

## ПОЛУЧЕНИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МИКРОЧАСТИЦ С БИОАКТИВНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ С ПОМОЩЬЮ СВЕРХКРИТИЧЕСКОГО ДИОКСИДА УГЛЕРОДА

<sup>1</sup>Е. Н. Антонов, <sup>1</sup>С. Э. Богородский, <sup>2</sup>Б. М. Фельдман,  
<sup>3</sup>Е. А. Марквичева, <sup>3</sup>Л. Д. Румш, <sup>1</sup>В. К. Попов

<sup>1</sup>*Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН,  
г. Троицк Московской обл., Россия*

<sup>2</sup>*Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научный центр  
«НИОПИК»», Москва, Россия*

<sup>3</sup>*Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Москва, Россия*

Поступила в редакцию 19.02.2008 г.

В работе представлены результаты разработки процесса сверхкритического флюидного (СКФ) синтеза биорезорбируемых полимерных микрочастиц, наполненных смесью биоактивных экстрактов подорожника и календулы (ЭПК). Процесс основан на распылении пластифицированной сверхкритическим диоксидом углерода порошковой смеси аморфного алифатического полиэфира (D,L-полилактид) и мелкодисперсного водорастворимого растительного экстракта в ресивер низкого давления через сопло определенного профиля и диаметра. Исследована кинетика выхода растительного экстракта из микрочастиц, полученных при различных давлениях сверхкритического CO<sub>2</sub>. Показано, что скорость выхода ЭПК в физиологический раствор зависит как от величины рабочего давления диоксида углерода, так и от исходного соотношения полимер/экстракт.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** полимерные микрочастицы, инкапсуляция биоактивных компонентов, сверхкритический диоксид углерода.

### ВВЕДЕНИЕ

Постоянно растущая потребность в повышении эффективности лекарственных препаратов на основе биоактивных компонентов (белков, включая ферменты, пептидов, ДНК, растительных экстрактов и др.) адресного и пролонгированного действия предъявляет сегодня особые требования к технологиям получения биорезорбируемых (постепенно растворяющихся в организме) полимерных матриц (нано- и микрокапсул или нано- и микрочастиц и др.), являющихся носителями этих биоактивных компонентов [1—3]. Традиционные способы формирования таких матриц обладают рядом принципиальных недостатков, обусловленных как применением токсичных органических растворителей, так и использованием высоких (100 °С и выше) температур в процессе их получения [4]. В первом случае воздействие растворителя на биоактивные компоненты может приводить к существенному снижению их активности [5]. Помимо этого, наличие следов токсичных растворителей в конечном продукте может инициировать как местную, так и системную иммунную реакцию организма [6]. Поэтому необходимым этапом производства этих препаратов сегодня является дорогостоящий и не всегда эффективный цикл удаления следовых количеств растворителей. Во втором случае высокая

температура может приводить к неконтролируемому изменению свойств самой полимерной матрицы [4]. Кроме того, необходимость ее применения резко сужает спектр практически ценных, но термолабильных биоактивных соединений, которые можно использовать для решения многих биомедицинских проблем [7].

Известно, что многие высокоэффективные и чрезвычайно востребованные на фармакологическом рынке лекарственные формы (например, человеческий гормон роста и бета-интерферон) не могут быть инкапсулированы в биорезорбируемые матрицы с помощью традиционных технологий именно по причине их несовместимости с использованием органических растворителей и высоких температур. Поэтому в настоящее время эти препараты вводят ежедневно внутримышечно. По оценкам специалистов, капсулирование в биорезорбируемые полимерные носители уже сегодня позволило бы увеличить интервал между инъекциями до двух недель при обеспечении требуемого терапевтического эффекта.

Лишь недавно с развитием сверхкритических флюидных технологий (СКФ) появилась реальная основа для разработки процессов получения биорезорбируемых матриц, содержащих химически неустойчивые и термически нестабильные биоактивные компоненты [8].

Сегодня основными СКФ методами получения полимерных микрочастиц для фармакологии являются: 1) быстрое расширение сверхкритических растворов полимеров и биоактивных соединений — RESS (Rapid Expansion of Supercritical Solution) [9, 10] и 2) антисольвентное осаждение — SAS (Supercritical Anti-Solvent) [11], в процессе которого происходит формирование микрочастиц из раствора полимера и биоактивной компоненты, растворенных в органическом растворителе, при их взаимодействии с СКФ средой, обладающей существенно более слабой растворяющей способностью.

Разрабатываемый нами на протяжении последних лет метод получения микрочастиц из пластифицированных под действием СКФ полимеров — PGSS (Particles from Gas Saturated Solutions) позволяет получать полимерные микрочастицы, однородно наполненные как растворимыми, так и нерастворимыми (в отличие от метода RESS) в сверхкритическом флюиде компонентами [12–16]. При этом синтез можно проводить при температурах, близких к комнатной, и (в отличие от метода SAS) не требуется применения дополнительных органических растворителей. Одновременно может происходить удаление (экстракция) и других растворимых в СКФ токсичных соединений (непрореагировавшие мономеры и низкомолекулярные олигомеры, инициаторы полимеризации, пластификаторы и т. д.), что существенно повышает биохимические характеристики конечных продуктов.

Методологически, «сухая» и низкотемпературная (около 40 °C) технология формирования биоактивных композитных микрочастиц основана на явлениях снижения температуры стеклования  $T_g$ , пластификации, набухания и/или вспенивания аморфных и частично-кристаллических полимеров при их взаимодействии с сверхкритическим диоксидом углерода (СК-СО<sub>2</sub>). При этом появляется возможность формирования однородно наполненных различными добавками полимерных матриц за счет их простого механического перемешивания в атмосфере СК-СО<sub>2</sub>.

В настоящей работе представлены результаты по использованию этого подхода для получения полимерных микрочастиц с включенными в них биологически активными веществами (БАВ), на основе которых могут быть созданы новые лекарственные препараты пролонгированного действия для терапии наружных (кожных) и внутренних ран.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве исходного полимера использовался D,L-полилактид (Purasorb® производства «Puras», Нидерланды) с молекулярной массой  $M_w \sim 16000$ , разрешенный для использования в биомедицинских исследованиях. С одной стороны, выбор этого полимера обусловлен возможностью воспроизводимо получать микрочастицы из полилактида (ПЛ) данной молекулярной массы без использования каких-либо сорастворителей или дополнительного (например, интенсивного акустического [18]) воздействия. С другой стороны, характерное время биорезорбции (биodeградации) полученных из него структур *in vitro* или в живом организме может варьироваться от нескольких суток до недель (в зависимости от условий их получения, размеров и пористости), что вполне достаточно для исследования кинетики выхода БАВ. В качестве БАВ использовали смесь водорастворимых экстрактов подорожника (*Plantago major*) и календулы (*Calendula officinalis*) в соотношении 1 : 1. Диоксид углерода марки ОСЧ (99,99 %) производства Балашихинского кислородного завода (Московская обл.) использовался в экспериментах без какой-либо дополнительной очистки.

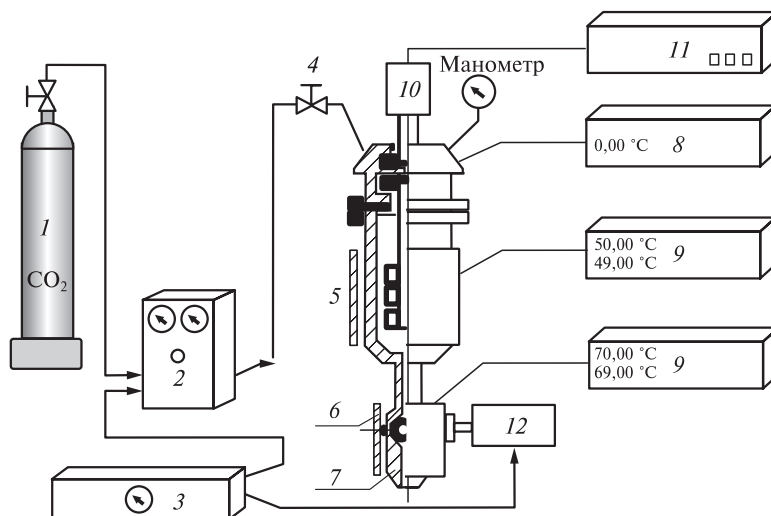
Для анализа формы, размеров и морфологии полученных микрочастиц и структур использовалась флуоресцентная и сканирующая электронная микроскопия (СЭМ). Для определения общего количества БАВ, включившегося с микрочастицы, проводили полный гидролиз образцов при 50 °С в течение 3 часов. Затем раствор центрифугировали, фильтровали, измеряли поглощение на 330 нм и рассчитывали количество БАВ с помощью предварительно построенной калибровочной кривой.

Анализ кинетики выхода БАВ из полимерных структур в физиологическом растворе проводился по следующей схеме. 10 мг частиц помещали в 2 мл физиологического раствора и медленно перемешивали на качалке до получения однородной суспензии. Через определенные промежутки времени (15 мин), центрифугированием при 4500 об/мин, отбирали супернатант и пропускали его через бумажный фильтр. Затем спектрометрически (на длине волны 330 нм) определяли количество экстракта, вышедшее из микрочастиц в физиологический раствор. После этого оставшиеся частицы вновь помещали в 2 мл свежего физиологического раствора и повторяли весь описанный выше цикл.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования процессов формирования микрочастиц с инкапсулированными в них БАВ из пластифицированных в СК-СО<sub>2</sub> полимеров проводились нами на экспериментальной установке, схема которой представлена на рис. 1. В верхнем фланце камеры (фиксирующимся и уплотняющимся к ней с помощью байонетного зажима) находятся ввод и вывод для газа, манометр, а также предохранительный клапан, предотвращающий несанкционированный рост давления выше установленного значения (30 МПа). В этом фланце также имеется магнитная муфта, передающая крутящий момент от электропривода на смеситель. В качестве систем инъекции полимерных композиций из реакционной камеры в атмосферу нами использовалось сопло Шлика (Schlik) с полым конусом диаметром 200 мкм. Приемной емкостью служила полистирольная камера объемом 2000 см<sup>3</sup>, обеспечивающая сбор получающихся микрочастиц, агломератов и волокон, а также дающая возможность изучать зависимость размера и внешнего вида частиц от расстояния до дна приемной камеры.

**Получение биodeградируемых микрочастиц с биоактивными компонентами с помощью сверхкритического диоксида углерода**



**Рис. 1.** Схема экспериментальной установки для исследования процесса формирования микрочастиц из пластифицированных в СК- $\text{CO}_2$  полимеров:

1 — баллон с  $\text{CO}_2$ ; 2 — насос высокого давления; 3 — воздушный компрессор; 4 — входной игольчатый вентиль; 5 — реакционная камера; 6 — выходной пневмоклапан; 7 — сопло; 8 — термодатчики с цифровыми измерителями; 9 — блоки нагрева и термостабилизации; 10 — магнитный смеситель; 11 — блок питания и управления приводом магнитного смесителя; 12 — привод пневмоклапана

Процесс формирования микрочастиц из смеси полилактида и БАВ проходил в следующей последовательности. 10 или 20 % вес. порошка экстрактов подорожника и календулы (ЭПК) загружались в реакционную камеру высокого давления 5 вместе с мелкодисперсным (средний размер частиц  $\sim 10 \div 20$  мкм) порошком полилактида. Затем камера уплотнялась и в нее нагнетался  $\text{CO}_2$  комнатной температуры до достижения давления 5 МПа. После этого включались нагреватели камеры и инжекционного сопла. Температура камеры могла варьироваться в диапазоне от 35 до 80 °C (в большинстве экспериментов она составляла 40 °C), а температура сопла — от 80 до 200 °C. По мере разогрева камеры давление в ней постепенно увеличивалось, и при достижении температуры требуемого значения оно доводилось до заранее выбранной величины — 10–20 МПа. Затем включался механический смеситель (на скорости 100 об/мин), и вся система выдерживалась в этих условиях в течение 30 минут. Входной вентиль 4 оставался открытым для компенсации перепада давления при сбросе  $\text{CO}_2$  и полимерной композиции из реакционной камеры. При этом происходило формирование установившегося режима пластификации, гомогенизация «размягчения» пластифицированного полимера и его перемешивание с БАВ. После этого производился импульсно-периодический сброс полученной смеси и диоксида углерода в приемную камеру с помощью импульсного дозатора (пневмоклапана 6, управляемого от компьютера).

Затем, после выдержки полученного продукта в атмосферных условиях в течение 3 часов (необходимой для полного удаления  $\text{CO}_2$  из микрочастиц и их окончательного отверждения), собранные микрочастицы помещались в пластиковые контейнеры, где и хранились при температуре  $-18$  °C до их дальнейшего анализа с помощью флуоресцентной и сканирующей электронной микроскопии. После каж-

дого эксперимента производилась очистка и последовательная отмывка в ацетоне и спирте реактора, инъекционного тракта и приемной камеры.

Получение контрольных образцов чисто полимерных (без БАВ) микрочастиц из полилактида осуществлялось в аналогичных условиях.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Основу процесса формирования микрокапель пластифицированного полимера (с их последующей солидификацией в твердые полимерные микрочастицы) составляет явление спиноподальной нуклеации полимерной массы на срезе сопла (или микрокапилляра). Это явление достаточно хорошо изучено для случаев распыления однородных растворов различных соединений в органических и сверхкритических растворителях [9, 10]. Однако для наших экспериментальных условий (когда ни полимер, ни инкапсулируемые в нем биоактивные вещества, вообще говоря, не растворяются в СК-СО<sub>2</sub>) известные модели процесса спиноподальной нуклеации могут быть применены лишь с весьма большим количеством допущений и ограничений, что ставит под вопрос целесообразность их использования для предсказания и описания полученных результатов.

Вид конечного продукта (частицы или волокна) и его структура (размер, пористость, морфология) определяются характеристиками исходных компонентов (молекулярная масса и температура стеклования полимера, степень его кристалличности, дисперсность наполнителя и т. д.) и параметрами как реализуемого процесса (температура и давление СК-СО<sub>2</sub>), так и самой установки (диаметр инъекционного сопла и время его открытия, градиент давления между реактором и приемной камерой и т. д.). Поэтому для каждой конкретной пары полимер/биоактивный агент необходимо проведение самостоятельных экспериментальных исследований с целью получения продукта с требуемыми свойствами.

В качестве биоактивного агента, как уже отмечалось выше, нами была выбрана смесь мелкодисперсных водорастворимых экстрактов подорожника и календулы в соотношении 1 : 1. Этот выбор был обусловлен следующими обстоятельствами. Препараты на основе экстрактов подорожника и календулы обладают ярко выраженными ранозаживляющими, противовоспалительными, антисептическими и гемостатическими свойствами [17, 18] благодаря присутствию в них каротина, стеринов, тритерпеноидов, флавоноидов, эфирных масел, кумаринов, различных макро- и микроэлементов. Кроме того, они оказывают бактериостатическое действие на гемолитический стрептококк и стафилококк, синегнойную палочку, протей, кишечную палочку. Сегодня эти препараты (калефлон, ротокан и др.) широко используются при лечении заболеваний ротовой полости и глотки, при ранениях, ссадинах и трофических язвах, а также для лечения гастритов, дуоденитов, язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки и заболеваний кишечника. Однако существующие препараты на основе этих лекарственных растений не всегда обеспечивают пролонгированное действие активных компонентов, быстро выводятся из организма, тем самым снижая их эффективность. Поэтому нами и было предложено инкапсулировать ЭПК в полилактидные микрочастицы с целью получения новых, более эффективных форм доставки.

Для исследования процесса формирования полимерных микрочастиц, однородно наполненных биоактивными компонентами, а также для анализа кинетики выхода смеси ЭПК из биорезорбируемых микрочастиц полилактида нами был получен ряд образцов. Состав и параметры синтеза полученных образцов приведены в таблице 1.

На рис. 2 и рис. 3 представлены микрофотографии исходного порошка экстракта календулы и подорожника (рис. 2 *a* и 3 *a*), а также экстракта капсулированного в микрочастицы полилактида (рис. 2 *б* и 3 *б*), полученные с использованием флуоресцентного и сканирующего электронного микроскопов.

Анализ полученных изображений свидетельствует о высокой эффективности и однородности капсулирования мелкодисперсного (10 ÷ 25 мкм) растительного экстракта БАВ в биорезорбируемые полимерные микрочастицы с характерным размером 50 ÷ 100 мкм.

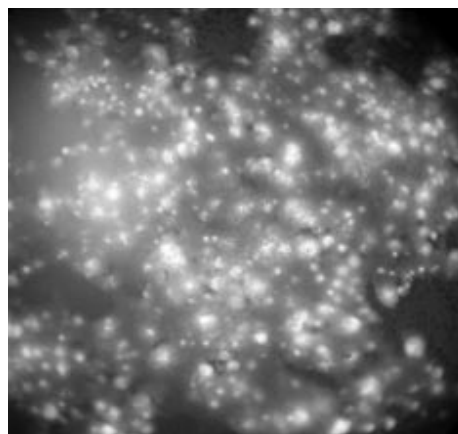
Таблица 1

**Состав и параметры синтеза полученных образцов**

№	Состав образца	Давление, МПа	Температура, °С
1	чистый ПЛ	10	40
2	чистый ПЛ	20	40
3	ПЛ + 10 % ЭПК	10	40
4	ПЛ + 10 % ЭПК	20	40
5	ПЛ + 20 % ЭПК	10	40
6	ПЛ + 20 % ЭПК	20	40

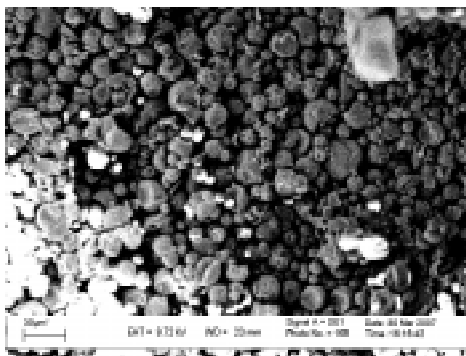


*a*

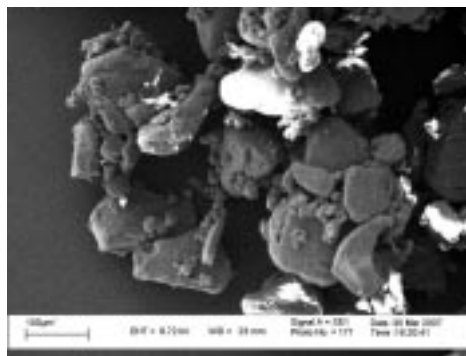


*б*

**Рис. 2.** Флуоресцентные микрофотографии исходного порошка экстракта календулы и подорожника (*a*) и экстракта, капсулированного в микрочастицы полилактида (*б*) методом распыления их смеси, пластифицированной в СК-СО<sub>2</sub>

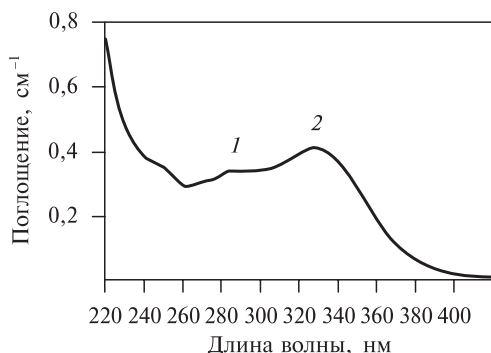


*a*



*б*

**Рис. 3.** СЭМ микрофотографии исходного порошка экстракта календулы и подорожника (*a*) и экстракта, капсулированного в микрочастицы полилактида (*б*) методом распыления их смеси, пластифицированной в СК-СО<sub>2</sub>



**Рис. 4.** Спектр поглощения водного экстракта смеси подорожника и календулы (соотношение 1:1) в физиологическом растворе. Концентрация 0,1 мг/мл

Таблица 2  
**Поглощение микрочастиц полилактида в физиологическом растворе**

Время инкубации, ч	Поглощение $A$ ( $\lambda = 330$ нм)	
	Образец № 1	Образец № 2
1	0,032	0,038
2	0,033	0,035
3	0,031	0,033
18	0,030	0,030

На рис. 4 представлен спектр поглощения водного раствора ЭПК при концентрации ( $C$ ) 0,1 мг/мл с максимумом поглощения ( $A = 0,41$ ) на длине волны  $\lambda = 330$  нм.

Поглощение ( $A$ ) на длине волны 330 нм 1 мг микрочастиц полилактида в 1 мл физиологического раствора после их длительного (от 1 до 18 часов) инкубирования при температуре 37 °С составляло менее 0,04 (см. таблицу 2). Им практически можно было бы пренебречь. Тем не менее, во всех циклах измерений контрольный спектр поглощения чистого полимера вычитался из интегрального спектра получаемого супернатанта.

После завершения всех калибровочных измерений было проведено определение суммарного количества экстракта, включившегося в полимерные микрочастицы, в зависимости от соотношения полимер/ЭПК и давления диоксида углерода в процессе их синтеза. Для этого микрочастицы разрушались в результате полного гидролиза образцов при 50 °С в течение 3 часов. Результаты приведены в таблице 3.

Как видно из данных таблиц 1 и 3, двукратное повышение давления СК-СО<sub>2</sub> и концентрации экстракта в исходной смеси с полимером приводило к некоторому увеличению эффективности включения ЭПК в полилактидные микрочастицы.

Результаты измерений количества экстракта, выходящего из различных образцов микрочастиц полилактида во время их инкубации в физиологическом растворе в интервале от 1 до 18 часов, показаны на рис. 5. Видно, что из микрокапсул, полученных при соотношении полимер/ЭПК 10:1, в течение первого часа выходит ~40 % ЭПК. В течение второго часа в физиологический раствор выходит дополнительно ~15 % ЭПК, третьего часа — 2 ÷ 5 % и в последующие 15 часов — всего ~1,5 %. При этом выход ЭПК за первый час из образцов, полученных при давлении 20 МПа, происходит медленнее по сравнению с выходом ЭПК из микрочастиц, полученных при 10 МПа.

Таблица 3

**Количество ЭПК в полимерных микрочастицах**

№	Тип образца	Общий вес ЭПК в 10 мг микрочастиц, мг	Процентное содержание ЭПК в микрочастицах, %
3	ПЛ + 10% ЭПК	0,785	7,85
4	ПЛ + 10% ЭПК	0,8	8,0
5	ПЛ + 20% ЭПК	1,65	16,5
6	ПЛ + 20% ЭПК	1,83	18,3

Это, по всей видимости, связано с более плотной (менее пористой) структурой микрочастиц. Всего же за 18 часов общий выход экстракта составил ~60 %. При двукратном увеличении процентного содержания ЭПК в исходной смеси скорость его выхода в течение первого часа увеличивалась с 45 до 70 %. Это представляется нам весьма логичным, учитывая чисто геометрическое соотношение количества экстракта на поверхности и внутри открытых пор полимерных микрочастиц.

Для оценки стабильности полученных полимерных микрочастиц, содержащих экстракты ЭПК, по истечении трех месяцев хранения их на воздухе при 4 °С было проведено повторное исследование по описанной выше методике. Показано, что скорость выхода экстрактов увеличивается на 30 ÷ 50 % (по сравнению с только что полученными) за счет постепенного гидролиза полимерной матрицы.

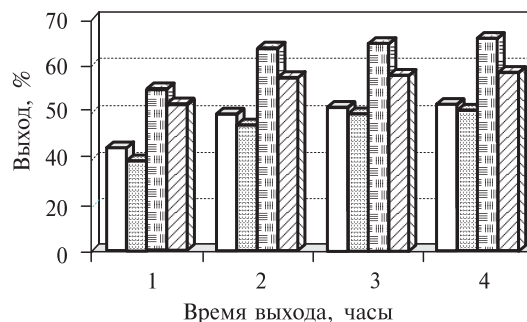


Рис. 5. Кинетика выхода ЭПК в физиологическом растворе из микрочастиц полилактида, полученных при различных условиях:

□ — 10 % 10 МПа; ▒ — 10 % 20 МПа; ▨ — 20 % 10 МПа; ▩ — 20 % 20 МПа

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан процесс синтеза биоактивных биорезорбируемых микрочастиц, основанный на распылении пластифицированной сверхкритическим диоксидом углерода порошковой смеси аморфного алифатического полиэфира (D,L-полилактида) с водорастворимым экстрактом подорожника и календулы в ресивер низкого давления через сопло определенного профиля и диаметра.

Исследована кинетика выхода растительного экстракта из микрочастиц, полученных при различных давлениях СК-СО<sub>2</sub>. Показано, что скорость выхода ЭПК в физиологический раствор зависит от величины давления диоксида углерода и исходного соотношения полимер/ЭПК. Общее количество вышедшего экстракта за первый час может варьироваться в диапазоне 40 ÷ 70 % вес. от исходного значения. Относительно высокая скорость выхода инкапсулированного экстракта определяется, в первую очередь, низкой ( $M_w \sim 16000$ ) молекулярной массой (а следовательно, и малым временем биорезорбции) исходного полилактида, а также относительно высокой пористостью получаемых из него микрочастиц.

Дальнейшее развитие этой работы предполагает получение микрочастиц с менее развитой пористой структурой из более высокомолекулярных полимеров (в частности, с применением высокоинтенсивного акустического возбуждения [16]), изучение кинетики выхода БАВ из синтезированных образцов микрочастиц в модели *in vitro* (клеточные и тканевые структуры), а также исследование ранозаживляющих эффектов инкапсулированных экстрактов на моделях *in vivo* (мышы и кролики).

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность профессору В.Н. Баграташвили за плодотворные обсуждения результатов данной работы, а также свою признательность за финансовую поддержку Российскому фонду фундаментальных исследований (проекты № 05-08-50266 и 06-02-08125) и Правительству Москвы за финансирование этой работы



в рамках научно-технической программы «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний» на 2007—2009 гг.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Morris I.D., Palmer A.M.* Drug News Perspect. 2005. Vol. 18. P. 525—530.
2. *Sakiyama-Elbert S.E., Hubbell J.A.* J. Controlled Release. 2000. Vol. 65. P. 389—402.
3. *Markvicheva E., Stashevskaya K., Strukova S., Prudchenko I., Rusanova A., Makarova A., Vasilieva T., Bepalova J.J.* Drug Del. Sci. Tech. 2006. Vol. 16. P. 321—325.
4. *Griffith L.G.* Acta Mater. 2000. Vol. 48. P. 263—277.
5. *Hubbell J.A.* Curr. Opin. Biotechnol. 1999. Vol. 10. P. 123—129.
6. *Le Maitre C.L., Freemont A.J., Hoyland J.A.* J. Pathol. 2004. Vol. 204. P. 47—54.
7. *Sakiyama-Elbert S.E., Panitch A., Hubbell J.A.* FASEB J. 2001. Vol. 15. P. 1300—1302.
8. *Kompella U.B., Koushik K.* Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 2001. Vol. 18. P. 173—199. S.M.
9. *Kim J.H., Paxton T.E., Tomasko D.L.* Biotechnol. Prog. 1996. Vol. 12. P. 650—661.
10. *Matsuyama K., Mishima K., Hayashi K.-I., Ishikawa H., Matsuyama H., Harada T.* J. Appl. Polym. Sci. 2003. Vol. 89. P. 742—752.
11. *Xu Q., Han B., Yan H.* J. Appl. Polym. Sci. 2003. Vol. 8. P. 2427—2433.
12. *Howdle S.M., Mandel F.S., Watson M.S., Popov V.K., Shakesheff K.M.* Proc. of the 27<sup>th</sup> Int. Symp. on Controlled Release of Bioactive Materials. Boston, USA. 2000. P. 1024—1025.
13. *Howdle S.M., Watson M.S., Whitaker M.J., Popov V.K., Davies M.C., Mandel F.S., Wang J.D., Shakesheff K.M.* Chem. Commun. 2001. P. 109—110.
14. *Barry J.J.A., Silva M.M.C.G., Popov V.K., Shakesheff K.M., Howdle S.M.* Philosophical Transaction of Royal Society A. 2006. Vol. 364. P. 249—261.
15. *Tai H., Popov V.K., Shakesheff K.M., Howdle S.M.* Biochem. Soc. Trans. 2007. Vol. 35. P. 516—521.
16. *Баграмашвили В.Н., Богородский С.Э., Коновалов А.Н., Кубышкин А.П., Новицкий А.А., Попов В.К., Унтон К., Хоудл С.М.* СКФ-ТП. 2007. Т. 2. № 1. С. 53—60.
17. *Исагилов Р.Р., Костылев Д.А.* Календула. Уфа: Изд-во БГАУ, 2000.
18. *Андреева Е.А.* Лечение подорожником. М.: Рипол Классик, 2005.

---

---

## FABRICATION OF BIODEGRADABLE MICROPARTICLES COMPRISING BIOACTIVE COMPONENTS USING SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE

**<sup>1</sup>E.N. Antonov, <sup>1</sup>S.E. Bogorodski, <sup>2</sup>B.M. Feldman,  
<sup>3</sup>E.A. Markvicheva, <sup>3</sup>L.D. Rumsh, <sup>1</sup>V.K. Popov**

<sup>1</sup>*Institute of Laser and Information Technologies RAS, Troitsk, Moscow Region, Russia*

<sup>2</sup>*Federal National Unitary Enterprise “National Research Centre «NIOPIK»”, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia*

The results of supercritical fluid synthesis of bioresorbable polymer microparticles filled with bioactive plantain and calendula extracts are presented and discussed. The process is based on spraying of the mixture of amorphous aliphatic polyester (D,L-lactide) plasticized by supercritical carbon dioxide with fine-dispersed plant extract powder into low-pressure receiver through specific nozzle. Kinetics of extract release from microparticles produced under different CO<sub>2</sub> pressures is analyzed. The rate of extract release into physiological solution depends on both carbon dioxide pressure and initial polymer/extract ratio.

**Key words:** polymer microparticles, encapsulation of bioactive components, supercritical carbon dioxide.