

Оригинальная статья

УДК 541.64+577.112.4

<https://doi.org/10.26907/2542-064X.2025.4.569-589>**Синтез и свойства гидрогелей на основе сополимеров
коллаген–пектин–метилметакрилат, синтезированных
в присутствии триэтилборана**

Ю.Л. Кузнецова¹, К.С. Гущина¹✉, В.В. Продаевич¹, М.Н. Егорихина², О.Н. Смирнова¹,
А.С. Вавилова¹, К.С. Губарева¹, И.Н. Чарыкова², Ю.П. Рубцова², Т.А. Ковылина³,
Л.Л. Семеничева¹

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
г. Нижний Новгород, Россия

²Приволжский исследовательский медицинский университет, г. Нижний Новгород, Россия

³Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева Российской академии наук,
г. Нижний Новгород, Россия

✉ ksesha.gushchina@gmail.com

Аннотация

Синтезированы сополимеры коллаген–пектин–метилметакрилат в уксуснокислой дисперсии в присутствии аминного комплекса триэтилбора. Установлено, что температура синтеза практически не влияет на состав сополимера, а его морфология претерпевает значительные изменения. Использование аминного комплекса в сочетании с *n*-хиноном в синтезе сополимеров коллаген–пектин–метилметакрилат позволяет варьировать состав сополимера, молекулярную массу привитого полиметилметакрилата и морфологию в зависимости от строения *n*-хинона. В присутствии глутарового альдегида сформированы гидрогели на основе синтезированных сополимеров, поглощающие свойства и устойчивость в буферных растворах которых позволяют считать их перспективной основой материалов для регенеративной медицины. С помощью МТТ-теста установлено, что полученные материалы не обладают цитотоксичностью и оказывают стимулирующий эффект на рост клеток дермальных фибробластов человека. Анализ биосовместимости показал, что гидрогели коллаген–пектин–метилметакрилат могут быть использованы в качестве грибоустойчивых бактерицидных материалов.

Ключевые слова: регенеративная медицина, гидрогель, коллаген, пектин, метилметакрилат, *n*-хинон, триэтилбор, цитотоксичность, поглощение.

Закключение Комитета по этике. Выполненные исследования соответствуют этическим принципам, сформулированным в Хельсинской декларации (1964 г.) для исследований с участием людей. Забор биоматериала и получение культуры клеток с последующим их использованием для исследований *in vitro* были одобрены местным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» (Нижний Новгород, Россия) (протокол № 09 от 30 июня 2023 г.). Культуры клеток, использованные в исследовании, получены в лаборатории биотехнологии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» и использованы только в лабораторных исследованиях.

Информированное согласие. Биологический материал отобран после получения письменного информированного согласия участников исследования.

Благодарности. Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского) и Центра коллективного пользования «Аналитический центр ИМХ РАН». Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (базовая часть госзадания, проект № FSWR-2023-0025).

Для цитирования: Кузнецова Ю.Л., Гущина К.С., Продаевич В.В., Егорихина М.Н., Смирнова О.Н., Вавилова А.С., Губарева К.С., Чарыкова И.Н., Рубцова Ю.П., Ковылина Т.А., Семенычева Л.Л. Синтез и свойства гидрогелей на основе сополимеров коллаген–пектин–метилметакрилат, синтезированных в присутствии триэтилборана // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2025. Т. 167, кн. 4. С. 569–589. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2025.4.569-589>.

Original article

<https://doi.org/10.26907/2542-064X.2025.4.569-589>

Synthesis and properties of hydrogels based on collagen–pectin–methyl methacrylate copolymers synthesized in the presence of triethylborane

Yu.L. Kuznetsova¹, K.S. Gushchina¹✉, V.V. Prodaevich¹, M.N. Egorikhina², O.N. Smirnova¹,
A.S. Vavilova¹, K.S. Gubareva¹, I.N. Charykova², Yu.P. Rubtsova², T.A. Kovylinina³,
L.L. Semenycheva¹

¹National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

²Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

³G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry of Russian Academy of Sciences,
Nizhny Novgorod, Russia

✉ ksesha.gushchina@gmail.com

Abstract

Collagen–pectin–methyl methacrylate copolymers were synthesized in an acetic acid dispersion in the presence of a triethylboron amine complex. The synthesis temperature was found to have little effect on the copolymer composition, while its morphology changed significantly. By using the amine complex in combination with *p*-quinone during the synthesis of collagen–pectin–methyl methacrylate copolymers, it was possible to vary the copolymer composition, the molecular weight of grafted polymethyl methacrylate, and the resulting morphology depending on the structure of the *p*-quinone used. Hydrogels based on the synthesized copolymers were formed in the presence of glutaric aldehyde. Their moisture-absorbing properties and stability in buffer solutions make them promising base materials for regenerative medicine. The absence of cytotoxicity and the stimulatory effect of the obtained materials on the growth of human dermal fibroblasts were demonstrated by the MTT assay. The analysis of biocidal activity indicates that collagen–pectin–methyl methacrylate hydrogels have a clear potential as fungus-resistant bactericidal materials.

Keywords: regenerative medicine, hydrogel, collagen, pectin, methyl methacrylate, *p*-quinone, triethylborane, cytotoxicity, moisture absorption

Institutional Review Board Statement. The studies were conducted in compliance with ethical regulations outlined in the Declaration of Helsinki (1964) for investigations involving humans. The extraction of biomaterial and the preparation of cell cultures for subsequent *in vitro* experiments were approved by the Ethics Committee of Privolzhsky Research Medical University (Nizhny Novgorod, Russia) (protocol no. 09 dated June 30, 2023). All cell cultures were obtained from the Laboratory of Biotechnology of Privolzhsky Research Medical University and used for laboratory research only.

Informed Consent Statement. Informed consent was obtained from all subjects involved in the study before the extraction of biomaterial.

Acknowledgments. The study was performed using the equipment of the Center for Collective Use “New Materials and Resource-Saving Technologies” (National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod) and the Center for Collective Use “Analytical Center of G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry of Russian Academy of Sciences”. Financial support was provided by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (basic part of the state assignment, project no. FSWR-2023-0025).

For citation: Kuznetsova Yu.L., Gushchina K.S., Prodaevich V.V., Egorikhina M.N., Smirnova O.N., Vavilova A.S., Gubareva K.S., Charykova I.N., Rubtsova Yu.P., Kovylina T.A., Semenycheva L.L. Synthesis and properties of hydrogels based on collagen–pectin–methyl methacrylate copolymers synthesized in the presence of triethylborane. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2025, vol. 167, no. 4, pp. 569–589. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2025.4.569-589>. (In Russian)

Введение

Гидрогели на основе природных полимеров являются перспективными материалами в качестве повязок для ран различной этиологии. Они способствуют заживлению поврежденных тканей, благодаря биосовместимости, биоразлагаемости, биологической активности, способности удерживать большое количество влаги, водо- и газопроницаемости, биомиметической структуре, способствующим адгезии, росту и пролиферации клеток [1–4]. Биополимеры природного происхождения чаще всего получают при переработке морепродуктов (коллаген, полисахариды и др.) или растительного сырья (пектин, изолят и др.) [5–8]. Биополимеры проявляют уникальные антиоксидантные, биоцидные, гемостатические свойства [9], которые подчеркивают важность их изучения как потенциальной альтернативы обычным материалам. Необходимым дополнительным этапом при формировании гидрогелей на основе природных полимеров является введение дополнительных модификаторов, позволяющих получить устойчивые трехмерные структуры [10–14].

Как показано ранее [15], представляют интерес сополимеры на основе коллагена, пектина и метилметакрилата (ММА), полученные в присутствии комплекса триэтилбора с гексаметилендиамином (ТЭБ-ГМДА) в уксуснокислой дисперсии, содержащей до 2.5 % природных полимеров. Соплимеры коллаген–пектин–ММА имеют сшитую структуру, формирование которой связано с образованием привитого сополимера двумя путями — «grafting from» и «grafting to». Такие полимеры перспективны для получения скаффолдов. Однако серьезным недостатком получения трехмерных структур в указанных условиях является разделение реакционной массы по окончании синтеза на две фазы: дисперсию и пену на поверхности. Цель настоящей работы состоит в получении однородных дисперсий сополимеров коллаген–пектин–ММА и устойчивых гидрогелей на их основе, а также анализ цитотоксичности

для оценки возможности использования таких гидрогелей в скаффолд-технологиях. Для достижения поставленной цели использованы два подхода: повышение исходной концентрации природных полимеров и введение *n*-хинонов совместно с борорганическими соединениями в состав реакционной смеси полимеризата, заметно влияющих на параметры процесса и конечного продукта, благодаря участию в стадиях полимеризации, как это показано в работе [16].

1. Материалы и методы

1.1. Материалы. Органические растворители и мономеры очищали по общепринятым методикам [17]. ММА квалификации ч.д.а. (Sigma Aldrich, США) отмывали от ингибитора 10 %-ным водным раствором щелочи, затем дистиллированной водой до нейтрального значения pH промывных вод, сушили сульфатом натрия и перегоняли при пониженном давлении, собирая фракцию с температурой 25 °C/2.93 кПа. Коллаген выделяли из кожи трески по запатентованной методике [18]. Пектин пищевой («С.Пудовъ», Россия), ТЭБ-ГМДА (АО «Авиабор», Россия) и 50 %-ный водный раствор глутарового альдегида (Русхим, Россия) использовали без предварительной очистки.

1.2. Синтез сополимеров. Для проведения синтеза использовали трехгорлую колбу, в которую на первом этапе помещали 30 мл 3 %-ной уксуснокислой дисперсии, содержащей 0.3–0.9 г коллагена и 0.3–0.9 г пектина, и нагревали на водяной бане до 60–70 °C или оставляли без нагрева в атмосфере аргона. По достижении заданной температуры добавляли комплекс ТЭБ-ГМДА при массовом соотношении борорганическое соединение/природные полимеры, равном 1 : 5 или 1 : 6, выдерживали 0.5 ч и добавляли мономер (0.6–1.8 г ММА или раствор *n*-хинона с концентрацией 0.0025 % мольн. в ММА). Реакционную смесь выдерживали еще 3 ч в атмосфере аргона при постоянном перемешивании. Для формирования гидрогелей добавляли 5 %-ный водный раствор глутарового альдегида.

1.3. Определение остаточного мономера. Количество остаточного мономера определяли бромированием по методу Кноппа [19]. Содержание мономера в % вычисляли по формуле:

$$X, \% = \frac{(a - b)M}{200m},$$

где *a* и *b* – объемы раствора Na₂S₂O₃, затраченного на титрование контрольной и анализируемой проб соответственно, мл; *M* – молярная масса ММА, г/моль; *m* – навеска образца сополимера, г.

На основе полученного значения рассчитывали массы непрореагировавшего мономера (*m*_{ост.м.}) и мономера, вошедшего в состав сополимера (*m*_{синт.ч.}):

$$m_{\text{ост.м.}} = \frac{X \times m_{\text{р.с.}}}{100},$$

$$m_{\text{синт.ч.}} = m_{\text{исх.м.}} - m_{\text{ост.м.}},$$

где *X* – содержание остаточного мономера в реакционной смеси, %; *m*_{р.с.} – масса реакционной смеси, г; *m*_{ост.м.} – масса непрореагировавшего мономера, г; *m*_{исх.м.} – начальная масса мономера, использованного в синтезе, г; *m*_{синт.ч.} – масса мономера, вошедшего в состав сополимера, г.

1.4. Определение содержания азота в сополимере определяли методом CHNS-анализа на элементном анализаторе Vario EL cube (Elementar GmbH, Германия).

1.5. Ферментативный гидролиз сополимеров ММА проводили с использованием коллагеназы и пектиназы. Образцы сополимеров предварительно высушивали. Затем к образцу добавляли коллагеназу (4 % от массы сополимера) и воду (10 мл на 0.1 г сополимера). Смесь выдерживали в течение 1 сут, затем добавляли пектиназу (4 % от массы сополимера) и инкубировали еще в течение суток, а затем отфильтровывали. Оставшийся на фильтре полиметилметакрилат (ПММА) растворяли в хлороформе и концентрировали при пониженном давлении.

1.6. Гель-проникающая хроматография. Определение молекулярно-массовых характеристик уксуснокислой дисперсии сополимеров проводили методом гель-проникающей хроматографии с использованием “Knauer Smartline” (Германия) системы с колонками Phenogel Phenomenex 5u (300×7.8 мм), средний диаметр пор 10^4 , 10^5 Å, и рефрактометрическим детектором. В качестве подвижной фазы использовали тетрагидрофуран при скорости потока 2 мл/мин. Температура составляла 40 °С. Для градуировки использованы полистирольные стандарты со значением молекулярных масс в диапазоне от 2700 до 2570000 Да.

1.7. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ). Изображения поверхности сополимеров после лиофильной сушки получали с помощью растрового электронного микроскопа JEOL JSM-IT300LV (Япония) в режиме низкого вакуума с разрешением 4.0 нм при ускоряющем напряжении 30 кВ и при увеличении от $5\times$ до $2000\times$ в пересчете на размер отпечатка 10×12 см.

1.8. Оценка влагопоглощения. Для анализа влагопоглощения гидрогелевые образцы сушили в вакууме до постоянной массы. Взвешенные образцы гидрогеля помещали в 2.5–5 мл дистиллированной воды и через определенные промежутки времени определяли массу поглощенной воды.

1.9. Оценка устойчивости. Для оценки устойчивости использовали гидрогелевые образцы без предварительного высушивания. Образец помещали в фосфатный буферный раствор с pH 6.8, 7.2 и 7.4, приготовленный из соответствующего стандарт-титра, через сутки извлекали, удаляли излишки влаги фильтровальной бумагой, взвешивали и снова помещали в раствор. Измерения массы проводили через каждые сутки в течение 28 дней.

1.10. МТТ-тест. Образцы гидрогелей предварительно отмывали от остаточных мономеров хлороформом в аппарате Сокслета, высушивали, вымачивали в буферном растворе с pH 7.3 (с контролем постоянства значения pH) в течение нескольких суток. Оценку цитотоксичности образцов гидрогелей проводили с помощью МТТ-теста согласно ГОСТ Р ИСО 10993-5:2009 [20]. Для получения экстракта испытываемые образцы помещали в ростовую среду ДМЕМ/F12 с добавлением антибиотиков и 2 %-ной телячьей эмбриональной сыворотки и инкубировали в CO_2 -инкубаторе в течение 24 ч. Одновременно с началом экстракции клетки тестовой культуры – дермальные фибробласты человека – высевали с концентрацией 100 тыс. кл/мл на лунки 96-луночного планшета в полной ростовой среде (среда ДМЕМ/F12 с добавлением антибиотиков пенициллин/стрептомицин, глутамина и 10 %-ной телячьей эмбриональной сыворотки) и культивировали в CO_2 -инкубаторе в течение 24 ч. Культуры были получены и охарактеризованы в лаборатории биотехнологий ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет». Метод получения культур подробно описан в работе [21]. Полученные экстракты разводили ростовой средой в соотношениях 1:1; 1:2; 1:4; 1:8. Затем экстракты и их разведения раскапывали на подготовленную тестовую культуру в плоскодонном 96-луночном планшете, по 8 лунок

каждый. Через 72 ч культивирования с экстрактами оценивали состояние культуры на поверхности опытных и контрольных лунок с помощью инвертированного микроскопа Leica DMI 3000 В с программным обеспечением LAS v. 4.3 (Leica Microsystems, Германия). Затем в каждую лунку вносили 20 мкл раствора 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид и снова помещали планшет в CO₂-инкубатор. Спустя 3 ч отбирали супернатант, замещали на равный объем раствора диметилсульфоксида и регистрировали оптическую плотность (A , отн. ед) при 540 нм на анализаторе INFINITI F50 (Tecan Austria GmbH, Австрия). Цитотоксичность суточного экстракта и его разведений в сравнении с контрольными образцами оценивали колориметрически по относительной интенсивности роста (OIP) клеток тестовой культуры.

$$OIP, \% = \frac{\bar{A}_{\text{в опытной серии}}}{\bar{A}_{\text{в контрольной серии}}} \times 100\%,$$

где $\bar{A}$ – средняя оптическая плотность.

Для оценки цитотоксичности были выделены следующие ранги: ранг 0 ($OIP = 100\%$) и ранг 1 ($OIP = 99\text{--}70\%$), соответствующие отсутствию цитотоксичности, ранг 2 ($OIP = 69\text{--}50\%$), ранг 3 ($OIP = 49\text{--}25\%$) и ранг 4–5 ($OIP = 24\text{--}0\%$), отвечающие легкой, средней и выраженной степеням цитотоксичности, соответственно.

1.11. Бактерицидную активность определяли по отношению к ассоциации тест-культур бактерий *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Bacillus subtilis*. Наличие бактерицидных свойств устанавливали по величине зоны ингибирования роста бактерий вокруг исследуемого объекта, помещенного на агаризованную среду МПА. Условия культивирования – термостатирование при 37 °С в течение 24 ч.

1.12. Грибостойкость. Испытания на грибостойкость проводили по ГОСТ 9.049-91 [22]. В качестве тест-культур использованы микроскопические грибы – активные деструкторы полимерных материалов: *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus oryzae*, *Chaetomium globosum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium cyclopium*, *Trichoderma viride*. Образцы испытуемого материала помещали в чашки Петри и инокулировали суспензией ассоциации спор тест-культур грибов, после чего помещали в термостат на 28 сут при температуре 29 ± 2 °С и влажности $\geq 90\%$. Материал считали грибостойким, если он получал оценку 0–1 балл.

2. Результаты и их обсуждение

Для реализации первого подхода, связанного с увеличением концентраций исходных веществ, в синтезе сополимеров использовали уксуснокислую дисперсию, содержащую 0.75 г коллагена, 0.75 г пектина, 1.5 г ММА и 0.25 г ТЭБ-ГМДА. Увеличение концентрации природных полимеров и мономера с 2.5 [15] до 5 % является достаточно эффективным для получения однородной дисперсии сополимера коллаген–пектин–ММА как при комнатной (СПЛ-1) (рис.1, а), так и при повышенной температуре синтеза (СПЛ-2) (рис.1, б). Для сопоставления важных для скаффолдов свойств гидрогелей с включенным синтетическим фрагментом ПММА получены образцы сополимера коллаген–пектин в присутствии ТЭБ-ГМДА, но без добавления ММА (СПЛ-3). Дисперсия сополимера коллаген–пектин при температуре синтеза 70 °С совершенно иного цвета (рис. 1, в).



Рис. 1. Фото дисперсий сополимеров СПЛ-1 (а), СПЛ-2 (б) и СПЛ-3 (в)

Fig. 1. Photos of copolymer dispersions SPL-1 (a), SPL-2 (b), and SPL-3 (c)

Влияние добавок на структуру и свойства сополимеров контролировали по физико-химическим характеристикам. Исследование содержания азота в полимерном продукте, выделенном из водной фазы синтеза, свидетельствует о том, что коллаген входит в состав сополимера, причем его содержание в сополимерах варьируется в зависимости от условий получения (рис. 2). Так, для сополимеров коллаген–пектин–ММА СПЛ-1 и СПЛ-2, отличающихся температурой синтеза, массовые доли азота и коллагена близки по значениям, но они практически в два раза ниже, чем для сополимера СПЛ-3, не содержащего ПММА, что вполне логично.

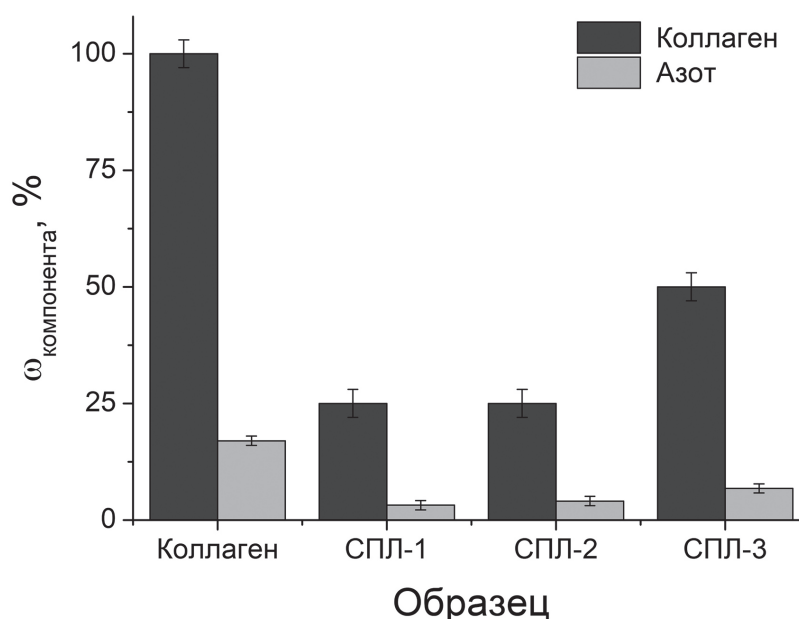


Рис. 2. Содержание азота и коллагена в образцах согласно данным элементного анализа

Fig. 2. Nitrogen and collagen content in the samples according to elemental analysis data

Интересная информация о морфологии лиофильно высушенных сополимеров получена с помощью СЭМ (рис. 3). Если для СПЛ-1, полученного при комнатной температуре, характерна ажурная морфология поверхности (рис. 3, в), которая ближе к таковой для пектина (рис. 3, б), то для СПЛ-2 (рис. 3, г) наблюдается волокнообразное строение поверхности, но с элементами в виде мелких ответвлений, характерных для пектина. Эти различия, вероятно, связаны с известными изменениями строения природных полимеров при повышении температуры. При этом размеры пор для СПЛ-1 (рис. 3, в) и СПЛ-2 (рис. 3, г) сопоставимы. Совершенно иная морфология у сополимера коллаген–пектин СПЛ-3 (рис. 3, д), который представляет собой хаотически сшитый образец с размером пор широкого диапазона.

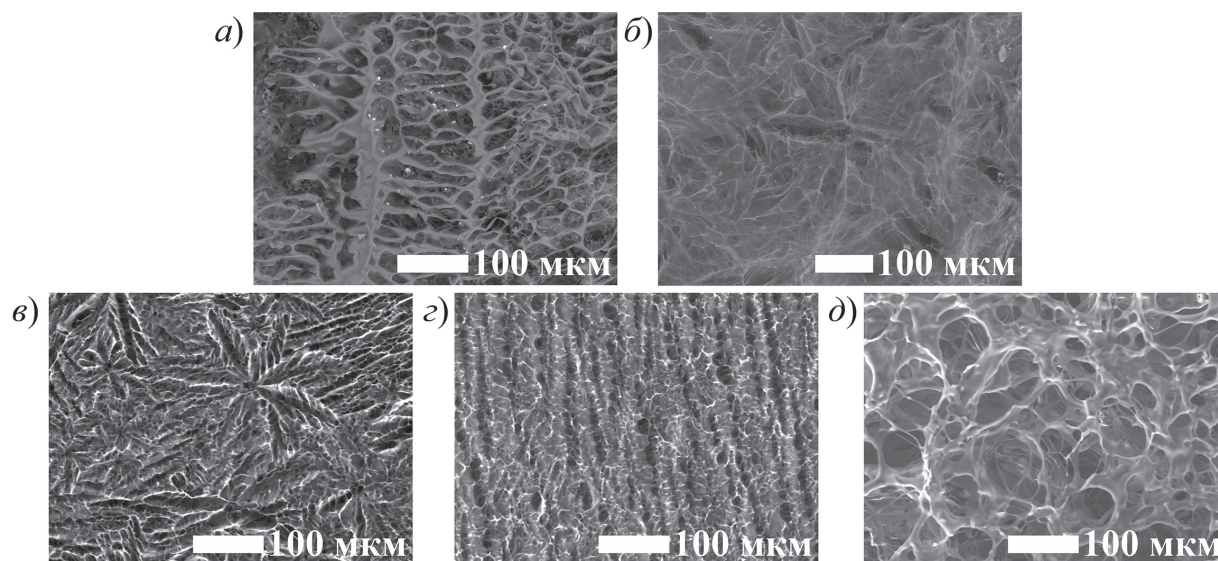
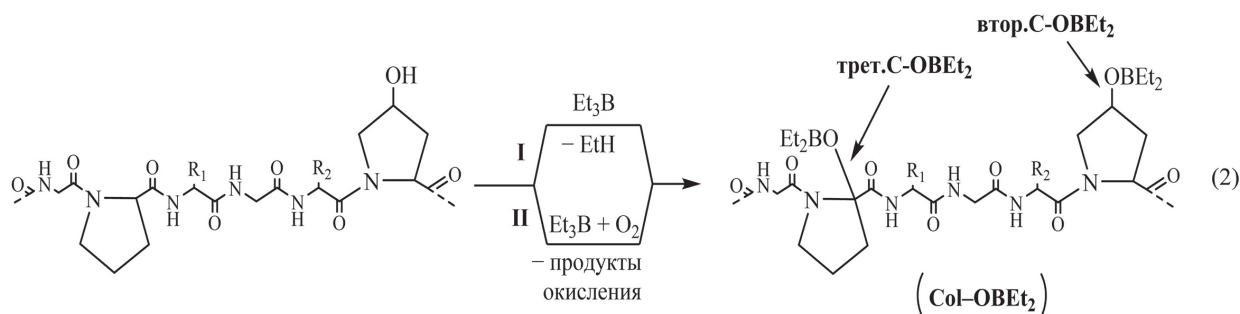


Рис. 3. СЭМ-изображения лиофильно высушенных образцов коллагена (а), пектина (б), сополимеров СПЛ-1 (в), СПЛ-2 (г), СПЛ-3 (д)

Fig. 3. SEM images of the freeze-dried samples of collagen (a), pectin (b), and copolymers SPL-1 (c), SPL-2 (d), and SPL-3 (e)

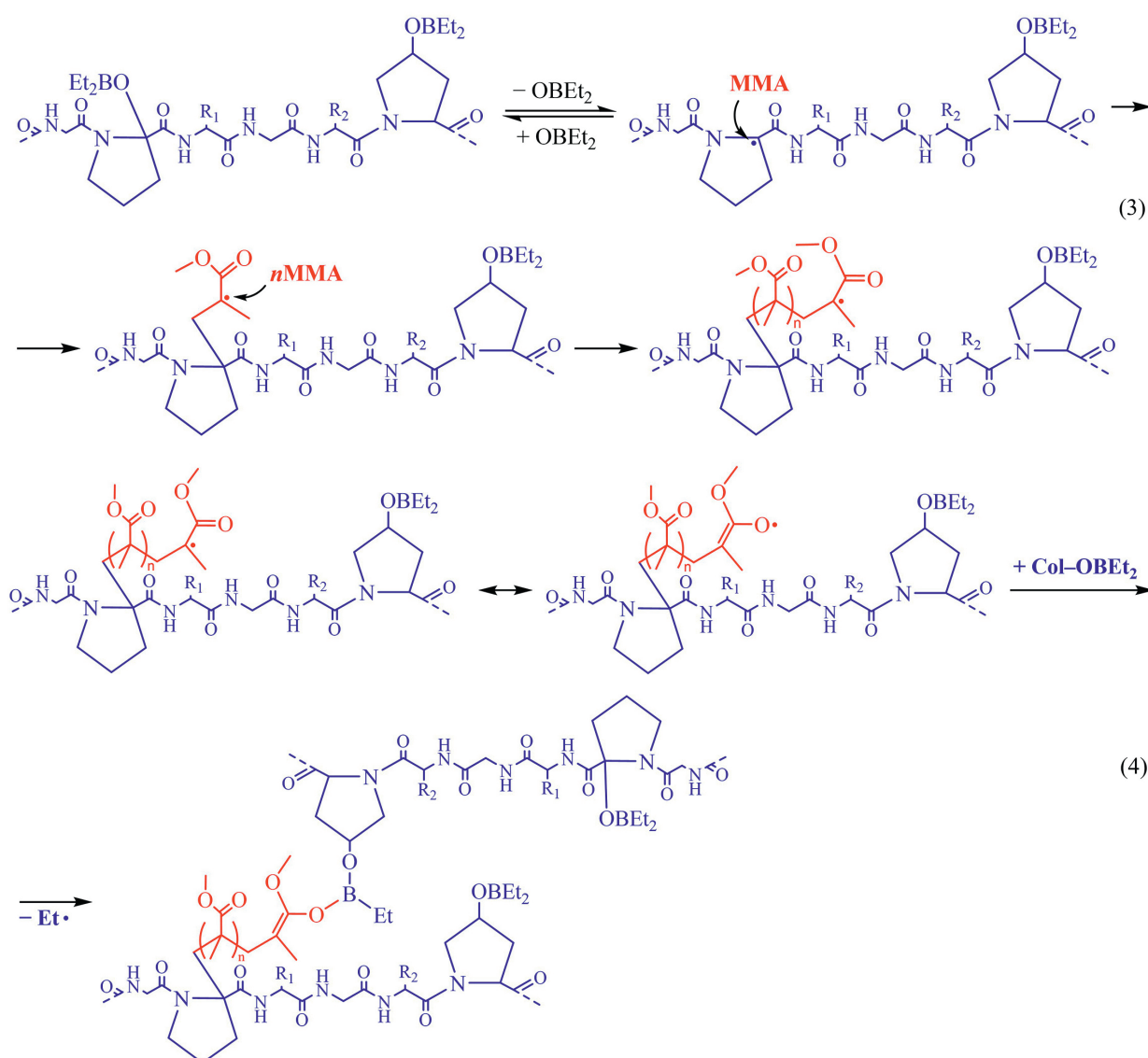
Введение *n*-хинонов совместно с борорганическими соединениями в состав реакционной смеси с акриловыми мономерами также позволило получить однородные дисперсии сополимера коллаген–пектин–ММА даже при концентрации природных полимеров 2–2.5 % [15]. Вероятно, это связано с тем, что хиноны способствуют снижению молекулярной массы акрилового фрагмента [16, 23, 24], поэтому в настоящем исследовании в синтезе сополимеров коллагена–пектина–ММА использованы *n*-хиноны различного строения: бензохинон (БХ), метил-бензохинон (МБХ), 2,6-диметокси-бензохинон (2,6-ДМОБХ), 2,5-ди-*трет*-бутил-бензохинон (2,5-ДТББХ) и дурохинон (ДХ). Предполагается следующая схема образования сополимера. При добавлении ТЭБ-ГМДА в уксуснокислую дисперсию высвобождается ТЭБ из комплекса (схема 1), который борирует коллаген (схема 2) или пектин.



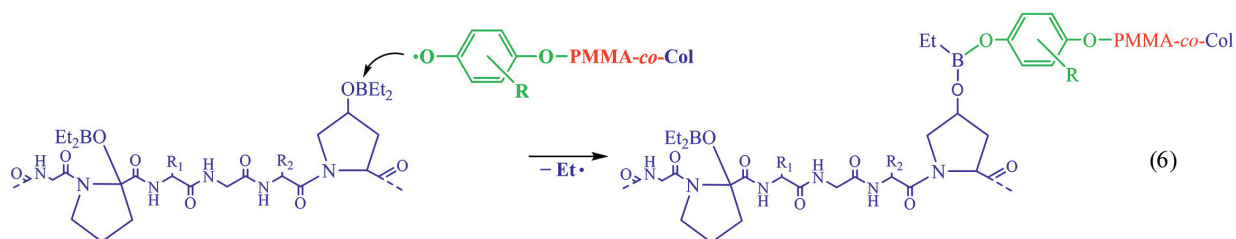
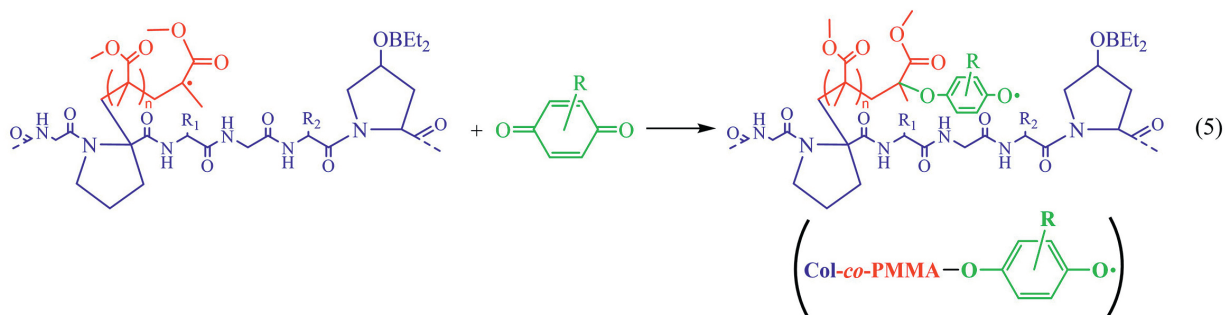
Борирование осуществляется за счет взаимодействия ТЭБ по гидроксильным группам природных полимеров (схема 2, направление I) по известной реакции, катализатором которой выступают карбоновые кислоты [25]. В этом случае группа OBt_2 располагается при вторичном атоме углерода. Поскольку невозможно полностью исключить присутствие кислорода в реакционной массе, и ввиду исключительной чувствительности борорганических соединений к кислороду, реализуется также и направление II (схема 2), которое связано

с окислением ТЭБ, приводящим к образованию радикалов $\text{Et}^\bullet$, $\text{EtO}^\bullet$, $\text{Et}_2\text{BO}^\bullet$ и др. [26]. Этоксид-радикалы отрывают атом водорода от третичного атома углерода природного полимера [27], а образующийся третичный макрорадикал рекомбинирует с боросильными радикалами. Подобные реакции подтверждены методом ЭПР-спектроскопии для гомополимеризации акриловых мономеров в присутствии системы алкилборан–кислород [28]. Фрагменты трет.С- OBEt_2 , образующиеся за счет направления II (схема 2), являются инициаторами привитой полимеризации (схема 3), а фрагменты втор.С- OBEt_2 , образующиеся за счет направления I (схема 2), выступают передатчиками цепи (схема 4), обрывающими материальную цепь.

Таким образом, борированный природный полимер позволяет осуществлять прививку синтетического полимера двумя путями: «grafting from» (схема 3) и «grafting to» (схема 4), что приводит к образованию сополимера сшитой структуры.



Введение в реакционную массу *n*-хинона добавляет стадию взаимодействия *n*-хинона с радикалом роста (схема 5) и последующее радикальное замещение на борированном природном полимере (схема 6).



Превращения с участием *n*-хинона позволяют регулировать молекулярную массу привитого ПММА в зависимости от строения *n*-хинона.

Для оценки влияния строения *n*-хинона на конверсию ММА и молекулярно-массовые характеристики привитого ПММА синтез сополимеров проводили при 60 °С в уксуснокислой дисперсии, содержащей 1 % коллагена и 1 % пектина (2 % природных полимеров), к которой прибавляли ТЭБ-ГМДА, а затем ММА с растворенным в нем *n*-хиноном. По окончании синтеза в реакционной колбе наблюдали бесцветную однородную дисперсию, более вязкую по сравнению с исходной дисперсией коллагена и пектина. Анализ конечных продуктов показал, что введение *n*-хинона снижает конверсию мономера (табл. 1) по сравнению с сополимерами коллагена и ММА, синтезированными без хинона [16]. Минимальная конверсия наблюдается в случае самого сильного ингибитора – БХ. Для остальных *n*-хинонов не прослеживается строго соответствия ингибирующего действия и конверсии.

Органическую часть из дисперсии после синтеза экстрагировали хлороформом. В хлороформенных вытяжках не был обнаружен гомополимер ПММА, следовательно, весь прореагировавший ММА входил в состав сополимера. Лиофильно высушенные сополимеры обрабатывали последовательно ферментами коллагеназой, а затем пектиназой для удаления фрагментов природных полимеров и анализировали оставшийся синтетический полимер. Как показал анализ ГПХ, введение *n*-хинонов в синтез сополимеров значительно снижает молекулярные массы привитого ПММА в сравнении с таковым без хинона (табл. 1), что обусловлено эффективной передачей цепи за счет системы алкилборан – *n*-хинон [29]. Снижение полидисперсности, вероятно, связано с протеканием контролируемой полимеризации, которая характерна для этой системы [30]. Результаты анализа синтетического фрагмента сополимеров показали, что молекулярно-массовые характеристики зависят и от строения использованного *n*-хинона. Так, в случае более сильных ингибиторов (БХ, МБХ и 2,6-ДМОБХ) молекулярные массы значительно ниже, а полидисперсность выше, чем в случае наиболее слабых ингибиторов (2,5-ДТББХ и ДХ). Это свидетельствует о том, что доля контролируемой полимеризации, видимо, в случае слабых ингибиторов выше, что согласуется с данными, полученными при изучении гомополимеризации ММА [31] и сополимеризации коллагена и ММА [16] в присутствии системы алкилборан–*n*-хинон.

Табл. 1. Конверсия ММА и молекулярно-массовые характеристики сополимеров коллаген–пектин–ММА, синтезированных из 0.12 г ТЭБ–ГМДА, 0.3 г коллагена, 0.3 г пектина, 0.6 г ММА и 0.0016 г БХ, 0.0025 г ДХ, 0.0033 г 2,5-ДТББХ, 0.0018 г МБХ или 0.0025 г 2,6-ДМОБХ (* – данные из работы [27])

Table 1. MMA conversion and molecular weight characteristics of collagen–pectin–MMA copolymers synthesized from 0.12 g TEB-HMDA, 0.3 g collagen, 0.3 g pectin, 0.6 g MMA, as well as 0.0016 g BQ, 0.0025 g DQ, 0.0033 g 2,5-DTBBQ, 0.0018 g MBQ, or 0.0025 g 2,6-DMOBQ (* – data from [27])

Хинон	Конверсия ММА, %	Молекулярно-массовые характеристики привитого ПММА		
		$M_n \times 10^{-3}$	$M_w \times 10^{-3}$	M_w/M_n
—*	100	214.0	570.0	2.7
БХ	87.2	2.5	4.7	1.9
МБХ	96.1	1.3	2.9	2.2
2,6-ДМОБХ	94.7	2.6	4.3	1.7
2,5-ДТББХ	98.2	67.0	110.0	1.6
ДХ	90.7	78.9	100.2	1.3

Морфология полученных лиофильно высушенных образцов сополимеров (рис. 4) отличается от морфологии исходных коллагена и пектина (рис. 3, а и б соответственно) и представляет собой сложную суперпозицию фрагментов полимеров, входящих в их состав. Очевидно, что природа хинона также оказывает влияние на морфологию поверхности, что демонстрирует рис. 4, а–д.

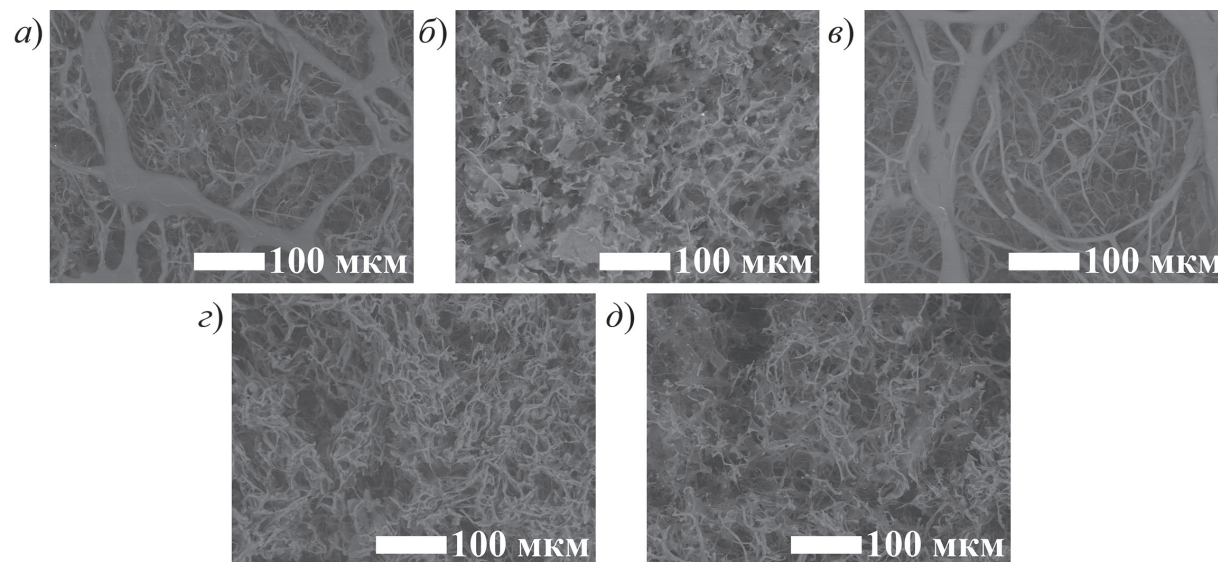


Рис. 4. СЭМ-изображения лиофильно высушенных образцов сополимеров коллаген–пектин–ММА, синтезированных в присутствии *p*-хинонов: БХ (а), МБХ (б), 2,6-ДМОБХ (в), 2,5-ДТББХ (г), ДХ (д)
Fig. 4. SEM images of the freeze-dried samples of collagen–pectin–MMA copolymers synthesized in the presence of *p*-quinones: BQ (a), MBQ (b), 2,6-DMOBQ (c), 2,5-DTBBQ (d), and DQ (e)

Таким образом, строение *p*-хинона не оказывает заметного влияния на конверсию мономера, а молекулярные массы синтетического фрагмента возможно контролировать за счет используемых *p*-хинонов.

Разработанные методики синтеза сополимеров были положены в основу создания материалов для регенеративной медицины. С целью повышения их структурной устойчивости в состав исходной смеси для получения гидрогелей вводили незначительные количества глутарового альдегида, являющегося эффективным сшивающим агентом для белков [32, 33]. Разработанная методика использована для синтеза гидрогелей коллаген–пектин (СПЛ-3Г), коллаген–пектин–ММА при комнатной температуре (СПЛ-1Г) и 70 °С (СПЛ-2Г), содержащих 5 % природных полимеров и 5 % ММА, а также с введением *n*-хинонов (БХГ, МБХГ, 2,6-ДМОБХГ, 2,5-ДТББХГ и ДХГ) при 60 °С в дисперсии, содержащей 6 % природных полимеров и 6 % ММА. Для всех образцов оценивали влагопоглощение и структурную устойчивость – параметры, необходимые для последующей оценки цитотоксичности. Влагопоглощение составляет ≥ 400 % от исходной массы сухого образца (рис. 5, а).

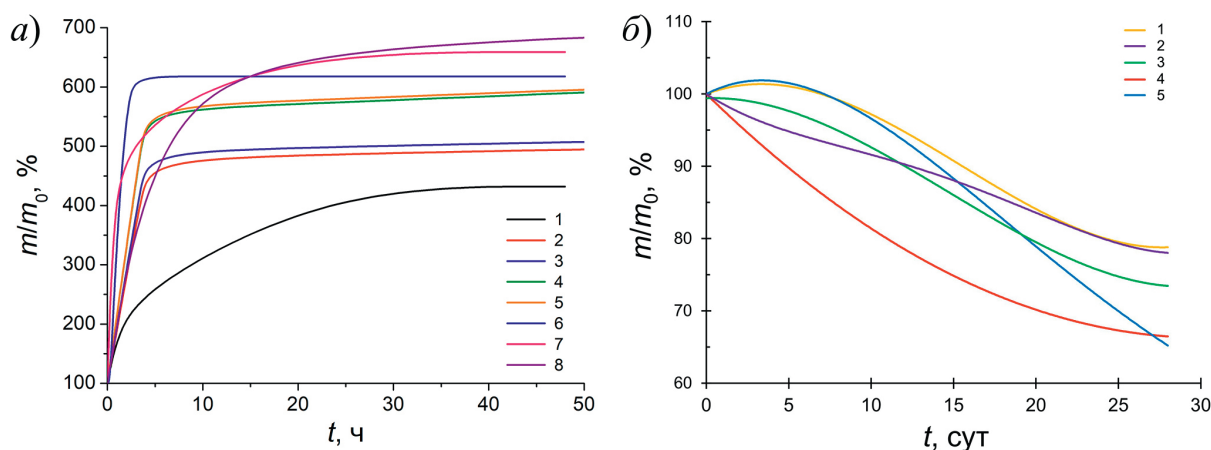


Рис. 5. Влагопоглощение лиофильно высушенных гидрогелей коллаген–пектин–ММА: СПЛ-1Г (1); 2,5-ДТББХГ (2); 2,6-ДМОБХГ (3); ДХГ (4); БХГ (5); СПЛ-2Г (6); СПЛ-3Г (7); МБХГ (8) (а) и устойчивость гидрогелей коллаген–пектин–ММА, содержащих БХГ (1), 2,5-ДТББХГ (2), ДХГ (3), МБХГ (4), 2,6-ДМОБХГ (5), в буферном растворе (m_0 – исходная масса гидрогеля, m – масса гидрогеля в момент времени) (б)

Fig. 5. Moisture absorption of freeze-dried collagen–pectin–MMA hydrogels: SPL-1G (1); 2,5-DTBBQG (2); 2,6-DMOBQG (3); DQG (4); BQG (5); SPL-2G (6); SPL-3G (7); MBQG (8) (a) and stability of collagen–pectin–MMA hydrogels containing BQG (1), 2,5-DTBBQG (2), DQG (3), MBQG (4), 2,6-DMOBQG (5) in buffer solution (m_0 is the initial mass of hydrogel, m is the mass of hydrogel at certain time point) (b)

Наилучшее влагопоглощение демонстрирует гидрогель, полученный при добавлении в реакционную смесь МБХГ. Такой результат, вероятно, обусловлен самой низкой молекулярной массой привитого гидрофобного ПММА (табл. 1). Все образцы успешно прошли испытания на структурную устойчивость при центрифугировании образцов в течение 30 мин при комнатной температуре в буферных растворах с pH 6.8 и 7.2 путем визуальной оценки целостности формы образцов по методике [34].

Поскольку стабильность гидрогелей как материалов для регенерации ткани является одним из ключевых свойств, оценено изменение массы сополимеров с хинонами в буферном растворе с pH 7.4 в течение 30 сут (рис. 5, б). Потеря массы составляет 30 % от исходной массы гидрогеля для МБХГ и 2,6-ДМОБХГ и 40 % для остальных образцов с *n*-хинонами. Наименьшая устойчивость наблюдается у образца МБХГ. Разрушение образцов связано, видимо, с вымыванием части природных полимеров.

Оценены биомедицинские характеристики (цитотоксичность и грибоустойчивость) образца СПЛ-2Г, поскольку, с одной стороны, остатки борсодержащего инициатора могут быть при-

чиной токсичности гидрогелей, а с другой стороны, могут оказывать подавляющее действие на рост плесневых грибов и бактерий. Установлено, что цитотоксичность образца СПЛ-2Г (суточный экстракт и его разведения) соответствуют рангу 0–1 (табл. 2). Следует отметить, что при разведениях экстракта 1 : 2 – 1 : 8 наблюдается незначительная стимуляция роста клеток, о чем свидетельствует повышение *ОИР* в ~1.2 раза по сравнению с контрольным опытом. Это может быть обусловлено известным в биологии эффектом малых доз, заключающемся в различном характере воздействия малой дозы и концентрата вещества на биологические объекты.

Табл. 2. Цитотоксичность суточного экстракта образца СПЛ-2Г и его разведений относительно клеток дермальных фибробластов человека

Table 2. Cytotoxicity of the one-day extract of sample SPL-2G and its dilutions in relation to human dermal fibroblasts

Серия ($n = 8$)	A , отн. ед.	<i>ОИР</i> , %	Уровень цитотоксичности
Контроль	0.54 ± 0.01	100	0
Экстракт	$0.418 \pm 0.006^*$	77	1
Экстракт 1 : 1	0.544 ± 0.005	100	0
Экстракт 1 : 2	$0.64 \pm 0.02^*$	117	0
Экстракт 1 : 4	$0.64 \pm 0.02^*$	118	0
Экстракт 1 : 8	$0.65 \pm 0.02^*$	119	0

* $p < 0.05$ критерий Вилкоксона

Микроскопические исследования демонстрируют наличие на поверхности пластика во всех лунках плотного монослоя, сформированного веретеновидными клетками с выраженными отростками и четкими контурами (рис. 6). Микроскопическая картина согласуется с результатами колориметрического анализа.

Биоцидная активность пленочных материалов обеспечивает безопасность их использования, так как предотвращает размножение бактерий на материале. Грибостойкость полимерной пленки отражает устойчивость материала к биоповреждениям, то есть способность сопротивляться воздействию грибов-деструкторов, которые используют материал в качестве источника питания. Однако при наличии внешних загрязнений, поддерживающих рост грибов-деструкторов, продукты жизнедеятельности микромицетов способны оказывать негативное, разрушающее воздействие на материал. Результаты испытаний показали, что образцы СПЛ-2Г проявляют бактерицидность по отношению к ассоциации тест-культур *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, зона ингибирования роста которых составляет 18 мм. Установлены грибостойкие свойства гидрогелей СПЛ-2Г. Рост грибов на всех вариантах образцов не обнаружен, то есть оценка роста составляет 0 баллов. Таким образом, разработанные составы гидрогелей могут быть использованы в качестве грибостойких и бактерицидных материалов.

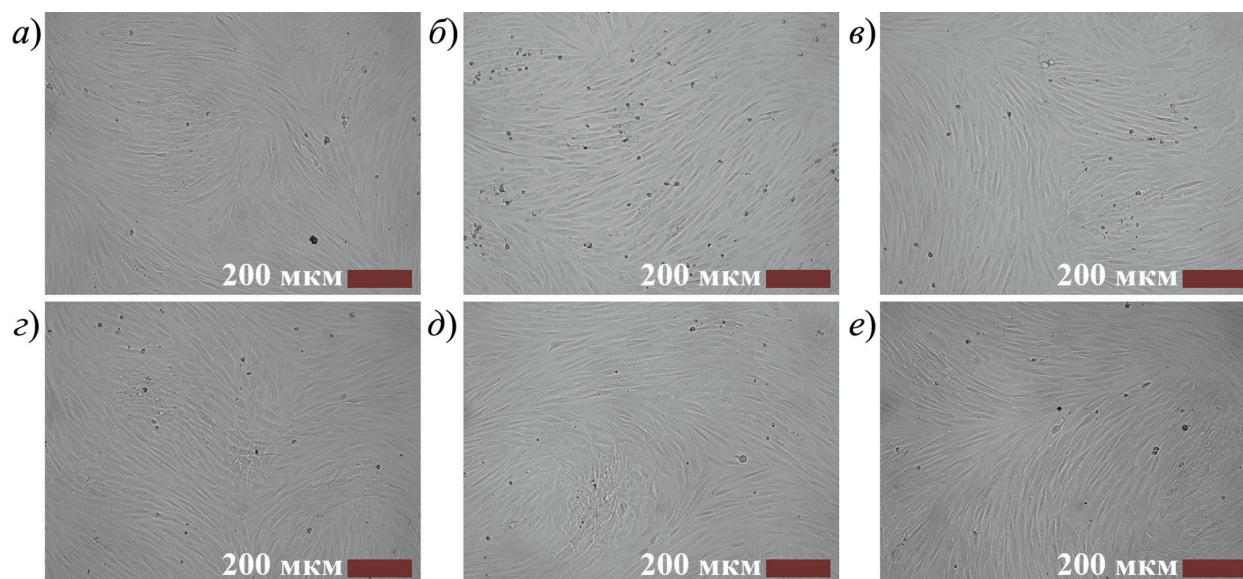


Рис. 6. Состояние культуры дермальных фибробластов человека после культивирования с суточным экстрактом образца СПЛ-2Г: контрольный опыт (а), экстракт (б) и разведения 1 : 1 (в), 1 : 2 (г), 1 : 4 (д), 1 : 8 (е)

Fig. 6. Condition of the cell culture of human dermal fibroblasts after cultivation with the one-day extract of sample SPL-2G: control (a), extract (b), and dilutions 1 : 1 (c), 1 : 2 (d), 1 : 4 (e), and 1 : 8 (f)

Заключение

Разработаны условия получения однородных гидрогелей на основе сополимеров коллаген–пектин–ММА с использованием двух подходов: повышения исходной концентрации природных полимеров и введения *n*-хинонов совместно с борорганическими соединениями в состав реакционной смеси полимеризата, заметно влияющих на параметры процесса и свойства конечного продукта, благодаря участию в стадиях полимеризации. Проведен анализ их физико-химических свойств (молекулярно-массовые параметры, морфология, состав и структура). Новые гидрогели обладают рядом необходимых и востребованных характеристик, в частности, отсутствием цитотоксичности, биоцидными свойствами, что позволяет рассматривать их как перспективные материалы для использования в скаффолд-технологиях.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of Interest. The authors declare no conflicts of interest.

Литература

1. Liu L., Fan X., Lu Q., Wang P., Wang X., Han Y., Wang R., Zhang C., Han S., Tsuboi T., Dai H., Yeow J., Geng H. Antimicrobial research of carbohydrate polymer- and protein-based hydrogels as reservoirs for the generation of reactive oxygen species: A review // *Int. J. Biol. Macromol.* 2024. V. 260, Pt. 1. Art. 129251. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129251>.
2. Zhang R., Liu X., Zhang W., Cui B., Du Y., Huang Y., Li W., Liu Q., Ren C., Tang Z. A review of polysaccharide-based hydrogels: From structural modification to biomedical applications // *Int. J. Biol. Macromol.* 2025. V. 310, Pt. 4. Art. 143519. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.143519>.
3. Guo Y., Zhao C., Yan C., Cui L. Construction of cellulose/carboxymethyl chitosan hydrogels for potential wound dressing application // *Cellulose.* 2021. V. 28, No 15. P. 10013–10023. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04149-2>.

4. Huang W., Wang Y., Huang Z., Wang X., Chen L., Zhang Y., Zhang L. On-demand dissolvable self-healing hydrogel based on carboxymethyl chitosan and cellulose nanocrystal for deep partial thickness burn wound healing // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2018. V. 10, No 48. P. 41076–41088. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b14526>.
5. Espinales C., Romero-Peña M., Calderón G., Vergara K., Cáceres P.J., Castillo P. Collagen, protein hydrolysates and chitin from by-products of fish and shellfish: An overview // *Heliyon*. 2023. V. 9, No 4. Art. e14937. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14937>.
6. Ozogul F., Cagali M., Šimat V., Ozogul Y., Tkaczewska J., Hassoun A., Kaddour A.A., Kuley E., Rathod N.B., Phadke G.G. Recent developments in valorisation of bioactive ingredients in discard/seafood processing by-products // *Trends Food Sci. Technol.* 2021. V. 116. P. 559–582. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.007>.
7. Siddiqui S.A., Rahmadhia S.N., Nair S., Sabu S., Ahmad A., Sasidharan A. Unlocking the extraction potential of bionanomaterials from aquatic sources and byproducts – a comprehensive review // *Process Saf. Environ. Prot.* 2024. V. 191, Pt. A. P. 959–982. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2024.08.035>.
8. Wang M., Cheng Y., Li X., Nian L., Yuan B., Cheng S., Wang S., Cao C. Effects of microgels fabricated by microfluidic on the stability, antioxidant, and immunoenhancing activities of aquatic protein // *J. Future Foods*. 2025. V. 5, No 1. P. 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2024.01.005>.
9. Mehvari F., Ramezanzade V., An J., Kim J., Dinari M., Kim J.S. Biopolymer-based hydrogels for biomedical applications: Bioactivity and wound healing properties // *Coord. Chem. Rev.* 2024. V. 518. Art. 216093. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2024.216093>.
10. Alsalhi A. Applications of selected polysaccharides and proteins in dentistry: A review // *Int. J. Biol. Macromol.* 2024. V. 260, Pt. 1. Art. 129215. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129215>.
11. Alqahtani N.F. Functionalized imidazolium ionic liquids-modified chitosan materials: From synthesis approaches to applications // *React. Funct. Polym.* 2024. V. 194. Art. 105779. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2023.105779>.
12. Yang R., Xia C., Mei C., Li J. Integration of biopolymers in polyacrylic acid hydrogels: Innovations and applications in bioresources and bioproducts // *J. Bioresour. Bioprod.* 2025. V. 10, No 2. P. 145–169. <https://doi.org/10.1016/j.jobab.2024.12.005>.
13. Hou X., Lin L., Li K., Jiang F., Qiao D., Zhang B., Xie F. Towards superior biopolymer gels by enabling interpenetrating network structures: A review on types, applications, and gelation strategies // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2024. V. 325. Art. 103113. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103113>.
14. Patel D.K., Jung E., Priya S., Won S.-Y., Han S.S. Recent advances in biopolymer-based hydrogels and their potential biomedical applications // *Carbohydr. Polym.* 2024. V. 323. Art. 121408. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121408>.
15. Кузнецова Ю.Л., Лобанова К.С., Гущина К.С., Ведерникова Н.В., Румянцева В.О., Митин А.В., Хмелевский К.П., Вавилова А.С., Семеньева Л.Л. Особенности формирования 3D-структур для регенеративной медицины на основе коллагена, пектина и акриловых мономеров в присутствии комплекса триэтилбора с гексаметилендиаминном // *Все материалы: Энциклоп. справ.* 2024. Вып. 10. С. 17–26.
16. Kuznetsova Y.L., Gushchina K.S., Lobanova K.S., Chasova V.O., Egorikhina M.N., Grigoreva A.O., Malysheva Y.B., Kuzmina D.A., Farafontova E.A., Linkova D.D., Rubtsova Y.P., Semenicheva L.L. Scaffold chemical model based on collagen–methyl methacrylate graft copolymers // *Polymers*. 2023. V. 15, No 12. Art. 2618. <https://doi.org/10.3390/polym15122618>.
17. Armarego W.L.F., Chai C.L.L. Purification of Laboratory Chemicals. 7th ed. Waltham, MA: Butterworth-Heinemann, 2013. 1024 p.
18. Семеньева Л.Л., Астанина М.В., Кузнецова Ю.Л., Валетова Н.Б., Гераськина Е.В., Таранкова О.А. Способ получения укусной дисперсии высокомолекулярного рыбного коллагена // Патент РФ на изобретение № 2567171. 2015. Бюл. ФИПС № 31.
19. Морозов Л.А. Методы анализа акрилатов и метакрилатов. М.: Химия, 1972. 232 с.

20. ГОСТ Р ИСО 10993-5:2009. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*. М.: Стандартинформ, 2010. 10 с.
21. Egorikhina M.N., Kobyakova I.I., Charykova I.N., Linkova D.D., Rubtsova Y.P., Farafontova E.A., Aleynik D.Ya. Application of hydrogel wound dressings in cell therapy—approaches to assessment *in vitro* // *Int. J. Burns Trauma*. 2023. V. 13, No 2. P. 13–32.
22. ГОСТ 9.049-91. Единая система защиты от коррозии и старения. Материалы полимерные и их компоненты. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов. М.: Издательство стандартов, 1992. 14 с.
23. Kuznetsova Y., Gushchina K., Sustaeva K., Mitin A., Egorikhina M., Chasova V., Semenycheva L. Grafting of methyl methacrylate onto gelatin initiated by tri-butylborane–2,5-di-tert-butyl-*p*-benzoquinone system // *Polymers*. 2022. V. 14, No 16. Art. 3290. <https://doi.org/10.3390/polym14163290>.
24. Кузнецова Ю.Л., Гущина К.С., Лобанова К.С., Румянцев В.О., Егорихина М.Н., Фарафонтова Е.А., Рубцова Ю.П., Семенычева Л.Л. Синтез привитых сополимеров трескового коллагена и акриламидов в присутствии системы алкилборан – *n*-хинон // *Изв. Вузов. Прикл. хим. биотехнол.* 2024. Т. 14, Вып. 3. С. 305–321. <https://doi.org/10.21285/achb.938>.
25. Köster R., Amen K.-L., Dahlhoff W.V. Borverbindungen, XXX. O-Dialkylborylierungen von sacchariden und polyolen // *Justus Liebigs Ann. Chem.* 1975. Bd. 1975, H. 4. S. 752–788. <https://doi.org/10.1002/jlac.197519750417>.
26. Allies P.G., Brindley P.B. Mechanism of autoxidation of trialkylboranes // *J. Chem. Soc., B*. 1969. P. 1126–1131. <https://doi.org/10.1039/J29690001126>.
27. Liu S., Zheng Z., Li M., Wang X. Effect of oxidation progress of tributylborane on the grafting of polyolefins // *J. Appl. Polym. Sci.* 2012. V. 125, No 5. P. 3335–3344. <https://doi.org/10.1002/app.34232>.
28. Заремский М.Ю., Одинцова В.В., Плуталова А.В., Гурский М.Е., Бубнов Ю.Н. Реакции инициирования и реинициирования полимеризации под действием систем органоборан-кислород // *Высокомолекуляр. соедин. Сер. Б*. 2018. Т. 60, Вып. 2. С. 123–133. <https://doi.org/10.7868/S230811391802002X>.
29. Додонов В.А., Кузнецова Ю.Л., Вилкова А.И., Скучилина А.С., Неводчиков В.И., Белодед Л.Н. Неконтролируемая псевдоживая радикальная полимеризация метилметакрилата в присутствии бутилзамещенных *n*-хинонов // *Изв. АН. Сер. хим.* 2007. Вып. 6. С. 1119–1122.
30. Додонов В. А., Кузнецова Ю.Л., Лопатин М.А., Скатова А.А. Взаимодействие поли(метилметакрилат)-радикалов с некоторыми *n*-хинонами в присутствии три-*n*-бутилбора при полимеризации метилметакрилата // *Изв. АН. Сер. хим.* 2004. Вып. 10. С. 2114–2119.
31. Кузнецова Ю.Л., Чесноков С.А., Зайцев С.Д., Додонов В.А. Фотополимеризация метилметакрилата в присутствии системы три-*n*-бутилбор – *n*-хинон // *Высокомолекуляр. соедин. Сер. Б*. 2010. Т. 52, вып. 3. С. 498–505.
32. Pegoretti A., Dong Y., Slouf M. Biodegradable matrices and composites // *Front. Mater.* 2020. V. 7. Art. 265. <https://doi.org/10.3389/fmats.2020.00265>.
33. Perez-Puyana V., Jiménez-Rosado M., Romero A., Guerrero A. Crosslinking of hybrid scaffolds produced from collagen and chitosan // *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. V. 139. P. 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.198>.
34. Муравьев И.А. Биофармацевтические основы технологии лекарств и их использование в деятельности аптечных учреждений ГАПУ МЗ СССР. Пятигорск: ПФИ, 1983. 42 с.

References

1. Liu L., Fan X., Lu Q., Wang P., Wang X., Han Y., Wang R., Zhang C., Han S., Tsuboi T., Dai H., Yeow J., Geng H. Antimicrobial research of carbohydrate polymer- and protein-based hydrogels as reservoirs for the generation of reactive oxygen species: A review. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2024, vol. 260, pt. 1, art. 129251. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129251>.

2. Zhang R., Liu X., Zhang W., Cui B., Du Y., Huang Y., Li W., Liu Q., Ren C., Tang Z. A review of polysaccharide-based hydrogels: From structural modification to biomedical applications. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2025, vol. 310, pt. 4, art. 143519. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.143519>.
3. Guo Y., Zhao C., Yan C., Cui L. Construction of cellulose/carboxymethyl chitosan hydrogels for potential wound dressing application. *Cellulose*, 2021, vol. 28, no. 15, pp. 10013–10023. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04149-2>.
4. Huang W., Wang Y., Huang Z., Wang X., Chen L., Zhang Y., Zhang L. On-demand dissolvable self-healing hydrogel based on carboxymethyl chitosan and cellulose nanocrystal for deep partial thickness burn wound healing. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2018, vol. 10, no. 48, pp. 41076–41088. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b14526>.
5. Espinales C., Romero-Peña M., Calderón G., Vergara K., Cáceres P.J., Castillo P. Collagen, protein hydrolysates and chitin from by-products of fish and shellfish: An overview. *Heliyon*, 2023, vol. 9, no. 4, art. e14937. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14937>.
6. Ozogul F., Cagalj M., Šimat V., Ozogul Y., Tkaczewska J., Hassoun A., Kaddour A.A., Kuley E., Rathod N.B., Phadke G.G. Recent developments in valorisation of bioactive ingredients in discard/seafood processing by-products. *Trends Food Sci. Technol.*, 2021, vol. 116, pp. 559–582. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.007>.
7. Siddiqui S.A., Rahmadhia S.N., Nair S., Sabu S., Ahmad A., Sasidharan A. Unlocking the extraction potential of bionanomaterials from aquatic sources and byproducts – a comprehensive review. *Process Saf. Environ. Prot.*, 2024, vol. 191, pt. A, pp. 959–982. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2024.08.035>.
8. Wang M., Cheng Y., Li X., Nian L., Yuan B., Cheng S., Wang S., Cao C. Effects of microgels fabricated by microfluidic on the stability, antioxidant, and immunoenhancing activities of aquatic protein. *J. Future Foods*, 2025, vol. 5, no. 1, pp. 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2024.01.005>.
9. Mehvari F., Ramezanzade V., An J., Kim J., Dinari M., Kim J.S. Biopolymer-based hydrogels for biomedical applications: Bioactivity and wound healing properties. *Coord. Chem. Rev.*, 2024, vol. 518, art. 216093. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2024.216093>.
10. Alsalmi A. Applications of selected polysaccharides and proteins in dentistry: A review. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2024, vol. 260, pt. 1, art. 129215. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129215>.
11. Alqahtani N.F. Functionalized imidazolium ionic liquids-modified chitosan materials: From synthesis approaches to applications. *React. Funct. Polym.*, 2024, vol. 194, art. 105779. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2023.105779>.
12. Yang R., Xia C., Mei C., Li J. Integration of biopolymers in polyacrylic acid hydrogels: Innovations and applications in bioresources and bioproducts. *J. Bioresour. Bioprod.*, 2025, vol. 10, no. 2, pp. 145–169. <https://doi.org/10.1016/j.jobab.2024.12.005>.
13. Hou X., Lin L., Li K., Jiang F., Qiao D., Zhang B., Xie F. Towards superior biopolymer gels by enabling interpenetrating network structures: A review on types, applications, and gelation strategies. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2024, vol. 325, art. 103113. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103113>.
14. Patel D.K., Jung E., Priya S., Won S.-Y., Han S.S. Recent advances in biopolymer-based hydrogels and their potential biomedical applications. *Carbohydr. Polym.*, 2024, vol. 323, art. 121408. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121408>.
15. Kuznetsova Yu.L., Lobanova K.S., Gushchina K.S., Vedernikova N.V., Rumyantseva V.O., Mitin A.V., Khmelevskiy K.P., Vavilova A.S., Semenycheva L.L. Peculiarities of formation of 3D structures for regenerative medicine based on collagen, pectin, and acrylic monomers in the presence of a triethylboron complex with hexamethylenediamine. *Polym. Sci., Ser. D.*, 2025, vol. 18, no. 1, pp. 190–197. <https://doi.org/10.1134/S1995421224702101>.
16. Kuznetsova Y.L., Gushchina K.S., Lobanova K.S., Chasova V.O., Egorikhina M.N., Grigoreva A.O., Malysheva Y.B., Kuzmina D.A., Farafontova E.A., Linkova D.D., Rubtsova Y.P., Semenycheva L.L.

- Scaffold chemical model based on collagen–methyl methacrylate graft copolymers. *Polymers*, 2023, vol. 15, no. 12, art. 2618. <https://doi.org/10.3390/polym15122618>.
17. Armarego W.L.F., Chai C.L.L. *Purification of Laboratory Chemicals*. 7th ed. Waltham, MA, Butterworth-Heinemann, 2013. 1024 p.
 18. Semenycheva L.L., Astanina M.V., Kuznetsova Y.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. *Byull. FIPS*, 2015, no. 31. (In Russian)
 19. Morozov L.A. *Metody analiza akrilatov i metakrilatov* [Methods for Analysis of Acrylates and Methacrylates]. Moscow, Khimiya, 1972. 232 p. (In Russian)
 20. State Standard R ISO 10993-5:2009. Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for *in vitro* cytotoxicity. Moscow, Standartinform, 2010. 10 p. (In Russian)
 21. Egorikhina M.N., Kobyakova I.I., Charykova I.N., Linkova D.D., Rubtsova Y.P., Farafontova E.A., Aleynik D.Ya. Application of hydrogel wound dressings in cell therapy—approaches to assessment *in vitro*. *Int. J. Burns Trauma*, 2023, vol. 13, no. 2, pp. 13–32.
 22. State Standard 9.049-91. Unified system of corrosion and ageing protection. Polymer materials and their components. Methods of laboratory tests for mould resistance. Moscow, Izd. Stand., 1992. 14 p. (In Russian)
 23. Kuznetsova Y., Gushchina K., Sustaeva K., Mitin A., Egorikhina M., Chasova V., Semenycheva L. Grafting of methyl methacrylate onto gelatin initiated by tri-butylborane–2,5-di-tert-butyl-*p*-benzoquinone system. *Polymers*, 2022, vol. 14, no. 16, art. 3290. <https://doi.org/10.3390/polym14163290>.
 24. Kuznetsova Yu.L., Gushchina K.S., Lobanova K.S., Rumyantseva V.O., Egorikhina M.N., Farafontova E.A., Rubtsova Yu.P., Semenycheva L.L. Synthesis of grafted copolymers of cod collagen and acrylamides in the presence of alkylborane – *p*-quinone system. *Proc. Univ. Appl. Chem. Biotechnol.*, 2024, vol. 14, no. 3, pp. 305–321. <https://doi.org/10.21285/achb.938>. (In Russian)
 25. Köster R., Amen K.-L., Dahlhoff W.V. Borverbindungen, XXX. O-Dialkylborylierungen von sacchariden und polyolen. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 1975, Bd. 1975, H. 4, S. 752–788. <https://doi.org/10.1002/jlac.197519750417>.
 26. Allies P.G., Brindley P.B. Mechanism of autoxidation of trialkylboranes. *J. Chem. Soc., B*, 1969, pp. 1126–1131. <https://doi.org/10.1039/J29690001126>.
 27. Liu S., Zheng Z., Li M., Wang X. Effect of oxidation progress of tributylborane on the grafting of polyolefins. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2012, vol. 125, no. 5, pp. 3335–3344. <https://doi.org/10.1002/app.34232>.
 28. Zaremskii M.Yu., Odintsova V.V., Plutalova A.V., Gurskii M.E., Bubnov Yu.N. Reactions of initiation and reinitiation in polymerization mediated by organoborane–oxygen systems. *Polym. Sci., Ser. B*, 2018, vol. 60, no. 2, pp. 162–171. <https://doi.org/10.1134/S1560090418020082>.
 29. 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 // *Russ. Chem. Bull.*, 2007, vol. 56, no. 6, pp. 1162–1165. <https://doi.org/10.1007/s11172-007-0176-z>.
 30. Dodonov V.A., Kuznetsova Yu.L., Lopatin M.A., Skatova A.A. Reactions of poly(methyl methacrylate) radicals with some *p*-quinones in the presence of tri-*n*-butylboron in methyl methacrylate polymerization. *Russ. Chem. Bull.*, 2004, vol. 53, no. 10, pp. 2209–2214. <https://doi.org/10.1007/s11172-005-0101-2>.
 31. Kuznetsova Yu.L., Chesnokov S.A., Zaitsev S.D., Dodonov V.A. Photopolymerization of methyl methacrylate in the presence of the tri-*n*-butyl boron–*p*-quinone system. *Polym. Sci., Ser. B*, 2010, vol. 52, nos. 3–4, pp. 129–135. <https://doi.org/10.1134/S1560090410030024>.
 32. Pegoretti A., Dong Y., Slouf M. Biodegradable matrices and composites. *Front. Mater.*, 2020, vol. 7, art. 265. <https://doi.org/10.3389/fmats.2020.00265>.

33. Perez-Puyana V., Jiménez-Rosado M., Romero A., Guerrero A. Crosslinking of hybrid scaffolds produced from collagen and chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019, vol. 139, pp. 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.198>.
34. Murav'ev I.A. *Biofarmatsevticheskie osnovy tekhnologii lekarstv i ikh ispol'zovanie v deyatel'nosti apteknykh uchrezhdenii GAPU MZ SSSR* [Biopharmaceutical Principles of Drug Technology and Their Use in the Work of Pharmacy Institutions of the Chief Pharmacy Directorate of the Ministry of Health of the USSR]. Pyatigorsk, PFI, 1983. 42 p. (In Russian)

Информация об авторах

Юлия Леонидовна Кузнецова, кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры органической химии химического факультета, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

E-mail: kyul@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4151-9266>

Ксения Сергеевна Гущина, младший научный сотрудник кафедры органической химии химического факультета, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

E-mail: kshesha.gushchina@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2745-251X>

Вероника Владимировна Продаевич, аспирант кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

E-mail: prodaevitchnika@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-8814-5828>

Марфа Николаевна Егорихина, кандидат биологических наук, заведующий научной лабораторией клеточных технологий, Приволжский исследовательский медицинский университет

E-mail: egorihina.marfa@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8815-9651>

Ольга Николаевна Смирнова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологического анализа отдела химико-биологических исследований научно-исследовательского института химии, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

E-mail: biodeg@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1811-8993>

Анна Сергеевна Вавилова, кандидат химических наук, научный сотрудник кафедры органической химии химического факультета, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

E-mail: nyutabuzina@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3602-6523>

Кристина Сергеевна Губарева, студент кафедры органической химии химического факультета, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

E-mail: krisztina.gubareva@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-7392-9394>

Ирина Николаевна Чарыкова, биолог лаборатории биотехнологий Университетской клиники, Приволжский исследовательский медицинский университет

E-mail: irina-ch0709@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0866-7857>

Юлия Павловна Рубцова, кандидат биологических наук, научный сотрудник научной лаборатории клеточных технологий, Приволжский исследовательский медицинский университет

E-mail: rubincherry@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2781-6419>

Татьяна Александровна Ковылина, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории физико-химических исследований, Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева Российской академии наук

E-mail: gluhova@iomc.ras.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9031-0314>

Людмила Леонидовна Семенычева, доктор химических наук, старший научный сотрудник, заведующий научно-исследовательской лабораторией нефтехимии научно-исследовательского института химии, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

E-mail: llsem@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3413-2899>

Author Information

Yulia L. Kuznetsova, Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

E-mail: kyul@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4151-9266>

Ksenia S. Gushchina, Junior Researcher, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

E-mail: ksesha.gushchina@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2745-251X>

Veronika V. Prodaevich, Postgraduate Student, Department of High Molecular Compounds, Faculty of Chemistry, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

E-mail: prodaevitchnika@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-8814-5828>

Marfa N. Egorikhina, Cand. Sci. (Biology), Head of Scientific Laboratory of Cell Technologies, Privolzhsky Research Medical University

E-mail: egorikhina.marfa@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8815-9651>

Olga N. Smirnova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Microbiological Analysis, Department of Chemical and Biological Research, Research Institute of Chemistry, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

E-mail: biodeg@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1811-8993>

Anna S. Vavilova, Cand. Sci. (Chemistry), Researcher, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

E-mail: nyutabuzina@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3602-6523>

Kristina S. Gubareva, Student, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

E-mail: kristina.gubareva@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-7392-9394>

Irina N. Charykova, Biologist, Biotechnology Laboratory, University Clinic, Privolzhsky Research Medical University

E-mail: irina-ch0709@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0866-7857>

Yulia P. Rubtsova, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Scientific Laboratory of Cell Technologies, Privolzhsky Research Medical University

E-mail: rubincherry@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2781-6419>

Tatyana A. Kovylna, Cand. Sci. (Chemistry), Senior Researcher, Laboratory of Physico-Chemical Research, G.A. Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry of Russian Academy of Sciences

E-mail: gluhova@iomc.ras.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9031-0314>

Lyudmila L. Semenycheva, Dr. Sci. (Chemistry), Senior Researcher, Head of Petrochemical Research Laboratory, Research Institute of Chemistry, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod

E-mail: llsem@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3413-2899>

Поступила в редакцию 25.06.2025

Принята к публикации 21.08.2025

Received June 25, 2025

Accepted August 21, 2025