

Научная статья
УДК 541.64:577.112.4
EDN: QJGTNQ
DOI: 10.21285/achb.938



Синтез привитых сополимеров трескового коллагена и акриламидов в присутствии системы алкилборан – п-хинон

Ю.Л. Кузнецова*✉, К.С. Гущина*, К.С. Лобанова*, В.О. Румянцева*,
М.Н. Егорихина**, Е.А. Фарафонтова**, Ю.П. Рубцова**, Л.Л. Семенычева*

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Российская Федерация

**Приволжский исследовательский медицинский университет Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, Российская Федерация

Аннотация. Была исследована привитая полимеризация акриламида и N-изопропилакриламида на коллаген в присутствии комплекса триэтилбор–гексаметилендиамин и ряда п-хинонов: бензохинона, нафтохинона, 2,5-ди-трет-бутил-п-бензохинона и дурухинона. Во всех случаях п-хиноны ведут себя как замедлители полимеризации и снижают конверсию мономера. Исключением является привитая полимеризация акриламида на коллаген в присутствии бензохинона, который проявляет себя ингибитором полимеризации. Доля синтетического фрагмента в полученных сополимерах определяется строением мономера и п-хинона. Кривые молекулярно-массового распределения содержат моды, относящиеся к непрореагировавшему коллагену, значительно отличающиеся по интенсивности от исходного коллагена. Это обусловлено образованием привитого сополимера сшитой структуры, который нельзя проанализировать методом гель-проникающей хроматографии. Разрушение сополимеров под действием ферментов контролировали методом гель-проникающей хроматографии. Ферментативный гидролиз сополимеров протекает медленнее, чем коллагена, что подтверждает образование сополимера. Через 3 часа после начала гидролиза кривые молекулярно-массового распределения содержат низкомолекулярные моды коллагена и моды низкой интенсивности, относящиеся к полиакриламидам. Морфология сополимеров отличается от морфологии коллагена и полиакриламидов. Оценка цитотоксичности – важный этап исследований сополимеров, позволяющий рассматривать их как основу материалов для регенеративной медицины. Анализ экстрактов, полученных из сополимеров при помощи культуральной среды, методом МТТ-теста показал высокий ранг токсичности. Разведение экстрактов сополимеров коллагена и N-изопропилакриламида водными растворами приводит к ее снижению. Для сополимеров коллагена и акриламида токсичность сохраняется, что обусловлено высокой токсичностью мономера. Снижение токсичности сополимеров возможно после экстракции непрореагировавшего акриламида хлороформом.

Ключевые слова: коллаген, акриламид, N-изопропилакриламид, алкилборан, п-хинон, привитой сополимер

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-23-20091.

Для цитирования: Кузнецова Ю.Л., Гущина К.С., Лобанова К.С., Румянцева В.О., Егорихина М.Н., Фарафонтова Е.А. [и др.]. Синтез привитых сополимеров трескового коллагена и акриламидов в присутствии системы алкилборан – п-хинон // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2024. Т. 14. N 3. С. 305–322. DOI: 10.21285/achb.938. EDN: QJGTNQ.

Synthesis of grafted copolymers of cod collagen and acrylamides in the presence of alkylborane – *p*-quinone system

Yulia L. Kuznetsova*✉, Ksenya S. Gushchina*, Karina S. Lobanova*,
Victoria O. Rumyantseva*, Marfa N. Egorikhina**, Ekaterina A. Farafontova**,
Yulia P. Rubtsova**, Luydmila L. Semenycheva*

*National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod,
Nizhny Novgorod, Russian Federation

**Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. The graft polymerization of acrylamide and *N*-isopropylacrylamide onto collagen in the presence of triethylborohexamethylenediamine complex and a number of *p*-quinones, including benzoquinone, naphthoquinone, 2,5-di-*t*-butyl-*p*-benzoquinone, and duroquinone, was studied. In all cases, *p*-quinones act as polymerization retarders, reducing monomer conversion. An exception is the graft polymerization of acrylamide onto collagen in the presence of benzoquinone, which acts as a polymerization inhibitor. The proportion of the synthetic fragment in the obtained copolymers is determined by the structure of the monomer and *p*-quinone. The molecular weight distribution curves contain modes related to unreacted collagen, which differ significantly from those of the initial collagen in terms of intensity. This is related to the formation of a grafted copolymer of cross-linked structure, which cannot be analyzed by gel permeation chromatography. The degradation of copolymers under the action of enzymes was controlled by gel permeation chromatography. Enzymatic hydrolysis of copolymers proceeds slower than that of collagen, which confirms the formation of a copolymer. Following three hours after the onset of hydrolysis, the molecular weight distribution curves contain low-molecular weight modes of collagen and low-intensity modes related to polyacrylamide. The morphology of copolymers differs from that of collagen and polyacrylamides. Cytotoxicity evaluation of copolymers is an important research stage, determining their prospects as the basis of materials for regenerative medicine. An analysis of extracts obtained from the copolymers using culture medium by MTT assay showed a high rank of their toxicity, which can be reduced by dilution of collagen and *N*-isopropylacrylamide copolymer extracts with aqueous solutions. For the copolymers of collagen and acrylamide, the toxicity is maintained due to the high toxicity of the monomer. Their toxicity can be reduced by extraction of unreacted acrylamide with chloroform.

Keywords: collagen, acrylamide, *N*-isopropylacrylamide, alkylborane, *p*-quinone, grafted copolymer

Funding. The Russian Science Foundation financially supported this work (project no. 22-23-20091).

For citation: Kuznetsova Yu.L., Gushchina K.S., Lobanova K.S., Rumyantseva V.O., Egorikhina M.N., Farafontova E.A., et al. Synthesis of grafted copolymers of cod collagen and acrylamides in the presence of alkylborane – *p*-quinone system. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(3):305-321. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.938. EDN: QJGTNQ.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие регенеративной медицины ставит перед химиками важную задачу – создание новых тканезамещающих материалов – скаффолдов – для сохранения, восстановления и улучшения функционирования поврежденных тканей и органов. Такие материалы должны быть биосовместимыми, биоразлагаемыми, нетоксичными, биологически активными, а также иметь определенную структуру, которая позволит клеткам расти внутри скаффолда [1, 2]. В настоящее время предложено множество скаффолдов из различных природных и синтетических полимеров. Важное место среди них занимают коллагеновые материалы [3–11]. Белковая структура коллагена имеет высокую степень пористости, гидратированности и микроволокнистую структуру, за счет которой соз-

дается достаточно обширная площадь поверхности для прикрепления клеток, что обеспечивает их миграцию и условия для поддержания жизнедеятельности [7, 8]. Коллаген обладает хорошей биосовместимостью, так как является самым распространенным белком в организмах млекопитающих. Наибольший интерес представляет морской (рыбный) коллаген [5, 12–17]. Он на 96% идентичен человеческому, поэтому тканезамещающие материалы на его основе не вызывают аллергических реакций. Морские животные не являются переносчиками заболеваний, опасных для человека. Кроме того, использование материалов на основе рыбного коллагена не противоречит религиозным представлениям. Все перечисленное делает морской коллаген незаменимым компонентом материалов

регенеративной медицины, однако он имеет низкие показатели механических свойств [18], важные в случае твердых скаффолдов, и слабую гелеобразующую способность, необходимую для получения гелеобразных материалов. Для улучшения механических свойств используются различные приемы: получение сшитых структур физическими [19, 20] и химическими [21–31] методами; синтез сополимеров, включающих коллаген и синтетические полимеры [9, 26–34], в том числе взаимопроницающих гелей [26–28, 31]. Введение синтетических фрагментов в природный полимер значительно усиливает механические свойства [18, 31, 33]. Сшитые привитые сополимеры могут быть положены в основу создания и гелеобразных материалов, в этом плане наибольший интерес представляют сополимеры коллагена с полиакриламидами [26–29], что обусловлено способностью этих сополимеров образовывать устойчивые гидрогели. Обычно их получение проводят под действием водорастворимых инициаторов – персульфатов аммония и щелочных металлов [26–31].

Другой подход для синтеза сополимеров коллагена и синтетических полимеров заключается в использовании в качестве инициатора алкилов бора. Алкилбораны в сочетании с кислородом позволяют осуществлять привитую полимеризацию широкого круга мономеров на поверхности природных [34] и синтетических [35, 36] полимеров. Данная особенность алкилборанов положена в основу создания пломбировочного материала для восстановления зубов [37] и акрилатных клеевых композиций [38–40], которые образуют прочные композиты, а разрыв под нагрузкой происходит по склеиваемому материалу. Получены привитые сополимеры коллагена [41–45] или денатурированного коллагена – желатина [46–48] с полиметилметакрилатом (ПММА) [41, 45–47], полибутилакрилатом (ПБА) [43, 44], полиакриламидом (ПАА) [42, 48] в присутствии трибутилбора (ТББ) [41, 42, 45–48] и триэтилбора (ТЭБ) [43, 44], а также системы ТББ – *p*-хинон [45, 46]. Во всех случаях образуются сшитые сополимеры, что обусловлено способностью алкилборана участвовать в стадии иницирования, передачи цепи и реиницирования реакционных цепей при радикальной полимеризации. Этот эффект усиливается в случае синтеза сополимеров желатин–ПММА [46] и коллаген–ПММА [45] при одновременном присутствии ТББ и *p*-хинона.

Целью проведенной работы являлся синтез сшитых привитых сополимеров трескового коллагена с ПАА и поли-*N*-изопропилакриламидом (ПНИПА) в присутствии комплекса ТЭБ – гексаметилендиамин (ГМДА) и ряда *p*-хинонов: *p*-бензохинона (БХ), *p*-нафтохинона (НХ), 2,5-ди-*трет*-бутил-*p*-бензохинона (2,5-ДТБХ), дурухинона (ДХ). Главные задачи исследования включали подтверждение состава и структуры сополимеров с привлечением методов физико-химического анализа, а также изучение влияния строения мономера и *p*-хинона на состав, молекулярно-массовые характеристики и цитотоксичность сополимеров.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы. Коллаген был получен путем обработки кожи трески 3%-м раствором уксусной кислоты (1:5) в течение 18 ч по запатентованной методике [49]. Характеристики коллагена: $M_n = 244$ kDa, $M_w = 279$ kDa, $M_z = 304$ kDa, PDI = 1,14. Акриламид (АА) очищали пере-

кристаллизацией из бензола, температура плавления – 84 °С. *N*-изопропилакриламид (НИПА) (Aldrich, США), ТЭБ–ГМДА, ДХ (Aldrich, США), БХ (Aldrich, США) использовали без предварительной очистки. НХ («Реахим», Россия) очищали перекристаллизацией из петролейного эфира, 2,5-ДТБХ – перекристаллизацией из диэтилового эфира.

Привитая полимеризация. Для синтеза сополимера коллагена и АА (НИПА) в трехгорлую колбу помещали 30 мл 1%-й уксуснокислой дисперсии коллагена и нагревали на водяной бане до 60 °С в атмосфере аргона. Затем добавляли 0,05 г комплекса ТЭБ–ГМДА и выдерживали 30 мин. После этого в реакционную колбу добавляли *p*-хинон (массы представлены в табл. 1) и 0,3 г АА (НИПА). Реакционную смесь выдерживали еще 3 ч при 60 °С. Все операции проводили в токе аргона и при постоянном перемешивании.

Таблица 1. Массы *p*-хинонов, использованные в синтезе сополимеров коллагена и акриламида (*N*-изопропилакриламида)

Table 1. Masses of *p*-quinones used in the synthesis of collagen and acrylamide (*N*-isopropylacrylamide) copolymers

<i>p</i> -Хинон	Масса, г
<i>p</i> -Бензохинон	0,00110
<i>p</i> -Нафтохинон	0,00165
2,5-Ди- <i>трет</i> -бутил- <i>p</i> -бензохинон	0,00230
Дурухинон	0,00170

Определение остаточного мономера, расчет конверсии и эффективности прививки. Непрореагировавший мономер определяли бромированием по методу Кноппа [42]. При вычислении содержания мономера учитывается количество брома, идущего на титрование. В мерную колбу помещали 1 мл дисперсии из синтеза и 100 мл дистиллированной воды. После этого добавляли 25 мл бромид-броматного раствора $KBr + KBrO_3$ и 10 мл 10%-го раствора HCl . Перемешивали и оставляли в темном месте на 2,5 ч. После этого прибавляли 15 мл 10%-го раствора KI и оттитровывали выделившийся йод 0,1 н раствором тиосульфата натрия $Na_2S_2O_3$. Аналогично был проведен контрольный опыт с дистиллированной водой.

Содержание мономера X , %, вычисляли следующим образом:

$$X = (a - b) \times m / 200 \times m,$$

где a и b – объемы 0,1 н раствора $Na_2S_2O_3$, израсходованного на титрование контрольной и анализируемой проб соответственно, мл; M – молекулярная масса АА (НИПА), г/моль; m – навеска образца сополимера, г.

На основании полученного значения рассчитывали массы непрореагировавшего мономера $m_{ост.м.}$, г, и мономера, вошедшего в состав сополимера $m_{синт.ч.}$, г, а также конверсию мономера P , %, и эффективность прививки $ЭП$, %, по формулам:

$$\begin{aligned} m_{ост.м.} &= X \times m_{р.с.} / 100; \\ m_{синт.ч.} &= m_{исх.м.} - m_{ост.м.}; \\ P &= m_{синт.ч.} \times 100 / m_{исх.м.}; \\ ЭП &= m_{синт.ч.} \times 100 / (m_{синт.ч.} + m_{кол.}), \end{aligned}$$

где X – содержание остаточного мономера в реакционной смеси, %; $m_{р.с.}$ – масса реакционной смеси, г; $m_{ост.м.}$ – масса непрореагировавшего мономера, г;

$m_{\text{исх.м.}}$ – начальная масса мономера, использованного в синтезе, г; $m_{\text{синт.ч.}}$ – масса мономера, вошедшего в состав сополимера, г; ЭП – эффективность прививки, %; $m_{\text{кол.}}$ – масса коллагена, г.

Гель-проникающая хроматография. Определение молекулярно-массовых характеристик уксуснокислых дисперсий сополимеров, отобранных из реакционной колбы после синтеза, а также водных дисперсий продуктов ферментативного гидролиза сополимеров проводили методом гель-проникающей хроматографии (ГПХ) с применением высокоэффективного жидкостного хроматографа CTO20A/20AC (Shimadzu, Япония) с программным модулем LC-Solutions-GPC. Подготовку дисперсий для анализа осуществляли путем фильтрации через насадочные полиамидные мембраны с диаметром пор 0,45 мкм. Разделение проводили с применением колонки Tosoh Bioscience TSKgel G3000SWxl с диаметром пор 5 мкм. В качестве детектора использовали низкотемпературный светорассеивающий детектор ELSD-LT II. Элюентом служил 0,5 М раствор уксусной кислоты. Скорость потока 0,8 мл/мин, $T = 30^\circ\text{C}$. Для калибровки применяли узкодисперсные образцы декстрана с диапазоном молекулярных масс 1–410 kDa (Fluca, Германия).

Проведение ферментативного гидролиза. Ферментативный гидролиз сополимеров проводили с использованием коллагеназы и панкреатина (Hubei Maxpharm Industries Co, Китай) с протеолитической активностью 2 ЕД/мг.

Для гидролиза коллагеназой сополимеры предварительно высушивали. Затем к образцу добавляли фермент (4 масс.% сополимера) и дистиллированную воду (10 мл на 0,1 г сополимера). Смесь выдерживали в течение суток. Для гидролиза панкреатином к раствору добавляли 1 м NaOH для нейтрализации кислоты, а затем доводили до требуемого объема дистиллированной водой. Гидролиз проводили путем добавления фермента к полученной смеси при массовом соотношении сополимера и фермента $10^3:1$. Пробы (по 1 мл) отбирали через равные промежутки времени (1, 10, 30, 60 мин и 3 дня) после добавления фермента. Чтобы прервать гидролиз, к образцам добавляли 1 мл 4%-го раствора уксусной кислоты.

Смеси, полученные в результате каждого гидролиза, отфильтровывали. Оставшийся полимер концентрировали и анализировали методом ГПХ.

Растровая электронная микроскопия. Для исследования сополимеров методом растровой электронной микроскопии получали губки путем лиофильного высушивания дисперсии сополимеров после синтеза. Изображение поверхности губок коллагена и сополимеров с нанометровым разрешением получали с помощью растрового электронного микроскопа марки JEOL JSM-IT300LV в режиме низкого вакуума с разрешением 4,0 нм при ускоряющем напряжении 30 кВ и при увеличении от 5 до 2000 крат в пересчете на размер отпечатка 10×12 см.

Оценка цитотоксичности с помощью МТТ-теста. Для исследования образцов были использованы дермальные фибробласты человека (ДФЧ) 4–6 пассажа. Использовалась активная, морфологически однородная культура, хорошо адгезирующая на пластик. Иммунофенотип клеток культуры соответствовал иммунофенотипу клеток

мезенхимального ряда, жизнеспособность культуры составляла более 97%. ДФЧ с плотностью 10000 на 1 см^2 засеивали в лунки плоскодонного 96-луночного планшета в ростовой среде DMEM/F12 с антибиотиками (пенициллин – 100 ед/мл; стрептомицин – 100 мкг/мл) и 10%-й инактивированной телячьей эмбриональной сыворотки. Далее клетки культивировали в стандартных условиях в течение суток. Через 24 ч во всех лунках фиксировали равномерный рост типичных фибробластоподобных клеток в виде субконфлюэнтного монослоя. После 24 ч культивирования ростовую среду над клетками заменяли исследуемыми растворами.

МТТ-тест – это колориметрический метод, основанный на реакции восстановления тетразолиевого красителя бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиума в нерастворимый формазан. Измерение концентрации формазана, отраженной в оптической плотности, проводили с использованием планшетного ридера Sunrise (Австрия) при длине волны 540 нм.

Исследуемые образцы в виде пленок, доведенных в вакуумном шкафу до постоянной массы, помещали в подготовленную ростовую среду (DMEM/F12 с растворенными антибиотиками и 2% телячьей эмбриональной сыворотки). Образцы, помещенные в ростовую среду, помещали в CO_2 -инкубатор на 24 ч при стандартных условиях (температура – 37°C , концентрация CO_2 – 5%). После 24 ч инкубации от исследуемых образцов отбирали экстракт и готовили серию разведений экстракта с ростовой средой в соотношении 1:1, 1:2, 1:4 и 1:8.

К культуре ДФЧ, посеянных в 96-луночный планшет, добавляли различные концентрации экстракта. Каждую концентрацию выполняли в 8 лунках. Планшет с образцами помещали в CO_2 -инкубатор на 72 ч.

Через 72 ч в каждую лунку добавляли раствор МТТ (20 мкл), далее клетки инкубировали с МТТ в течение 3 ч в условиях CO_2 -инкубатора. Раствор МТТ готовили в концентрации 5 мг/мл в фосфатном буферном растворе. Через 3 ч инкубации супернатант отбирали, а затем замещали на равный объем раствора диметилсульфоксида и регистрировали оптическую плотность при 540 нм на планшетном ридере.

Относительную интенсивность роста ОИР, %, определяли по следующей формуле:

$$\text{ОИР} = (\text{средняя ОП в тестовой культуре} / \text{средняя ОП в контроле}) \times 100,$$

где ОП – оптическая плотность.

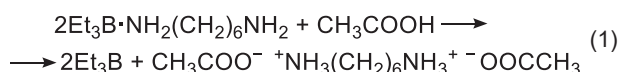
Сравнивали относительную интенсивность роста опытных серий с относительной интенсивностью роста контроля, принимая ее за 100%.

Степень выраженности цитотоксичности ранжировали:

- относительная интенсивность роста 100% – 0 ранг;
- относительная интенсивность роста 99–75% – 1 ранг, отсутствие токсичности;
- относительная интенсивность роста 74–50% – 2 ранг, легкая степень токсичности;
- относительная интенсивность роста 49–25% – 3 ранг, средняя степень токсичности;
- относительная интенсивность роста 24–0% – 4 ранг, высокая степень токсичности [49].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Привитая полимеризация метилметакрилата на пищевой желатин [46] и морской коллаген [45] в присутствии системы ТББ – *p*-хинон приводит к образованию привитых сополимеров шитой структуры. Сополимеры коллагена и ПАА синтезировали по методике, предложенной в работах [45, 46]. Поскольку триалкилбораны самопроизвольно воспламеняются на воздухе, использованный в работах [45, 46] ТББ для удобства был заменен устойчивым на воздухе комплексом ТЭБ–ГМДА. Высвобождение ТЭБ из комплекса происходит за счет взаимодействия ГМДА с уксусной кислотой, присутствующей в дисперсии коллагена (схема 1).



Для синтеза использовали предложенные ранее [45] для сополимеров коллаген–ПММА *p*-хиноны: БХ, НХ, 2,5-ДТБХ и ДХ, различающиеся по строению и реакционной способности [50]. Температура синтеза составляла 60 °С, так как было показано, что, несмотря на частичную денатурацию коллагена при этой температуре, образующиеся сополимеры коллаген–ПММА [41, 45] и коллаген–ПАА [42] обладают лучшими физико-механическими свойствами и наименьшей цитотоксичностью.

Процесс денатурации при 60 °С проходит медленно, особенно в том случае, когда параллельно идет функционализация белка [51].

Механизм прививки синтетических полимеров на природные предполагает предварительное борирование по гидроксильным группам коллагена (схема 2), а затем проведение полимеризации по механизму обратимого ингибирования (схемы 3–5).

По окончании синтеза была получена прозрачная вязкая дисперсия, которую далее анализировали на содержание остаточного мономера (табл. 2).

Как видно из табл. 2, введение любого *p*-хинона приводит к снижению конверсии мономера (или отсутствию полимеризации в случае АА и БХ), то есть использованные *p*-хиноны замедляют процесс полимеризации. Конверсия мономера зависит от строения мономера и *p*-хинона. Так, для НИПА во всех случаях, кроме 2,5-ДТБХ, выход полимерного продукта выше, чем для АА. При сополимеризации АА количество непрореагировавшего мономера тем выше, чем сильнее замедляющее действие *p*-хинона [50]. БХ полностью ингибирует процесс, конверсия мономера равна нулю, сополимер не образуется. Близкая закономерность наблюдается в случае НИПА, однако сополимер образуется во всех случаях, а 2,5-ДТБХ проявляет замедляющее действие, соизмеримое с БХ. Полимеризация

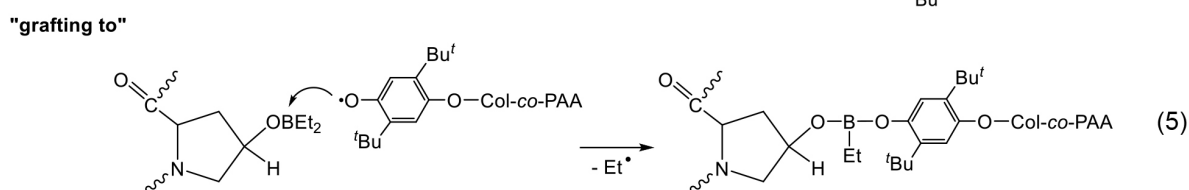
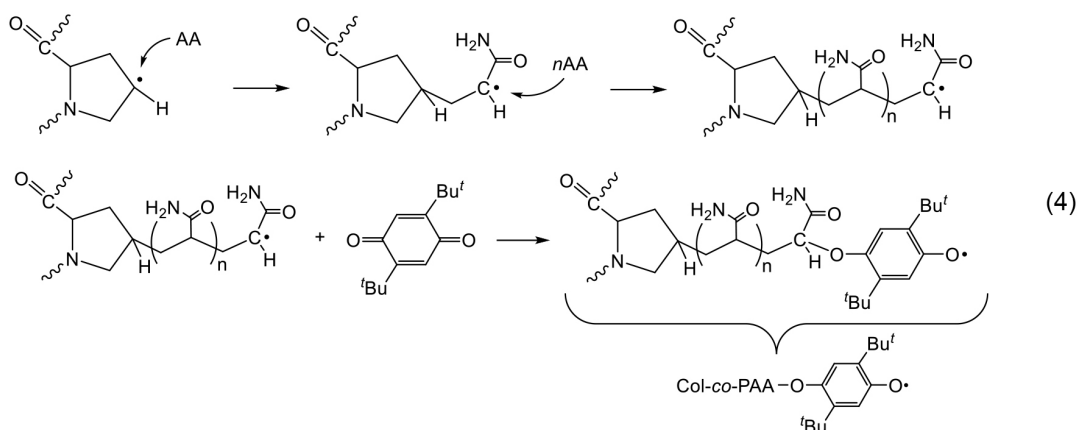
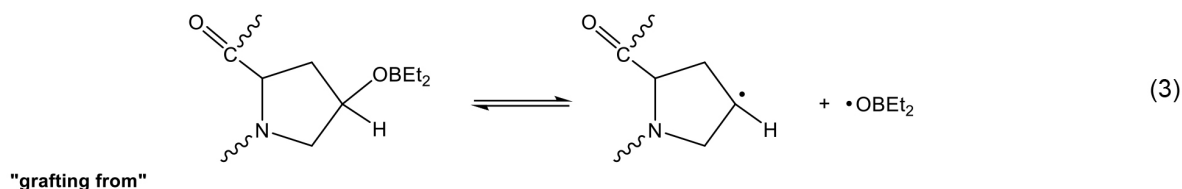
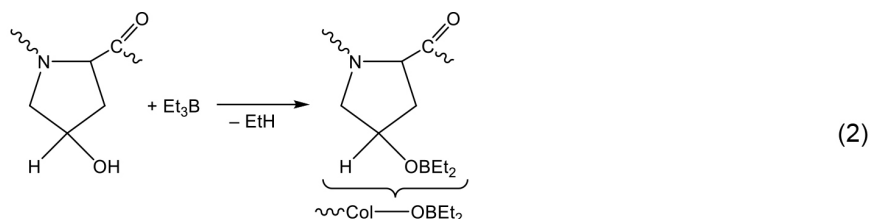


Таблица 2. Содержание остаточного мономера и доля привитого полимера в сополимере

Table 2. Residual monomer content and grafted polymer proportion in the copolymer

Мономер	Хинон	Масса непрореагировавшего мономера, г	Конверсия, %	Эффективность прививки, %
Акриламид	–	0,1619	46,0	31,5
	<i>p</i> -Бензохинон	0,3299	0,0	0,0
	<i>p</i> -Нафтохинон	0,2940	2,0	2,0
	2,5-Ди- <i>tert</i> -бутил- <i>p</i> -бензохинон	0,2136	29,0	22,4
	Дурохинон	0,2362	21,0	17,5
<i>N</i> -Изопропилакриламид	–	0,0147	95,0	48,7
	<i>p</i> -Бензохинон	0,2707	9,8	8,9
	<i>p</i> -Нафтохинон	0,2436	18,8	15,8
	2,5-Ди- <i>tert</i> -бутил- <i>p</i> -бензохинон	0,2765	7,8	7,3
	Дурохинон	0,1786	40,5	28,8

Примечание. Исходные массы: collagen – 0,3 г; мономер – 0,3 г; триэтилбор-гексаметилендиамин – 0,05 г. Концентрация *p*-хинона – 0,25 мол.% относительно мономера.

акриловых мономеров в присутствии *p*-хинонов осуществляется по двум механизмам: обычной радикальной и контролируемой радикальной полимеризациям [52]. Алкилборан нивелирует ингибирующее действие *p*-хинона [53], так как арилоксильный радикал, образующийся при взаимодействии *p*-хинона с радикалом роста, с высокой константой вступает в радикальное замещение на атоме бора (см. схему 5). Продукт данной реакции способен обратимо гомолитически диссоциировать, высвобождая радикал роста и стабильный радикал. Сочетание двух механизмов при полимеризации АА, конкурирующих и дополняющих друг друга, не позволяет точно оценить влияние *p*-хинонов на выход сополимера.

Кривые молекулярно-массового распределения (ММР) сополимеров коллагена и АА (рис. 1, кривые 2–6), а

также коллагена и НИПА (рис. 2, кривые 2–6) аналогичны кривой ММР коллагена (рис. 1 и 2, кривая 1). Мы полагаем, что часть сополимера имеет сшитую структуру (см. схемы 3, 4) и остается на фильтре при подготовке пробы для анализа методом ГПХ. Интенсивность высокомолекулярной моды на кривых ММР сополимеров значительно ниже, чем для исходного коллагена (см. рис. 1 и 2, кривую 1). Высокомолекулярная мода (см. рис. 1 и 2, кривые 2–6) относится к непрореагировавшему коллагену, а низкомолекулярная соответствует фракции в исходном полимере, не претерпевающей изменения при гидролизе коллагена [41, 54] или его модификации [41, 42, 45]. Следует отметить, что высокомолекулярный продукт, полученный в присутствии АА и БХ, не является сополимером, так как конверсия мономера равна нулю.

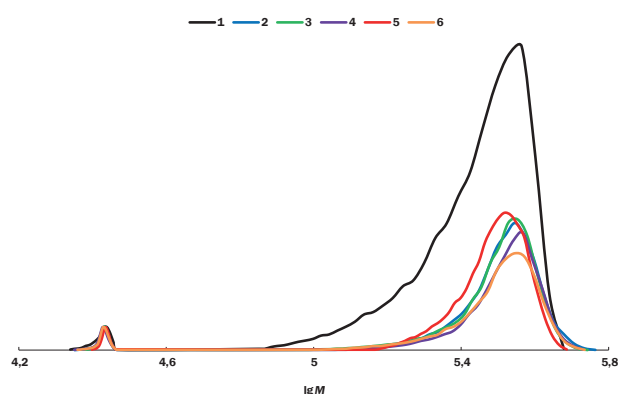


Рис. 1. Кривые молекулярно-массового распределения сополимеров коллагена и акриламида, синтезированных в присутствии комплекса триэтилбор-гексаметилендиамин и *p*-хинона: 1 – коллаген; 2 – отсутствие хинона; 3 – *p*-бензохинон; 4 – *p*-нафтохинон; 5 – 2,5-ди-*tert*-бутил-*p*-бензохинон; 6 – дуροхинон

Fig. 1. Molecular mass distribution curves of collagen and acrylamide copolymers synthesized in the presence of triethylbor-hexamethylenediamine complex and *p*-quinone: 1 – collagen; 2 – absence of quinone; 3 – *p*-benzoquinone; 4 – *p*-naphthoquinone; 5 – 2,5-di-*tert*-butyl-*p*-benzoquinone; 6 – duroquinone

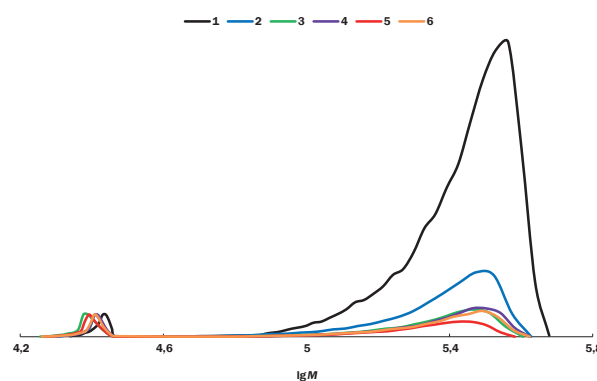


Рис. 2. Кривые молекулярно-массового распределения сополимеров коллагена и *N*-изопропилакриламида, синтезированных в присутствии комплекса триэтилбор-гексаметилендиамин и *p*-хинона: 1 – коллаген; 2 – отсутствие хинона; 3 – *p*-бензохинон; 4 – *p*-нафтохинон; 5 – 2,5-ди-*tert*-бутил-*p*-бензохинон; 6 – дуροхинон

Fig. 2. Molecular mass distribution curves of collagen and *N*-isopropylacrylamide copolymers synthesized in the presence of triethylbor-hexamethylenediamine complex and *p*-quinone: 1 – collagen; 2 – absence of quinone; 3 – *p*-benzoquinone; 4 – *p*-naphthoquinone; 5 – 2,5-di-*tert*-butyl-*p*-benzoquinone; 6 – duroquinone

Снижение интенсивности высокомолекулярной моды коллагена обусловлено образованием сшитой структуры под действием системы ТЭБ–ГМДА – БХ, которая осуществляется по схемам, аналогичным схемам 2–5. Разница заключается в том, что БХ взаимодействует с радикальным центром на поверхности коллагена, а не с привитым полиакриламидным радикалом (схема 4).

Предположение об образовании сшитой структуры подтверждают последующие эксперименты. Был проведен ферментативный гидролиз образцов, в результате которого под действием фермента разрушаются пептидные связи коллагена, а цепи синтетического полимера остаются нетронутыми. Анализ гидролизатов сополимеров становится возможным, так как разрушается сшитая структура сополимера. В отобранных в процессе гидролиза пробах водного раствора сополимера анализ ГПХ показывает, что высокомолекулярная мода на кривой ММР постепенно исчезает (рис. 3, 4), остаётся мода, отвечающая низкомолекулярной фракции коллагена, которая не подвергается гидролизу со значениями молекулярной массы ~25 кДа и соответствует продуктам ферментативного гидролиза рыбного коллагена в ранее проведенных экспериментах [41, 54]. Изменения площадей под кривыми ММР исходных сополимеров и их гидролизатов представлены на рис. 5. Если сравнивать полученные результаты гидролиза сополимера с таковыми для коллагена [54], то очевидно заметное уменьшение скорости гидролиза сополимеров в сравнении с коллагеном. И даже через 3 дня сохраняются моды низкой интенсивности, которые можно отнести к не подвергшимся гидролизу ПАА (см. рис. 3, кривую 6) или ПНИПА (см. рис. 4, кривую 6). Хорошо известно, что

протеолитические ферменты гидролизуют связи белков, образованные аргинином и лизином [55]. Привитые к макромолекуле коллагена синтетические фрагменты, видимо, не препятствуют гидролизу пептидных макромолекул по тем же связям. Тем не менее стерические затруднения, связанные с прививкой синтетических фрагментов на коллаген, замедляют этот процесс гидролиза. Подобное изменение скорости гидролиза наблюдалось ранее при ферментативном разрушении привитого сополимера ММА–рыбный коллаген [45]. Молекулярная масса ПНИПА ниже, чем молекулярная масса ПАА, а при соизмеримых значениях конверсии двух мономеров число привитых полимерных цепей ПНИПА больше, чем ПАА. В связи с этим в случае ПАА остается больше непрореагировавшего коллагена (см. рис. 1, 2).

Морфология сополимеров коллагена и АА и коллагена и НИПА (рис. 6, b и 7, b) отличается от морфологии коллагена (рис. 6, a и 7, a), а также от морфологии входящих в состав ПАА (рис. 6, c) и ПНИПА (рис. 7, c). Свойство ПАА и ПНИПА поглощать и удерживать воду передается сополимерам, в состав которых они входят. В процессе лиофильной сушки из-за медленного удаления воды происходит «слипание» фрагментов сополимера в чешуйки разного размера, что приводит к визуальному уплотнению продукта на микрофотографии (см. рис. 6, b и 7, b).

Основным возможным способом применения полученных сополимеров является создание материалов для регенеративной медицины. В связи с этим необходима оценка цитотоксичности полученных образцов. Была исследована токсичность сополимеров коллагена с АА и коллагена с НИПА в присутствии 2,5-ДТБХ.

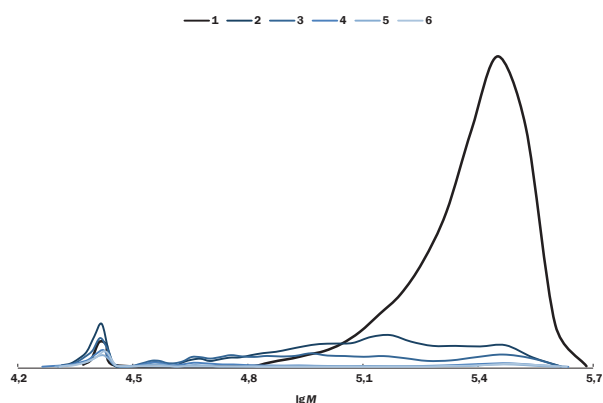


Рис. 3. Кривые молекулярно-массового распределения продуктов ферментативного гидролиза панкреатином сополимеров коллагена и акриламида, полученных в присутствии иницирующей системы триэтилбор–гексаметилендиамин – 2,5-ди-трет-бутил-*p*-бензохинон: 1 – исходный; 2 – 1 мин; 3 – 10 мин; 4 – 30 мин; 5 – 60 мин; 6 – 3 дня

Fig. 3. Molecular weight distribution curves of the products of enzymatic hydrolysis of collagen and acrylamide copolymers by pancreatin obtained in the presence of the initiating system triethylbor–hexamethylenediamine – 2,5-di-*tret*-butyl-*p*-benzoquinone: 1 – initial; 2 – 1 min; 3 – 10 min; 4 – 30 min; 5 – 60 min; 6 – 3 days

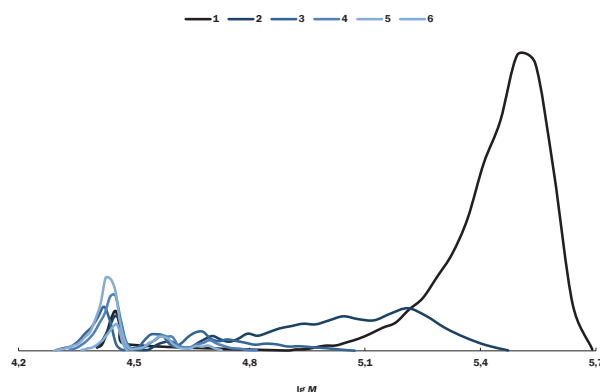


Рис. 4. Кривые молекулярно-массового распределения продуктов ферментативного гидролиза панкреатином сополимеров коллагена и *N*-изопропилакриламида, полученных в присутствии иницирующей системы триэтилбор–гексаметилендиамин – 2,5-ди-трет-бутил-*p*-бензохинон: 1 – исходный; 2 – 1 мин; 3 – 10 мин; 4 – 30 мин; 5 – 60 мин; 6 – 3 дня

Fig. 4. Molecular weight distribution curves of the products of enzymatic hydrolysis of collagen and *N*-isopropylacrylamide copolymers by pancreatin obtained in the presence of the initiating system triethylbor–hexamethylenediamine – 2,5-di-*tret*-butyl-*p*-benzoquinone: 1 – initial; 2 – 1 min; 3 – 10 min; 4 – 30 min; 5 – 60 min; 6 – 3 days

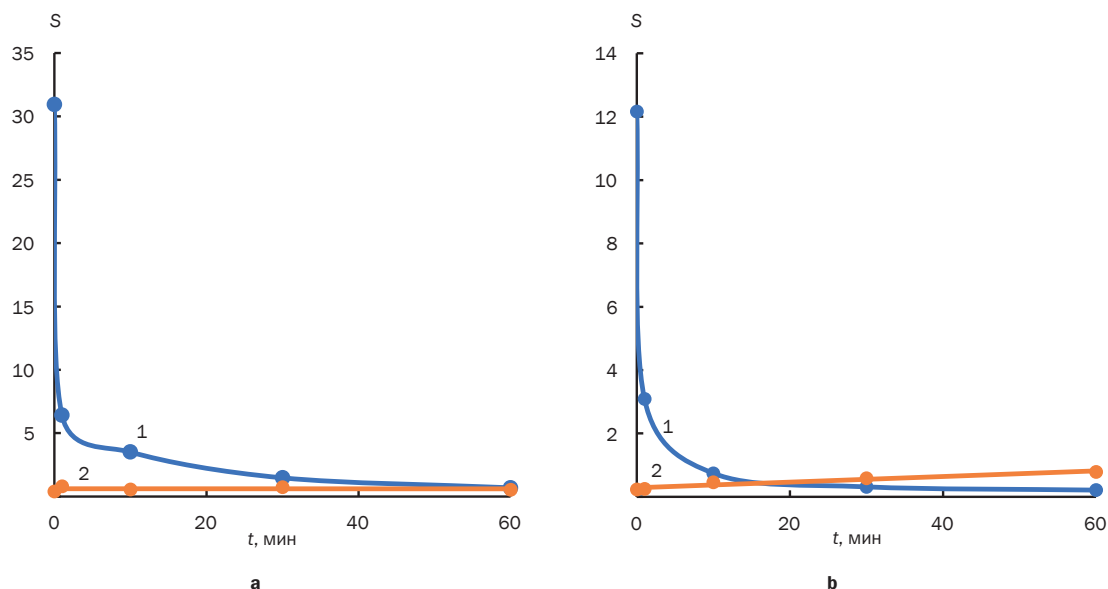


Рис. 5. Площади, ограниченные кривыми молекулярно-массового распределения, для гидролизатов сополимеров collagen–полиакриламид (а) и collagen–поли-*N*-изопропилакриламид (b) с молекулярной массой 250–300 кДа (1) и 25 кДа (2)

Fig. 5. Areas bounded by molecular mass distribution curves for hydrolysates of collagen–polyacrylamide (a) and collagen–poly-*N*-isopropylacrylamide (b) copolymers with molecular weight of 250–300 kDa (1) and 25 kDa (2)

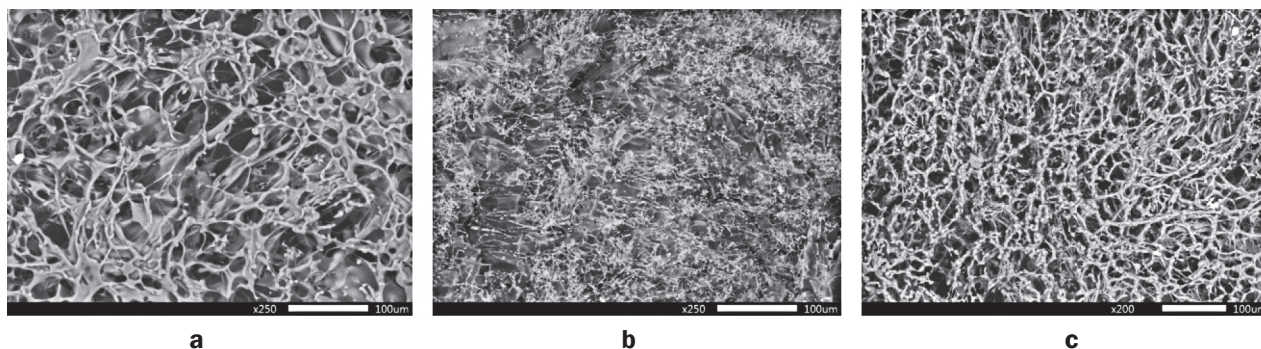


Рис. 6. Полученные методом растровой электронной микроскопии изображения морфологии лиофильно высушенных образцов коллагена (а), сополимера collagen–полиакриламид, синтезированного в присутствии системы триэтилбор–гексаметилендиамин – 2,5-ди-*трет*-бутил-*п*-бензохинон (b), полиакриламида (с)

Fig. 6. Scanning electron microscopy images of morphology of lyophilized collagen samples (a); collagen–polyacrylamide copolymer synthesized in the presence of the system triethylbor–hexamethylenediamine – 2,5-di-*трет*-butyl-*п*-benzoquinone (b), and polyacrylamide (c)

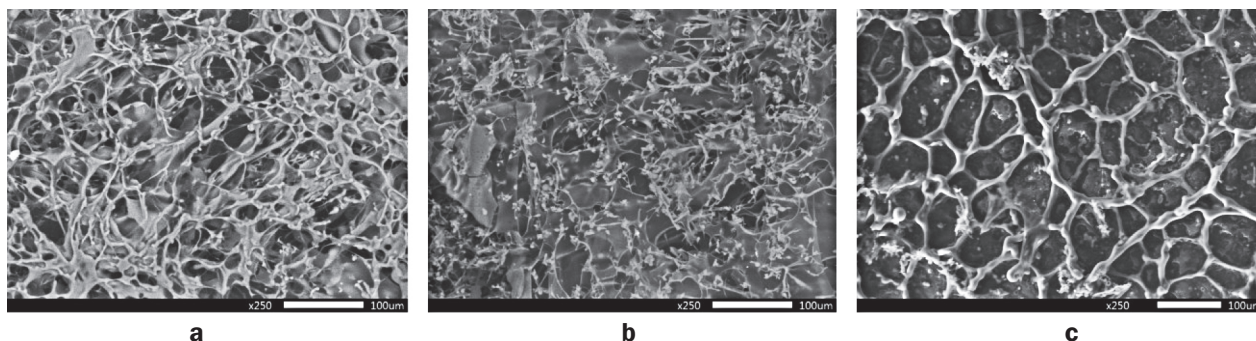


Рис. 7. Полученные методом растровой электронной микроскопии изображения морфологии лиофильно высушенных образцов коллагена (а), сополимера collagen–поли-*N*-изопропилакриламид, синтезированного в присутствии системы триэтилбор–гексаметилендиамин – 2,5-ди-*трет*-бутил-*п*-бензохинон (b), поли-*N*-изопропилакриламида (с)

Fig. 7. Scanning electron microscopy images of morphology of lyophilized collagen samples (a), collagen–poly-*N*-isopropylacrylamide copolymer synthesized in the presence of the system triethylbor–hexamethylenediamine – 2,5-di-*трет*-butyl-*п*-benzoquinone (b), and poly-*N*-isopropylacrylamide (c)

Экстракт и разведения 1:1, 1:2 и 1:4 образца сополимера коллагена и ПАА соответствуют 4 рангу цитотоксичности, что говорит о его высокой токсичности (рис. 8). Микроскопическая картина соответствует (рис. 9). Все клетки в данных разведениях ошарены. При разведении 1:8 ранг цитотоксичности снижается до 3-го (рис. 8). Помимо множества ошаренных клеток, встречаются также единичные распластанные ДФЧ (см. рис. 9, b). Однако эти клетки также токсированы. Часть образца остается нерастворенной, предположительно из-за сшитой структуры. Высокую токсичность образца мы связываем с наличием непрореагировавшего АА (см. табл. 2). Для использования таких продуктов требуется избавиться от мономера, что легко достигается с помощью экстракции хлороформом в аппарате Сокслета [48] и приводит к снижению токсичности [42].

Экстракт сополимера коллагена и ПНИПА соответствует 4 рангу цитотоксичности (рис. 10). Все клетки токсированы. В поле зрения много фрагментов образца разных размеров. При дальнейших разведениях степень цитотоксичности постепенно снижается. Разведение 1:1 демонстрирует 2 ранг, разведения 1:2 и 1:8 – 1 ранг. Фрагменты образца «слипаются» в подобия кластеров. Разведение 1:4 соответствует 0 рангу цитотоксичности (рис. 10, 11).

Таким образом, экстракты обоих сополимеров коллагена проявляли высокую степень цитотоксичности. Экстракт сополимера коллагена и ПАА сохранял высокую степень цитотоксичности при всех исследуемых разведениях, а цитотоксичность сополимера коллагена и ПНИПА при разведении нивелировалась. Такие сильные различия цитотоксического эффекта, вероятнее всего, вызваны различием в строении мономеров.

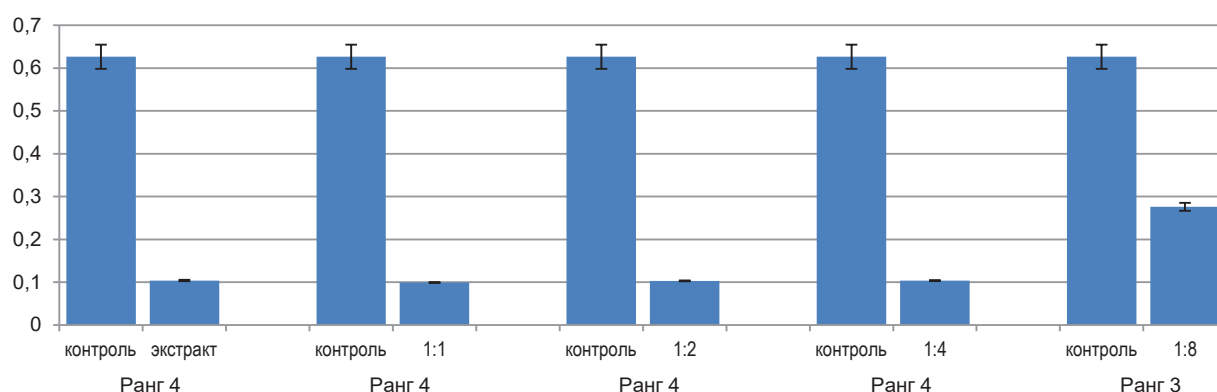


Рис. 8. Оптическая плотность экстракта, полученного из сополимера коллаген–полиакриламид, синтезированного в присутствии системы триэтилбор–гексаметилендиамин – 2,5-ди-трет-бутил-п-бензохинон, и его разведений в соотношении с контролем (MTT-тест)

Fig. 8. Optical density of the extract obtained from the collagen–polyacrylamide copolymer synthesized in the presence of the system triethylbor–hexamethylenediamine – 2,5-di-*tret*-butyl-*p*-benzoquinone and its dilutions in relation to the control (MTT assay)

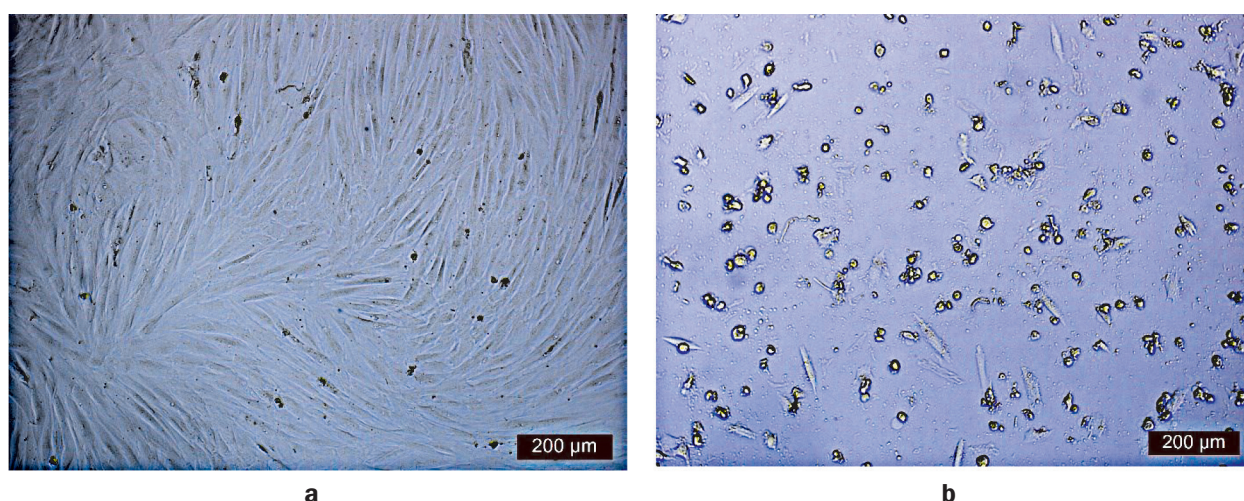


Рис. 9. Репрезентативные микрофотоснимки: а – контроль, среда без сополимера; б – с экстрактом сополимера коллаген–полиакриламид, синтезированного в присутствии системы триэтилбор–гексаметилендиамин – 2,5-ди-трет-бутил-п-бензохинон, разведение экстракта 1:8

Fig. 9. Representative micrographs: a – control, medium without copolymer; b – with an extract of the collagen–polyacrylamide copolymer synthesized in the presence of the system triethylbor–hexamethylenediamine – 2,5-di-*tret*-butyl-*p*-benzoquinone, dilution of the extract 1:8

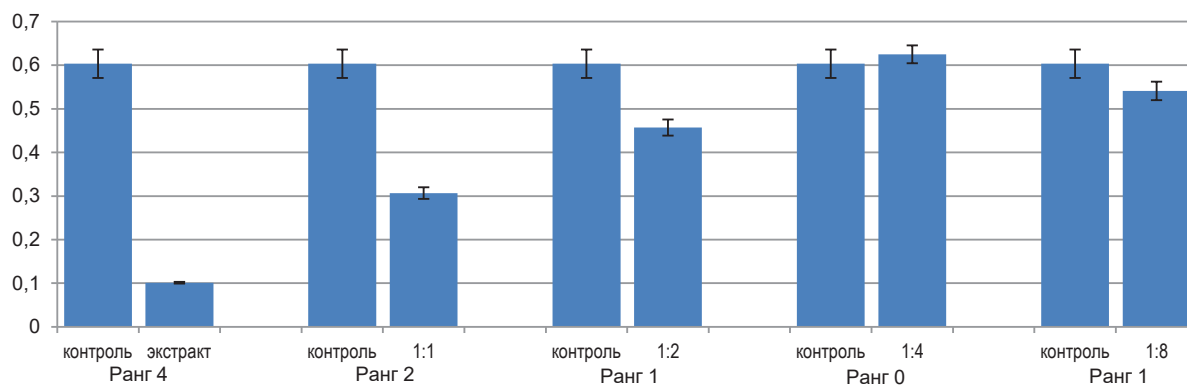


Рис. 10. Оптическая плотность экстракта, полученного из сополимера коллаген–поли-*N*-изопропилакриламид, синтезированного в присутствии системы триэтилбор–гексаметилендиамин – 2,5-ди-*трет*-бутил-*п*-бензохинон, и его разведений в соотношении с контролем (MTT-тест)

Fig. 10. Optical density of the extract obtained from the collagen–poly-*N*-isopropylacrylamide copolymer synthesized in the presence of the system triethylbor–hexamethylenediamine – 2,5-di-*трет*-butyl-*p*-benzoquinone and its dilutions in relation to the control (MTT assay)

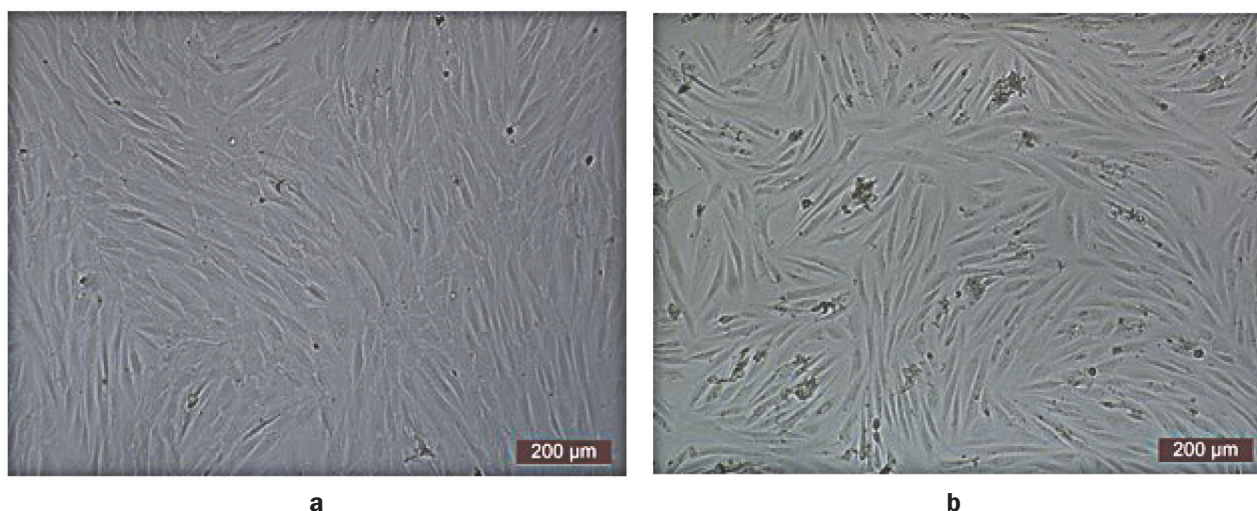


Рис. 11. Репрезентативные микрофотоснимки: а – контроль, среда без сополимера; б – с экстрактом сополимера коллаген–поли-*N*-изопропилакриламид, синтезированного в присутствии системы триэтилбор–гексаметилендиамин – 2,5-ди-*трет*-бутил-*п*-бензохинон, разведение экстракта 1:4

Fig. 11. Representative micrographs: a – control, medium without copolymer; b – with an extract of the collagen–poly-*N*-isopropylacrylamide copolymer synthesized in the presence of the system triethylbor–hexamethylenediamine – 2,5-di-*трет*-butyl-*p*-benzoquinone, dilution of the extract 1:4

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования выявлено, что привитая полимеризация АА на коллаген в присутствии комплекса ТЭБ с ГМДА и ряда *п*-хинонов приводит к образованию сополимеров сшитой структуры, эффективность прививки определяется строением мономера и *п*-хинона. Это подтверждается методом ГПХ. Замедление ферментативного гидролиза по сравнению с гидролизом чистого коллагена является доказательством существования стерических препятствий для его осуществления, то есть образованием сополимера. Во всех случаях *п*-хиноны ведут себя как замедлители

полимеризации, кроме БХ при полимеризации АА, где привитой ПАА отсутствует. Соплимеры проявляют высокую токсичность, обусловленную присутствием непрореагировавших мономеров. При разбавлении токсичность сополимеров коллагена и АА сохраняется, а сополимера коллагена и НИПА исчезает. Разработанная методика позволяет синтезировать сшитые сополимеры коллагена и АА, токсичность которых можно исключить путем разведения или экстракции. Все это позволяет в перспективе рассматривать полученные сополимеры в качестве материалов для регенеративной медицины.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Jagtap J.S., Labhade S.D., Chitlange S.S., Mahadevan S. Biopolymer conjugated protein based hydrogel scaffolds for tissue engineering application //

International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research. 2020. Vol. 17, no. 2. P. 284–316.

2. Kirillova A., Yeazel T.R., Asheghali D., Petersen S.R., Dort S., Gall K., et al. Fabrication of biomedical scaffolds using biodegradable polymers // *Chemical Reviews*. 2021. Vol. 121, no. 18. P. 11238–11304. DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c01200.
3. Wang Y., Wang Z., Dong Y. Collagen-based biomaterials for tissue engineering // *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2023. Vol. 9, no. 3. P. 132–1150. DOI: 10.1021/acsbomaterials.2c00730.
4. Dewle A., Pathak N., Rakshasmare P., Srivastava A. Multifarious fabrication approaches of producing aligned collagen scaffolds for tissue engineering applications // *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2020. Vol. 6, no. 2. P. 779–797. DOI: 10.1021/acsbomaterials.9b01225.
5. Sundar G., Joseph J., Prabhakumari C., John A., Abraham A. Natural collagen bioscaffolds for skin tissue engineering strategies in burns: a critical review // *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2021. Vol. 70, no. 9. P. 593–604. DOI: 10.1080/00914037.2020.1740991.
6. Subhan F., Hussain Z., Tauseef I., Shehzad A., Wahid F. A review on recent advances and applications of fish collagen // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021. Vol. 61, no. 6. P. 1027–1037. DOI: 10.1080/10408398.2020.1751585.
7. Lin K., Zhang D., Macedo M.H., Cui W., Sarmiento B., Shen G. Advanced collagen-based biomaterials for regenerative biomedicine // *Advanced Functional Materials*. 2019. Vol. 29, no. 3. P. 1804943. DOI: 10.1002/adfm.201804943.
8. Zheng M., Wang X., Chen Y., Yue O., Bai Z., Cui B., et al. A review of recent progress on collagen-based biomaterials // *Advanced Healthcare Materials*. 2023. Vol. 12, no. 16. P. 2202042. DOI: 10.1002/adhm.202202042.
9. Rico-Llanos G.A., Borrego-González S., Moncayo-Donoso M., Becerra J., Visser R. Collagen type I biomaterials as scaffolds for bone tissue engineering // *Polymers*. 2021. Vol. 13, no. 4. P. 599. DOI: 10.3390/polym13040599.
10. Vijayalekha A., Anandasadagopan S.K., Pandurangan A.K. An overview of collagen-based composite scaffold for bone tissue engineering // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2023. Vol. 195. P. 4617–4636. DOI: 10.1007/s12010-023-04318-y.
11. Shekhter A.B., Fayzullin A.L., Vukolova M.N., Rudenko T.G., Osipychcheva V.D., Litvitsky P.F. Medical applications of collagen and collagen-based materials // *Current Medicinal Chemistry*. 2019. Vol. 26, no. 3. P. 506–516. DOI: 10.2174/0929867325666171205170339.
12. Fassini D., Wilkie I.C., Pozzolini M., Ferrario C., Sugni M., Rocha M.S., et al. Diverse and productive source of biopolymer inspiration: marine collagens // *Biomacromolecules*. 2021. Vol. 22, no. 5. P. 1815–1834. DOI: 10.1021/acs.biomac.1c00013.
13. Rahman M.A. Collagen of extracellular matrix from marine invertebrates and its medical applications // *Marine Drugs*. 2019. Vol. 17, no. 2. P. 118. DOI: 10.3390/md17020118.
14. Coppola D., Oliviero M., Vitale G.A., Lauritano C., D'Ambra I., Iannace S., et al. Marine collagen from alternative and sustainable sources: extraction, processing and applications // *Marine Drugs*. 2020. Vol. 18, no. 4. P. 214. DOI: 10.3390/md18040214.
15. Jafari H., Lista A., Siekapen M.M., Ghaffari-Bohlouli P., Nie L., Alimoradi H., et al. Fish collagen: extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering // *Polymers*. 2020. Vol. 12, no. 10. P. 2230. DOI: 10.3390/polym12102230.
16. Rajabimashhadi Z., Gallo N., Salvatore L., Lionetto F. Collagen derived from fish industry waste: progresses and challenges // *Polymers*. 2023. Vol. 15, no. 3. P. 544. DOI: 10.3390/polym15030544.
17. Salvatore L., Gallo N., Natali M.L., Campa L., Lunetti P., Madaghiele M., et al. Marine collagen and its derivatives: versatile and sustainable bio-resources for healthcare // *Materials Science & Engineering C*. 2020. Vol. 113. P. 110963. DOI: 10.1016/j.msec.2020.110963.
18. Hu Y., Liu L., Gu Z., Dan W., Dan N., Yu X. Modification of collagen with a natural derived cross-linker, alginate dialdehyde // *Carbohydrate Polymers*. 2014. Vol. 102. P. 324–332. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.11.050.
19. Fathima N.N., Rao J.R., Nair B.U. Effect of UV irradiation on the physico-chemical properties of iron crosslinked collagen // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2011. Vol. 105, no. 3. P. 203–206. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2011.09.003.
20. Cao S., Li H., Li K., Lu J., Zhang L. A dense and strong bonding collagen film for carbon/carbon composites // *Applied Surface Science*. 2015. Vol. 347. P. 307–314. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.04.081.
21. Zeugolis D.I., Paul G.R., Attenburrow G. Cross-linking of extruded collagen fibers – a biomimetic three-dimensional scaffold for tissue engineering applications // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2009. Vol. 89A, no. 4. P. 895–908. DOI: 10.1002/jbm.a.32031.
22. Zhou X., Wang J., Fang W., Tao Y., Zhao T., Xia K., et al. Genipin cross-linked type II collagen/chondroitin sulfate composite hydrogel-like cell delivery system induces differentiation of adipose-derived stem cells and regenerates degenerated nucleus pulposus // *Acta Biomaterialia*. 2018. Vol. 71. P. 496–509. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.03.019.
23. Goodarzi H., Jadidi K., Pourmotabed S., Sharifi E., Aghamollaei H. Preparation and *in vitro* characterization of cross-linked collagen–gelatin hydrogel using EDC/NHS for corneal tissue engineering applications // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. Vol. 126. P. 620–632. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.125.
24. Mu C., Liu F., Cheng Q., Li H., Wu B., Zhang G., et al. Collagen cryogel cross-linked by dialdehyde starch // *Macromolecular Materials and Engineering*. 2010. Vol. 295, no. 2. P. 100–107. DOI: 10.1002/mame.200900292.
25. Chen Z.G., Wang P.W., Wei B., Mo X.M., Cui F.Z. Electrospun collagen–chitosan nanofiber: a biomimetic extracellular matrix for endothelial cell and smooth muscle cell // *Acta Biomaterialia*. 2010. Vol. 6, no. 2. P. 372–382. DOI: 10.1016/j.actbio.2009.07.024.
26. Kaur S., Jindal R. Synthesis of interpenetrating network hydrogel from (gum copal alcohols–collagen)–co–poly(acrylamide) and acrylic acid: Isotherms and kinetics study for removal of methylene blue dye from aqueous solution // *Materials Chemistry and Physics*. 2018. Vol. 220. P. 75–86. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2018.08.008.
27. Ding C., Zhang M., Ma M., Zheng J., Yang Q., Feng R. Thermal and pH dual-responsive hydrogels based on semi-interpenetrating network of poly(*N*-isopropylacryl-

amide) and collagen nanofibrils // *Polymer International*. 2019. Vol. 68, no. 8. P. 1468–1477. DOI: 10.1002/pi.5852.

28. Luneva O.V., Fateev A.D., Kashurin A.I., Uspenskaya M.V. Study of the properties of semi-interpenetrating networks based on acrylic hydrogel and collagen // *Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Химия*. 2022. Т. 15. N 3. С. 318–328. DOI: 10.17516/1998-2836-0295. EDN: DQGEBR.

29. Zhang M., Deng F., Tang L., Wu H., Ni Y., Chen L., et al. Super-ductile, injectable, fast self-healing collagen-based hydrogels with multi-responsive and accelerated wound-repair properties // *Chemical Engineering Journal*. 2021. Vol. 405. P. 126756. DOI: 10.1016/j.cej.2020.126756.

30. Ullah K., Khan S.A., Murtaza G., Sohail M., Azizullah, Manan A., et al. Gelatin-based hydrogels as potential biomaterials for colonic delivery of oxaliplatin // *International Journal of Pharmaceutics*. 2019. Vol. 556. P. 236–245. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.12.020.

31. Baek K., Clay N.E., Qin E.C., Sullivan K.M., Kim D.H., Kong H. *In situ* assembly of the collagen–polyacrylamide interpenetrating network hydrogel: Enabling decoupled control of stiffness and degree of swelling // *European Polymer Journal*. 2015. Vol. 72. P. 413–422. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2015.07.044.

32. Khanna N.D., Kaur I., Bhalla T.C., Gautam N. Effect of biodegradation on thermal and crystalline behavior of polypropylene–gelatin based copolymers // *Journal of Applied Polymer Science*. 2010. Vol. 118, no. 3. P. 1476–1488. DOI: 10.1002/app.32434.

33. Bas O., De-Juan-Pardo E.M., Chhaya M.P., Wunner F.M., Jeon J.E., Klein T.J., et al. Enhancing structural integrity of hydrogels by using highly organised melt electrospun fibre constructs // *European Polymer Journal*. 2015. Vol. 72. P. 451–463. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2015.07.034.

34. Fujisawa S., Kadoma Y. Tri-*n*-butylborane/watercomplex-mediated copolymerization of methyl methacrylate with proteinaceous materials and proteins: a review // *Polymers*. 2010. Vol. 2, no. 4. P. 575–595. DOI: 10.3390/polym2040575.

35. Okamura H., Sudo A., Endo T. Generation of radical species on polypropylene by alkylborane-oxygen system and its application to graft polymerization // *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*. 2009. Vol. 47, no. 22. P. 6163–6167. DOI: 10.1002/pola.23659.

36. Liu S., Zheng Z., Li M., Wang X. Effect of oxidation progress of tributylborane on the grafting of polyolefins // *Journal of Applied Polymer Science*. 2012. Vol. 125, no. 5. P. 3335–3344. DOI: 10.1002/app.34232.

37. Komabayashi T., Zhu Q., Eberhart R., Imai Y. Current status of direct pulp-capping materials for permanent teeth // *Dental Materials Journal*. 2016. Vol. 35, no. 1. P. 1–12. DOI: 10.4012/dmj.2015-013.

38. Sonnenschein M.F., Redwine O.D., Wendt B.L., Kastl P.E. Colloidal encapsulation of hydrolytically and oxidatively unstable organoborane catalysts and their use in waterborne acrylic polymerization // *Langmuir*. 2009. Vol. 25, no. 21. P. 12488–12494. DOI: 10.1021/la9017079.

39. Dodonov V.A., Starostina T.I. Radical bonding thermoplastics and materials with low surface energy using acrylate compositions // *Polymer Science, Series D*. 2018. Vol. 11. P. 60–66. DOI: 10.1134/S1995421218010069.

40. Wilson O.R., Borrelli D.J., Magenau A.J.D. Simple

and rapid adhesion of commodity polymer substrates under ambient conditions using complexed alkylboranes. *ACS Omega*. 2022. Vol. 7, no. 32. P. 28636–28645. DOI: 10.1021/acsomega.2c03740.

41. Kuznetsova Yu.L., Morozova E.A., Sustaeva K.S., Markin A.V., Mitin A.V., Baten'kin M.A., et al. Tributylborane in the synthesis of graft copolymers of collagen and polymethyl methacrylate // *Russian Chemical Bulletin*. 2022. Vol. 71. P. 389–398. DOI: 10.1007/s11172-022-3424-3.

42. Kuznetsova Yu.L., Sustaeva K.S., Mitin A.V., Zakharychev E.A., Egorikhina M.N., Chasova V.O., et al. Graft polymerization of acrylamide in an aqueous dispersion of collagen in the presence of tributylborane // *Polymers*. 2022. Vol. 14, no. 22. P. 4900. DOI: 10.3390/polym14224900.

43. Uromicheva M.A., Kuznetsova Y.L., Valetova N.B., Mitin A.V., Semenycheva L.L., Smirnova O.N. Synthesis of grafted polybutyl acrylate copolymer on fish collagen // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2021. Т. 11. N 1. С. 16–25. DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-1-16-25. EDN: IJBHH.

44. Semenycheva L., Chasova V.O., Pegeev N.L., Uromicheva M.A., Mitin A.V., Kuznetsova Yu.L., et al. Production of graft copolymers of cod collagen with butyl acrylate and vinyl butyl ether in the presence of triethylborane – prospects for use in regenerative medicine // *Polymers*. 2023. Vol. 15, no. 15. P. 3159. DOI: 10.3390/polym15153159.

45. Kuznetsova Yu.L., Gushchina K.S., Lobanova K.S., Chasova V.O., Egorikhina M.N., Grigoryeva A.O., et al. Scaffold chemical model based on collagen–methyl methacrylate graft copolymers // *Polymers*. 2023. Vol. 15, no. 12. P. 2618. DOI: 10.3390/polym15122618.

46. Kuznetsova Yu., Gushchina K., Sustaeva K., Mitin A., Egorikhina M., Chasova V., et al. Grafting of methyl methacrylate onto gelatin initiated by tri-butylborane–2,5-di-*tert*-butyl-*p*-benzoquinone system // *Polymers*. 2022. Vol. 14, no. 16. P. 3290. DOI: 10.3390/polym14163290.

47. Kuznetsova Yu.L., Morozova E.A., Vavilova A.S., Markin A.V., Smirnova O.N., Zakharycheva N.S., et al. Synthesis of biodegradable grafted copolymers of gelatin and polymethyl methacrylate // *Polymer Science, Series D*. 2020. Vol. 13. P. 453–459. DOI: 10.1134/S1995421220040115.

48. Kuznetsova Yu.L., Sustaeva K.S., Vavilova A.S., Markin A.V., Lyakaev D.V., Mitin A.V., et al. Tributylborane in the synthesis of graft-copolymers of gelatin and acrylamide // *Journal of Organometallic Chemistry*. 2020. Vol. 924. P. 121431. DOI: 10.1016/j.jorganchem.2020.121431.

49. Пат. № 2567171, Российская Федерация, МПК C08H 1/06, A23J 1/04. Способ получения искусной дисперсии высокомолекулярного рыбного коллагена / Л.А. Семенычева, М.В. Астанина, Ю.А. Кузнецова, Н.Б. Валетова, Е.В. Гераськина, О.А. Таранкова. Заявл. 06.10.2014; опубл. 10.11.2015. Бюл. № 31.

50. Simándi T.L., Tüdös F. Kinetics of radical polymerization–XLV. Steric effects in the radical reactivity of quinones // *European Polymer Journal*. 1985. Vol. 21, no. 10. P. 865–869. DOI: 10.1016/0014-3057(85)90165-X.

51. Nistor M.-T., Pamfil D., Schick C., Vasile C. Study of the heat-induced denaturation and water state of hybrid hydrogels based on collagen and poly(*N*-isopropyl acrylamide) in hydrated conditions // *Thermochimica Acta*. 2014. Vol. 589. P. 114–122. DOI: 10.1016/j.tca.2014.05.020.

52. Kalinina E.A., Vavilova A.S., Sustaeva K.S., Kuznetsova Yu.L. Polymerization of alkyl (meth)acrylates in the presence

of *p*-quinones // *Russian Chemical Bulletin*. 2021. Vol. 70. P. 1775–1783. DOI: 10.1007/s11172-021-3282-4.

53. Dodonov V.A., Kuznetsova Yu.L., Vilkova A.I., Skuchilina A.S., Nevodchikov V.I., Beloded L.N. Uncontrolled pseudoliving free-radical polymerization of methyl methacrylate in the presence of butyl-*p*-benzoquinones // *Russian Chemical Bulletin*. 2007. Vol. 56. P. 1162–1165. DOI: 10.1007/s11172-007-0176-z.

54. Semenycheva L.L., Egorikhina M.N., Chasova V.O.,

Valetova N.B., Podguzkova M.V., Astanina M.V., et al. Enzymatic hydrolysis of collagen by pancreatin and thrombin as a step in the formation of scaffolds // *Russian Chemical Bulletin*. 2020. Vol. 69. P. 164–168. DOI: 10.1007/s11172-020-2738-2.

55. Bender M.L., Bergeron R.J., Komiyama M. The bioorganic chemistry of enzymatic catalysis. New York. Wiley-Interscience, 1984. 312 p.

REFERENCES

1. Jagtap J.S., Labhade S.D., Chitlange S.S., Mahadevan S. Biopolymer conjugated protein based hydrogel scaffolds for tissue engineering application. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research*. 2020;17(2):284-316.

2. Kirillova A., Yeazel T.R., Asheghali D., Petersen S.R., Dort S., Gall K., et al. Fabrication of biomedical scaffolds using biodegradable polymers. *Chemical Reviews*. 2021;121(18):11238-11304. DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c01200.

3. Wang Y., Wang Z., Dong Y. Collagen-based biomaterials for tissue engineering. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2023;9(3):1132-1150. DOI: 10.1021/acsbmaterials.2c00730.

4. Dewle A., Pathak N., Rakshasmare P., Srivastava A. Multifarious fabrication approaches of producing aligned collagen scaffolds for tissue engineering applications. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2020;6(2):779-797. DOI: 10.1021/acsbmaterials.9b01225.

5. Sundar G., Joseph J., Prabhakumari C., John A., Abraham A. Natural collagen bioscaffolds for skin tissue engineering strategies in burns: a critical review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2021;70(9):593-604. DOI: 10.1080/00914037.2020.1740991.

6. Subhan F., Hussain Z., Tauseef I., Shehzad A., Wahid F. A review on recent advances and applications of fish collagen. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021;61(6):1027-1037. DOI: 10.1080/10408398.2020.1751585.

7. Lin K., Zhang D., Macedo M.H., Cui W., Sarmiento B., Shen G. Advanced collagen-based biomaterials for regenerative biomedicine. *Advanced Functional Materials*. 2019;29(3):1804943. DOI: 10.1002/adfm.201804943.

8. Zheng M., Wang X., Chen Y., Yue O., Bai Z., Cui B., et al. A review of recent progress on collagen-based biomaterials. *Advanced Healthcare Materials*. 2023;12(16):2202042. DOI: 10.1002/adhm.202202042.

9. Rico-Llanos G.A., Borrego-González S., Moncayo-Donoso M., Becerra J., Visser R. Collagen type I biomaterials as scaffolds for bone tissue engineering. *Polymers*. 2021;13(4):599. DOI: 10.3390/polym13040599.

10. Vijayalekha A., Anandasadagopan S.K., Pandurangan A.K. An overview of collagen-based composite scaffold for bone tissue engineering. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2023;195:4617-4636. DOI: 10.1007/s12010-023-04318-y.

11. Shekhter A.B., Fayzullin A.L., Vukolova M.N., Rudenko T.G., Osipycheva V.D., Litvitsky P.F. Medical applications of collagen and collagen-based materials. *Current Medicinal Chemistry*. 2019;26(3):506-516. DOI: 10.2174/0929867325666171205170339.

12. Fassini D., Wilkie I.C., Pozzolini M., Ferrario C., Sugni M., Rocha M.S., et al. Diverse and productive source of biopolymer inspiration: marine collagens. *Biomacromolecules*. 2021;22(5):1815-1834. DOI: 10.1021/acs.biomac.1c00013.

13. Rahman M.A. Collagen of extracellular matrix from marine invertebrates and its medical applications. *Marine Drugs*. 2019;17(2):118. DOI: 10.3390/md17020118.

14. Coppola D., Oliviero M., Vitale G.A., Lauritano C., D'Ambra I., Iannace S., et al. Marine collagen from alternative and sustainable sources: extraction, processing and applications. *Marine Drugs*. 2020;18(4):214. DOI: 10.3390/md18040214.

15. Jafari H., Lista A., Siekapen M.M., Ghaffari-Bohlouli P., Nie L., Alimoradi H., et al. Fish collagen: extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering. *Polymers*. 2020;12(10):2230. DOI: 10.3390/polym12102230.

16. Rajabimashhadi Z., Gallo N., Salvatore L., Lionetto F. Collagen derived from fish industry waste: progresses and challenges. *Polymers*. 2023;15(3):544. DOI: 10.3390/polym15030544.

17. Salvatore L., Gallo N., Natali M.L., Campa L., Lunetti P., Madaghiele M., et al. Marine collagen and its derivatives: versatile and sustainable bio-resources for healthcare. *Materials Science & Engineering C*. 2020;113:110963. DOI: 10.1016/j.msec.2020.110963.

18. Hu Y., Liu L., Gu Z., Dan W., Dan N., Yu X. Modification of collagen with a natural derived cross-linker, alginate dialdehyde. *Carbohydrate Polymers*. 2014;102:324-332. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.11.050.

19. Fathima N.N., Rao J.R., Nair B.U. Effect of UV irradiation on the physico-chemical properties of iron crosslinked collagen. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2011;105(3):203-206. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2011.09.003.

20. Cao S., Li H., Li K., Lu J., Zhang L. A dense and strong bonding collagen film for carbon/carbon composites. *Applied Surface Science*. 2015;347:307-314. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.04.081.

21. Zeugolis D.I., Paul G.R., Attenburrow G. Cross-linking of extruded collagen fibers – a biomimetic three-dimensional scaffold for tissue engineering applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2009;89A(4):895-908. DOI: 10.1002/jbm.a.32031.

22. Zhou X., Wang J., Fang W., Tao Y., Zhao T., Xia K., et al. Genipin cross-linked type II collagen/chondroitin sulfate composite hydrogel-like cell delivery system induces differentiation of adipose-derived stem cells and regenerates degenerated nucleus pulposus. *Acta Biomaterialia*. 2018;71:496-509. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.03.019.

23. Goodarzi H., Jadidi K., Pourmotabed S., Sharifi E., Aghamollaei H. Preparation and *in vitro* characterization

of cross-linked collagen–gelatin hydrogel using EDC/NHS for corneal tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;126:620-632. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.125.

24. Mu C., Liu F., Cheng Q., Li H., Wu B., Zhang G., et al. Collagen cryogel cross-linked by dialdehyde starch. *Macromolecular Materials and Engineering*. 2010;295(2):100-107. DOI: 10.1002/mame.200900292.

25. Chen Z.G., Wang P.W., Wei B., Mo X.M., Cui F.Z. Electrospun collagen–chitosan nanofiber: a biomimetic extracellular matrix for endothelial cell and smooth muscle cell. *Acta Biomaterialia*. 2010;6(2):372-382. DOI: 10.1016/j.actbio.2009.07.024.

26. Kaur S., Jindal R. Synthesis of interpenetrating network hydrogel from (gum copal alcohols-collagen)-copoly(acrylamide) and acrylic acid: Isotherms and kinetics study for removal of methylene blue dye from aqueous solution. *Materials Chemistry and Physics*. 2018;220:75-86. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2018.08.008.

27. Ding C., Zhang M., Ma M., Zheng J., Yang Q., Feng R. Thermal and pH dual-responsive hydrogels based on semi-interpenetrating network of poly(*N*-isopropylacrylamide) and collagen nanofibrils. *Polymer International*. 2019;68(8):1468-1477. DOI: 10.1002/pi.5852.

28. Luneva O.V., Fateev A.D., Kashurin A.I., Uspenskaya M.V. Study of the properties of semi-interpenetrating networks based on acrylic hydrogel and collagen. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2022;15(3):318-328. DOI: 10.17516/1998-2836-0295. EDN: DQGEBR.

29. Zhang M., Deng F., Tang L., Wu H., Ni Y., Chen L., et al. Super-ductile, injectable, fast self-healing collagen-based hydrogels with multi-responsive and accelerated wound-repair properties. *Chemical Engineering Journal*. 2021;405:126756. DOI: 10.1016/j.cej.2020.126756.

30. Ullah K., Khan S.A., Murtaza G., Sohail M., Azizullah, Manan A., et al. Gelatin-based hydrogels as potential biomaterials for colonic delivery of oxaliplatin. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;556:236-245. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.12.020.

31. Baek K., Clay N.E., Qin E.C., Sullivan K.M., Kim D.H., Kong H. *In situ* assembly of the collagen–polyacrylamide interpenetrating network hydrogel: Enabling decoupled control of stiffness and degree of swelling. *European Polymer Journal*. 2015;72:413-422. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2015.07.044.

32. Khanna N.D., Kaur I., Bhalla T.C., Gautam N. Effect of biodegradation on thermal and crystalline behavior of polypropylene–gelatin based copolymers. *Journal of Applied Polymer Science*. 2010;118(3):1476-1488. DOI: 10.1002/app.32434.

33. Bas O., De-Juan-Pardo E.M., Chhaya M.P., Wunner F.M., Jeon J.E., Klein T.J., et al. Enhancing structural integrity of hydrogels by using highly organised melt electrospun fibre constructs. *European Polymer Journal*. 2015;72:451-463. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2015.07.034.

34. Fujisawa S., Kadoma Y. Tri-*n*-butylborane/watercomplex-mediated copolymerization of methyl methacrylate with proteinaceous materials and proteins: a review. *Polymers*. 2010;2(4):575-595. DOI: 10.3390/polym2040575.

35. Okamura H., Sudo A., Endo T. Generation of radical species on polypropylene by alkylborane-oxygen system and its application to graft polymerization. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*. 2009;47(22):6163-

6167. DOI: 10.1002/pola.23659.

36. Liu S., Zheng Z., Li M., Wang X. Effect of oxidation progress of tributylborane on the grafting of polyolefins. *Journal of Applied Polymer Science*. 2012;125(5):3335-3344. DOI: 10.1002/app.34232.

37. Komabayashi T., Zhu Q., Eberhart R., Imai Y. Current status of direct pulp-capping materials for permanent teeth. *Dental Materials Journal*. 2016;35(1):1-12. DOI: 10.4012/dmj.2015-013.

38. Sonnenschein M.F., Redwine O.D., Wendt B.L., Kastl P.E. Colloidal encapsulation of hydrolytically and oxidatively unstable organoborane catalysts and their use in waterborne acrylic polymerization. *Langmuir*. 2009;25(21):12488-12494. DOI: 10.1021/la9017079.

39. Dodonov V.A., Starostina T.I. Radical bonding thermoplastics and materials with low surface energy using acrylate compositions. *Polymer Science, Series D*. 2018;11:60-66. DOI: 10.1134/S1995421218010069.

40. Wilson O.R., Borrelli D.J., Magenau A.J.D. Simple and rapid adhesion of commodity polymer substrates under ambient conditions using complexed alkylboranes. *ACS Omega*. 2022;7(32):28636-28645. DOI: 10.1021/acsomega.2c03740.

41. Kuznetsova Yu.L., Morozova E.A., Sustaeva K.S., Markin A.V., Mitin A.V., Baten'kin M.A., et al. Tributylborane in the synthesis of graft copolymers of collagen and polymethyl methacrylate. *Russian Chemical Bulletin*. 2022;71:389-398. DOI: 10.1007/s11172-022-3424-3.

42. Kuznetsova Yu.L., Sustaeva K.S., Mitin A.V., Zakharychev E.A., Egorikhina M.N., Chasova V.O., et al. Graft polymerization of acrylamide in an aqueous dispersion of collagen in the presence of tributylborane. *Polymers*. 2022;14(22):4900. DOI: 10.3390/polym14224900.

43. Uromicheva M.A., Kuznetsova Y.L., Valetova N.B., Mitin A.V., Semenycheva L.L., Smirnova O.N. Synthesis of grafted polybutyl acrylate copolymer on fish collagen. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(1):16-25. DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-1-16-25. EDN: IJBJHH.

44. Semenycheva L., Chasova V.O., Peguev N.L., Uromicheva M.A., Mitin A.V., Kuznetsova Yu.L., et al. Production of graft copolymers of cod collagen with butyl acrylate and vinyl butyl ether in the presence of triethylborane – prospects for use in regenerative medicine. *Polymers*. 2023;15(15):3159. DOI: 10.3390/polym15153159.

45. Kuznetsova Yu.L., Gushchina K.S., Lobanova K.S., Chasova V.O., Egorikhina M.N., Grigoryeva A.O., et al. Scaffold chemical model based on collagen–methyl methacrylate graft copolymers. *Polymers*. 2023;15(12):2618. DOI: 10.3390/polym15122618.

46. Kuznetsova Yu., Gushchina K., Sustaeva K., Mitin A., Egorikhina M., Chasova V., et al. Grafting of methyl methacrylate onto gelatin initiated by tri-butylborane–2,5-di-tert-butyl-*p*-benzoquinone system. *Polymers*. 2022;14(16):3290. DOI: 10.3390/polym14163290.

47. Kuznetsova Yu.L., Morozova E.A., Vavilova A.S., Markin A.V., Smirnova O.N., Zakharycheva N.S., et al. Synthesis of biodegradable grafted copolymers of gelatin and polymethyl methacrylate. *Polymer Science, Series D*. 2020;13:453-459. DOI: 10.1134/S1995421220040115.

48. Kuznetsova Yu.L., Sustaeva K.S., Vavilova A.S., Markin A.V., Lyakaev D.V., Mitin A.V., et al. Tributylborane in the synthesis of graft-copolymers of gelatin and acrylamide.

Journal of Organometallic Chemistry. 2020;924:121431. DOI: 10.1016/j.jorganchem.2020.121431.

49. Semenycheva L.L., Astanina M.V., Kuznetsova Yu.L., Valetova N.B., Geras'kina E.V., Tarankova O.A. *Method for production of acetic dispersion of high molecular fish collagen*. Patent RF, no. 2567171; 2015.

50. Simándi T.L., Tüdös F. Kinetics of radical polymerization-XLV. Steric effects in the radical reactivity of quinones. *European Polymer Journal*. 1985;21(10):865-869. DOI: 10.1016/0014-3057(85)90165-X.

51. Nistor M.-T., Pamfil D., Schick C., Vasile C. Study of the heat-induced denaturation and water state of hybrid hydrogels based on collagen and poly (*N*-isopropyl acrylamide) in hydrated conditions. *Thermochimica Acta*. 2014;589:114-122. DOI: 10.1016/j.tca.2014.05.020.

52. Kalinina E.A., Vavilova A.S., Sustaeва K.S., Kuznetsova Yu.L. Polymerization of alkyl (meth)acrylates

in the presence of *p*-quinones. *Russian Chemical Bulletin*. 2021;70:1775-1783. DOI: 10.1007/s11172-021-3282-4.

53. Dodonov V.A., Kuznetsova Yu.L., Vilkova A.I., Skuchilina A.S., Nevodchikov V.I., Beloded L.N. Uncontrolled pseudoliving free-radical polymerization of methyl methacrylate in the presence of butyl-*p*-benzoquinones. *Russian Chemical Bulletin*. 2007;56:1162-1165. DOI: 10.1007/s11172-007-0176-z.

54. Semenycheva L.L., Egorikhina M.N., Chasova V.O., Valetova N.B., Podguzkova M.V., Astanina M.V., et al. Enzymatic hydrolysis of collagen by pancreatin and thrombin as a step in the formation of scaffolds. *Russian Chemical Bulletin*. 2020;69:164-168. DOI: 10.1007/s11172-020-2738-2.

55. Bender M.L., Bergeron R.J., Komiyama M. *The bioorganic chemistry of enzymatic catalysis*. New York. Wiley-Interscience; 1984, 312 p.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кузнецова Юлия Леонидовна,

к.х.н., доцент, доцент,
Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
✉ kyul@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4151-9266>

Гущина Ксения Сергеевна,

аспирант, младший научный сотрудник,
Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
ksesha.gushchina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2745-251X>

Лобанова Карина Сергеевна,

аспирант, младший научный сотрудник,
Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
kariandrs2101@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1132-7212>

Румянцева Виктория Олеговна,

младший научный сотрудник,
Научно-исследовательский институт химии,
Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
11.04.96@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8038-8441>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Yulia L. Kuznetsova,

Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Associate Professor,
National Research Lobachevsky
State University of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022,
Russian Federation,
✉ kyul@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4151-9266>

Ksenya S. Gushchina,

Postgraduate Student, Junior Researcher,
National Research Lobachevsky
State University of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022,
Russian Federation,
ksesha.gushchina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2745-251X>

Karina S. Lobanova,

Postgraduate Student, Junior Researcher,
National Research Lobachevsky
State University of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022,
Russian Federation,
kariandrs2101@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1132-7212>

Victoria O. Rumyantseva,

Junior Researcher,
Research Institute of Chemistry,
National Research Lobachevsky
State University of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022,
Russian Federation,
11.04.96@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8038-8441>

Егорихина Марфа Николаевна,
к.б.н., заведующий научной лабораторией,
Научно-исследовательский институт
экспериментальной онкологии
и биомедицинских технологий,
Приволжский исследовательский
медицинский университет Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина
и Пожарского, 10/1, Российская Федерация,
egorihina.marfa@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8815-9651>

Фарафонтובה Екатерина Александровна,
лаборант,
Научно-исследовательский институт
экспериментальной онкологии
и биомедицинских технологий,
Приволжский исследовательский
медицинский университет Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина
и Пожарского, 10/1, Российская Федерация,
ekaterina_farafontova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7940-0880>

Рубцова Юлия Павловна,
к.б.н., научный сотрудник,
Научно-исследовательский институт
экспериментальной онкологии
и биомедицинских технологий,
Приволжский исследовательский
медицинский университет Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина
и Пожарского, 10/1, Российская Федерация,
rubincherry@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2781-6419>

Семенычева Людмила Леонидовна,
д.х.н., доцент, заведующий лабораторией,
Научно-исследовательский институт химии,
Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского,
603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23,
Российская Федерация,
lsem@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3413-2899>

Вклад авторов

Ю.Л. Кузнецова – концептуализация,
разработка методологии исследования,
научное руководство исследованием,
анализ и интерпретация данных,
написание и редактирование текста статьи.
К.С. Гущина – синтез сополимеров,
подготовка и написание черновика
рукописи, визуализация.
К.С. Лобанова – синтез сополимеров,
проведение ферментативного гидролиза
коллагеназой.

Marfa N. Egorikhina,
Cand. Sci. (Biology), Head
of the Scientific Laboratory,
Research Institute of Experimental Oncology
and Biomedical Technologies,
Privolzhsky Research Medical University,
10/1, Minin i Pozharsky Sq., Nizhny Novgorod,
603005, Russian Federation,
egorihina.marfa@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8815-9651>

Ekaterina A. Farafontova,
Laboratory Assistant,
Research Institute of Experimental Oncology
and Biomedical Technologies,
Privolzhsky Research Medical University,
10/1, Minin i Pozharsky Sq., Nizhny Novgorod,
603005, Russian Federation,
ekaterina_farafontova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7940-0880>

Yulia P. Rubtsova,
Cand. Sci. (Biology), Researcher,
Research Institute of Experimental Oncology
and Biomedical Technologies,
Privolzhsky Research Medical University,
10/1, Minin i Pozharsky Sq., Nizhny Novgorod,
603005, Russian Federation,
rubincherry@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2781-6419>

Luydmila L. Semenicheva,
Dr. Sci. (Chemistry), Associate Professor,
Head of the Laboratory,
Research Institute of Chemistry,
National Research Lobachevsky
State University of Nizhny Novgorod,
23, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022,
Russian Federation,
lsem@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3413-2899>

Contribution of the authors

Yulia L. Kuznetsova – conceptualization, research
methodology development, scientific supervision
of the study, data analysis and interpretation,
writing and editing the text of manuscript.
Ksenya S. Gushchina – copolymers synthesis,
preparing and writing a draft manuscript,
visualization.
Karina S. Lobanova – copolymers synthesis,
collagenase enzymatic hydrolysis.

В.О. Румянцева – проведение ферментативного гидролиза панкреатином, анализ методами гель-проникающей хроматографии и растровой электронной микроскопии.

М.Н. Егорихина – проведение и описание МТТ-теста, редактирование текста статьи.

Е.А. Фарафонтова – проведение и описание МТТ-теста.

Ю.П. Рубцова – проведение и описание МТТ-теста.

Л.Л. Семенычева – разработка методологии исследования, валидация данных, редактирование текста статьи.

Victoria O. Rumyantseva – pancreatin enzymatic hydrolysis, gel-penetrating chromatography, scanning electron microscopy.

Marfa N. Egorikhina – MTT assay, editing the manuscript.

Ekaterina A. Farafontova – MTT assay.

Yulia P. Rubtsova – MTT assay.

Luydmila L. Semenycheva – research methodology development, data validation, editing the manuscript.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Информация о статье

Поступила в редакцию 15.11.2023.

Одобрена после рецензирования 04.04.2024.

Принята к публикации 30.08.2024.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Information about the article

The article was submitted 15.11.2023.

Approved after reviewing 04.04.2024.

Accepted for publication 30.08.2024.