

**С. А. Минаева, Е. Н. Антонов, В. К. Попов**

*ИФТ РАН, ФНИЦ «Кристаллография и фотоника»  
ул. Пионерская, 2, Троицк, Москва, 108840, Россия*

*minaeva.svetlana@gmail.com*

## **ИССЛЕДОВАНИЕ БИОАКТИВНЫХ БИОРЕЗОРБИРУЕМЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИКСОВ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ \***

Разработаны методики спектроскопии комбинационного рассеяния для исследования пространственного распределения и кинетики высвобождения биоактивных веществ из биорезорбируемых полимерных структур. Исследовано распределение микрочастиц гидроксиапатита в полилактидных частицах. Проведен анализ кинетики высвобождения ибупрофена из полилактогликолидных матриксов различной пористости. Определена зависимость концентрации исследуемого вещества, высвободившегося из полимерного матрикса, от времени его нахождения в растворе в диапазоне от нескольких часов до нескольких суток. Основными преимуществами разработанных методик является универсальность их применимости для исследования структур различных биоактивных полимерных композитов и их поведения в водосодержащих средах *in situ* без разрушения анализируемых образцов, а также отсутствие необходимости использования сложных процедур пробоподготовки.

*Ключевые слова:* спектроскопия комбинационного рассеяния, полилактогликолид, полилактид, ибупрофен, гидроксиапатит, кинетика высвобождения биоактивных соединений.

### **Введение**

Трехмерные полимерные биорезорбируемые матриксы и частицы с инкапсулированными в них биоактивными веществами широко применяются сегодня для решения различных задач тканевой инженерии и создания лекарственных форм пролонгированного действия. Для эффективного использования этих изделий на практике необходимо обладать максимально полной информацией о пространственном распределении биоактивных веществ по объему таких полимерных структур и кинетике их высвобождения из последних в различные водосодержащие

среды. В настоящей работе представлены результаты использования спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) для решения этих задач.

### **Материалы и методы**

Полимерные матриксы изготавливались методом сверхкритической флюидной пластификации и вспенивания алифатических полиэфиров, полилактида марки PDL04 и полилактогликолида марки PDLG5002 (PURAC Biochem BV, Нидерланды) с одновременной инкапсуляцией в них биоактивных веществ [1]. В качестве биоактивных веществ ис-

---

\* Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН в части «Исследования кинетики высвобождения биоактивных веществ из микрочастиц и матриксов» и РФФИ (грант № 16-29-07356) в части «Формирование биоактивных матриксов и микрочастиц».

пользовались микрочастицы (средний размер  $\sim 1$  мкм) гидроксиапатита (являющегося основным минеральным компонентом костной ткани) и нестероидный противовоспалительный препарат ибупрофен. Полученные после сверхкритической флюидной пластификации полимерные композиты с гидроксиапатитом затем размалывались в ротационной мельнице для получения частиц размером от 100 до 200 мкм. Матрицы, содержащие ибупрофен, имели форму цилиндров диаметром и высотой 5 мм. Для исследования были изготовлены матрицы различной пористости (38, 56 и 73 %), содержащие до 40 % массы ибупрофена.

Спектры КР измерялись на дисперсионном спектрометре Nicolet Almega XR при возбуждении ND:YAG лазером ( $\lambda = 532$  нм). Для анализа спектров использовалось программное обеспечение «Omnis», поставляемое со спектрометром. Известно, что количественный молекулярный анализ основывается на зависимости интенсивности линий КР света от концентрации соответствующих молекул. Пространственное распределение гидроксиапатита в микрочастицах исследовалось микро-КР картированием. Исследуе-

мый образец предварительно заливали эпоксидной смолой и с помощью ультрамикротомы Leica EM UC7 изготавливали срезы микрочастиц. Для исследования кинетики высвобождения ибупрофена из полимерных матриц разработана методика с использованием спектроскопии КР. Исследуемые матрицы помещались в стеклянные емкости с буферным раствором. После выбора аналитических полос и проведения калибровочных измерений через определенные промежутки времени (от нескольких часов до нескольких суток) осуществлялись регистрация и анализ спектров КР растворов с образцами.

### Результаты

На рис. 1 справа показана фотография приготовленного на микротоме среза микрочастиц, содержащих гидроксиапатит. Красным прямоугольником обозначена исследуемая область ( $140 \times 75$  мкм<sup>2</sup>). Интенсивная полоса в спектре гидроксиапатита не маскируется полосами полилактида (рис. 2), по ней была построена карта его распределения в выделенной области (см. рис. 1).

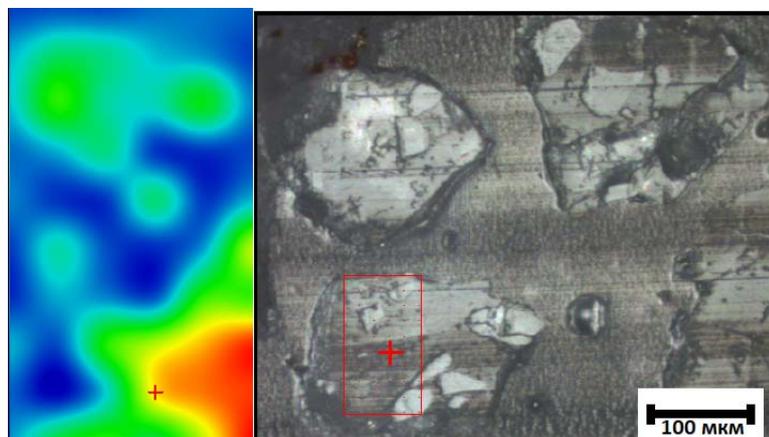


Рис. 1. Фотография среза микрочастиц (справа) и картированное КР изображение фрагмента полилактидной частицы (слева)

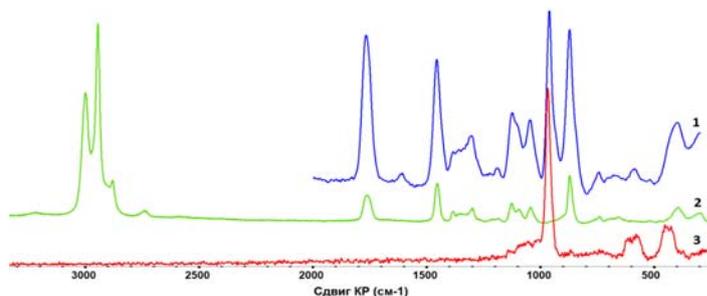


Рис. 2. Спектры КР гидроксиапатита (3), полилактида (2), исследуемой частицы (1)

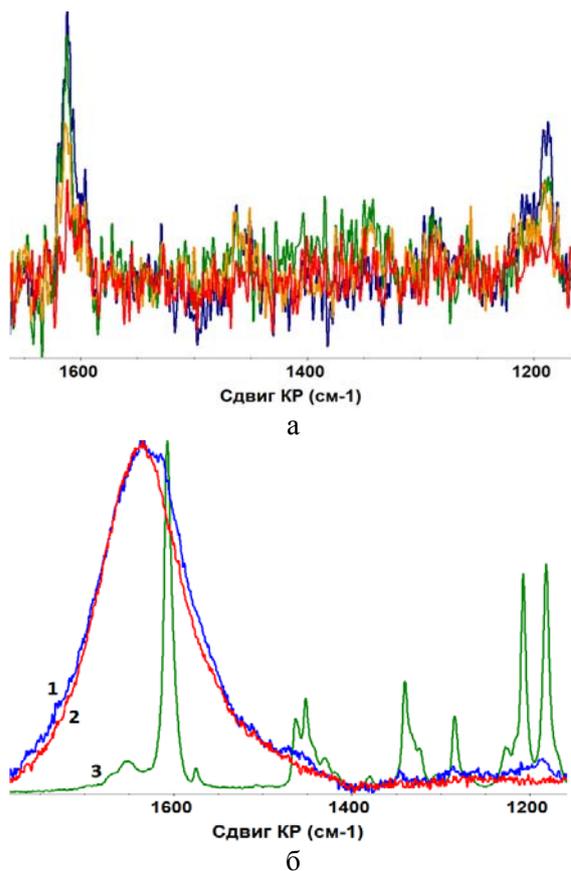


Рис. 3. Градуировочные спектры ибупрофена (а); спектры (б) кристаллического ибупрофена (3), раствора ибупрофена (1), буферного раствора (2)

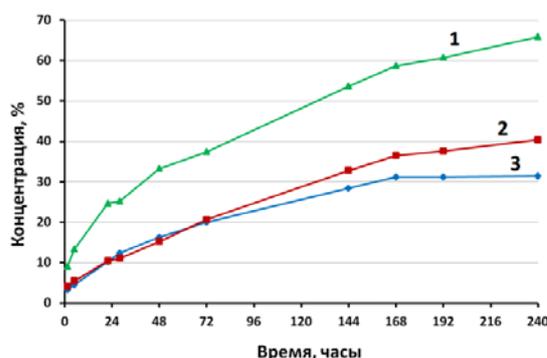


Рис. 4. Кинетика высвобождения ибупрофена в буферный раствор из полимерных матриц с различной пористостью: 1 – 73 %; 2 – 56 %; 3 – 38 %

Полученная карта показывает, что гидроксипатит достаточно равномерно распределен внутри полимерных частиц, что позволяет сделать вывод о перспективности применения таких композитов для решения задач тканевой инженерии и костной имплантологии.

Для исследования матриц, содержащих ибупрофен, предварительно были получены градуировочные спектры ибупрофена (рис. 3, а) путем вычитания из спектров растворов ибупрофена спектра фосфатно-солевого буфера (рис. 3, б). Затем определялась интегральная интенсивность полосы ибупрофена в области  $1611 \text{ см}^{-1}$  (см. рис. 3, а). Полученные зависимости концентрации вышедшего в раствор ибупрофена от времени нахождения в нем полилактогликолидных матриц представлены на рис. 4.

Из всех матриц ибупрофен выходит достаточно равномерно. При этом максимальная скорость его выхода соответствует матриксу с наибольшей пористостью (за 10 суток вышло 67 % от общей массы, содержащегося в матриксе ибупрофена), а наименьшая скорость (32 % за 10 суток) – самому плотному образцу. Таким образом, изменяя пористость матриц, можно управлять кинетикой высвобождения содержащихся в них биоактивных веществ. Это дает возможность применения таких матриц для создания лекарственных форм пролонгированного действия.

Разработанная нами методика была также успешно применена для исследования кинетики высвобождения гентамицина [2], ацизола [3] и метилурацила [4]. Ее основными преимуществами являются универсальность применения для исследования структур различных биоактивных полимерных композитов и их поведения в водосодержащих средах *in situ* без разрушения анализируемых образцов, а также отсутствие необходимости использования сложных процедур пробоподготовки.

### Список литературы

1. Попов В. К. и др. Новые биоактивные композиты для регенерации костных тканей // Перспективные материалы. 2004. № 4. С. 49–57.
2. Антонов Е. Н. и др. Исследование кинетики высвобождения гентамицина из биорезорбируемых полимерных матриц методом спектроскопии комбинационного рассеяния // Перспективные материалы. 2012. № 6. С. 44–48.
3. Богородский С. Э. и др. СКФ инкапсуляция ацизола в микрочастицы алифатиче-

ских полиэфиров // Сверхкритические флюиды: теория и практика. 2014. Т. 9, № 2. С. 64–73.

4. Антонов Е. Н. и др. Кинетика высвобождения метилурацила из биорезорбируемых полимерных носителей // Эксперимен-

тальная и клиническая фармакология. 2015. № 3. С. 36–39.

Материал поступил в редакцию 30.07.2018

**S. A. Minaeva, E. N. Antonov, V. K. Popov**

*IPT RAS, FSRC «Crystallography and Photonics» RAS  
2 Pionerskaya Str., Troitsk, Moscow, Russian Federation*

*minaeva.svetlana@gmail.com*

### **STUDY OF BIOACTIVE BIORESORBABLE POLYMER MATRICES BY RAMAN SPECTROSCOPY**

Raman spectroscopy technique for analysis of spatial distribution and release kinetics of bioactive substances from bioresorbable polymeric matrixes and particles have been developed and applied. The distribution of hydroxyapatite microparticles in polylactide particles was studied. The release kinetics of ibuprofen from polylactoglycolide matrixes of different porosity is analyzed. The dependence of the concentration test substance which released from the polymer matrix on the time of its presence in solution in the range from several hours to several days was studied. The main advantages of the developed methods are the universality of their applicability for studying the structures of various bioactive polymeric composites and their behavior in water-containing media in situ without destroying the analyzed samples, and also the absence of the need for using complex procedures for sample preparation

*Keywords:* Raman spectroscopy, polylactoglycolide, polylactide, ibuprofen, hydroxyapatite, bioactives release kinetics.

*For citation:*

Minaeva S. A., Antonov E. N., Popov V. K. Study of Bioactive Bioresorbable Polymer Matrices by Raman Spectroscopy. *Siberian Journal of Physics*, 2018, vol. 13, no. 3, p. 82–85. (in Russ.)

DOI 10.25205/2541-9447-2018-13-3-82-85