (2006) Опытное производство разрушаемых биополимеров. Биотехнология 6: 28-34.
4. Волова Т.Г., Войнова О.Н., Калачева Г.С., Гродницкая И.Д. (2008) Перспективы использования резорбируемых полиэфиров для конструирования безопасных форм пестицидов. Доклады Академии наук 418: 1-4.
5. Волова Т.Г., Севастьянов В.И., Шишацкая Е.И. (2003) Полиоксиданканоаты (ПОА) – биоразрушаемые полимеры для медицины. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 330 с.
6. Волова Т.Г., Севастьянов В.И., Шишацкая Е.И. (2006) Полиоксиданканоаты (ПОА) – биоразрушаемые полимеры для медицины. Красноярск: Платина, 288 с.
7. Волова Т.Г., Шишацкая Е.И., Гордеев С.А. (2006) Характеристика ультратонких волокон, полученных электростатическим формованием термопластичного полиэфира [поли(гидроксидбутирата/гидроксидвалерата)]. Перспективные материалы 3: 25-29.
8. Муруева А.В., Кузьмина А.М., Шишацкая Е.И., Волова Т.Г. (2014) Исследование полимерных микроносителей, нагруженных противовоспалительными препаратами, для терапии модельных дефектов кожных покровов. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 157: 614-619.
9. Протопопов А.В., Константинов Е.П., Шишацкая Е.И., Ефремов С.Н., Волова Т.Г., Гительзон И.И. (2008) Использование резорбируемых полиэфиров для повышения биосовместимости внутрисосудистых стентов. Технология живых систем 5: 25-34.
10. Хенч Л., Джонс Д. (2007) Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей. М.: Техносфера, 305 с.
11. Штильман М.И. (2006) Полимеры медико-биологического назначения. М.: ИКЦ «Академкнига», 400 с.
12. Chanprateep S. (2010) Current trends in biodegradable polyhydroxyalkanoates. J. Biosci. Bioeng. 110: 621-632.
13. Gordeev S.A., Nekrasov Y.P. (1999) Processing and mechanical properties of oriented poly(β -hydroxybutyrate) fibers. J. Mater. Sci. Lett. 18: 1691-1692.
14. Goreva A.V., Shishatskaya E.I., Kuzmina A.M., Volova T.G., Sinskey A.J. (2013) Microparticles prepared from biodegradable polyhydroxyalkanoates as matrix for encapsulation of cytostatic drug. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 24: 1905-1915.
15. Goreva A.V., Shishatskaya E.I., Volova T.G., Sinskey A.J. (2012) Characterization of polymeric microparticles based on resorbable polyesters of oxyalkanoic acids as a platform for deposition and delivery of drugs. Polymer Science. Series A 54: 94-105.
16. Grabow N, Bunger C. M., Schultze C. (2007) A biodegradable slotted tube stent based on poly(L-lactide) and poly(4-hydroxybutyrate) for rapid balloon-expansion. Ann Biomed Eng. 35: 2031–2038.
17. Hoerstrup S. P., Sodian R., Dzebris S. (2000) Functional trileflet heart valves grown in vitro. Circulation 102: 44-49.
18. Kijchavengkul, Auras (2008) Perspective Compostability of polymers. Polymer International 57: 793-804.
19. Korkusuz F., Korkusuz P., Eksiođlu F. (2001) In vivo response to controlled antibiotic release systems. J. Biomed. Mater. Res. 55: 217-228.

20. Kramp B., Bernd H.E., Schumacher W.A., Blynov M., Schmidt W., Kunze C., Behrend D., Schmitz K.P. (2002) Polyhydroxybuttersäure (PHB)-Folien und –Platten zur Defektdeckung des knöchernen Schädels im Kaninchenmodell. *Traumatologie* 81: 351-356.
21. Markelova N.M., Shishatskaya E.I., Vinnic Y.S., Cherdansev D.V., Beletskiy I.I., Kyznecov M.N., Zykova L.D. (2008) In vivo justification of using endobiliary stents made of bioresorbable polyhydroxyalkanoates. *Macromol. Symposia* 269: 82-91.
22. Martin D.P., Williams S.F. (2002) Applications of PHAs in Medicine and Farmacy. In: Steinbüchel A. (ed.) *Series of Biopolymers*, vol. 4. Wiley-VCY Verlag GmbH, Weinheim (Germany), p. 91-121.
23. Moore C., Moore S. L., Leecaster M. K., Weisberg S. B. (2001) A comparison of plastic and plankton in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution* 42: 1297-1300.
24. Natano R. V., Mantelatto P. E., Rossell C. E. (2001) Integrated production of biodegradable plastic, sugar and ethanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57: 1-5.
25. Noda I. (1999) Films and absorbent articles comprising a biodegradable polyhydroxyalkanoate comprising 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyhexanoate comonomer units. US Patent № 5990271.
26. Noda I., Green Ph., Satkowski M. (2005) Preparation and properties of novel class of polyhydroxyalkanoate copolymers. *Biomacromol.* 6: 580-586.
27. Noda I., Lindsey S. B., Caraway D. (2009) Nodax™ class PHA copolymers: their properties and applications. In: Chen G.-Q., Steinbüchel A. (eds.) *Microbiology Monographs*, vol. 14. *Plastics from bacteria. Natural functions and applications.* Heidelberg – Dordrecht – London – New York: Springer, p. 237-255.
28. Poliakoff M., Noda I. (2004) Plastic bags, sugar cane and advanced vibrational spectroscopy: taking green chemistry to the third world. *Green Chem.* 6: 37-38.
29. Prudnikova S.V., Boyandin A.N., Kalacheva G.S., Sinskey A.J. (2013) Degradable polyhydroxyalkanoates as herbicide carriers. *Journal of Polymers and the Environment* 21: 675-682.
30. Shishatskaya E.I. (2008) Biomedical investigation, application of PHA. *Macromol Symposia* 269: 65-81.
31. Shishatskaya E.I., Chlusov I.A., Volova T.G. (2006) A hybrid PHA-hydroxyapatite composite for biomedical application: production and investigation. *J. Biomater. Sci. Polymer Ed.* 17: 481-498.
32. Shishatskaya E.I., Goreva A.V., Kalacheva G.S., Volova T.G. (2011) Biocompatibility and resorption of intravenously administered polymer microparticles in tissue of internalorgans of laboratory animals. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 22: 2185-2203.
33. Shishatskaya E.I., Kamendov I.V., Starosvetsky S.I., Vinnik Yu.S., Markelova N.N., Shageev A.A., Khorzhevsky V.A., Peryanova O.V., Shumilova A.A. (2014) An in vivo study of osteoplastic properties of resorbable poly-3-hydroxybutyrate in models of segmental osteotomy and chronic osteomyelitis. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*. DOI: 10.3109/21691401.2013.816312 (in press).
34. Shishatskaya E.I., Voinova O.N., Goreva A.V., Mogilnaya O.A., Volova T.G. (2008) Biocompatibility of polyhydroxybutyrate microspheres: in vitro and in vivo evaluation. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 19: 2493-2502.

35. Shishatskaya E.I., Volova T.G., Nikolaeva E.D., Sinskey A.J. (2014) An in vivo study of 2D PHA matrixes of different chemical compositions: tissue reactions and biodegradations. *Materials Science and Technology* 30: 549-557.
36. Shtilman M.I. (2003) *Polymeric biomaterials. Part 1. Polymer implants*. Utrecht-Boston: VSP, 293 p.
37. Stock U., Nagashima M., Khalil P. N. (2000) Tissue-engineered valved conduits in the pulmonary circulation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 119: 732-740.
38. Sudesh K., Abe H. (2010) *Practical guide to microbial polyhydroxyalkanoates*. Shrewsbury (UK): Smithers Rapra Technology, 160 p.
39. Tanabe, S.; Watanabe, M., Minh, T.B., Kunisue, T., Nakanishi, S., Ono, H. and Tanaka, H. (2004) PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in albatross from the North Pacific and Southern Oceans: Levels, patterns, and toxicological implications. *Environmental Science and Technology* 38: 403-413.
40. Unverdorben M., Spielberger A., Schywalsky M. (2002) Polyhydroxybutyrate Biodegradable Stent: Preliminary Experience in the Rabbit. *Cardiovasc. Intervent. Radio.* 25: 127-132.
41. Volova T.G. (2004) *Microbial polyhydroxyalkanoates – plastic materials of the 21st century (biosynthesis, properties, applications)*. New York: Nova Science Pub. Inc., 283 p.
42. Volova T.G., Goncharov D.B., Sukovatyi A.G., Shabanov A., Nikolaeva E.D., Shishatskaya E.I. (2014) Electrospinning of polyhydroxyalkanoate fibrous scaffolds: effect on electrospinning parameters on structure and properties. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 25: 370-393.
43. Volova T.G., Shishatskaya E.I., Sinskey A.J. (2013) *Degradable Polymers: Production, Properties, Applications*. New York: Nova Science Pub. Inc., 380 p.
44. Zhang X., Luo R., Wang Z., Deng Y., Chen G.-Q. (2009) Application of (R)-3-hydroxyalkanoate methyl esters derived from microbial polyhydroxyalkanoates as novel biofuels. *Biomacromolecules* 10: 707-711.