

ПОЛУЧЕНИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЕМОСОРБЕНТА НА ОСНОВЕ ФИБРОИНА КОКОНОВ ШЕЛКОПРЯДА *Bombyx mori*

© А. А. Сарымсаков, С. С. Ярмагов, Х. Э. Юнусов*

Институт химии и физики полимеров АН Республики Узбекистан,
700128, Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадыри, д. 76

* E-mail: polymer@academy.uz; silver4727@yahoo.com

Поступила в Редакцию 10 мая 2022 г.

После доработки 30 сентября 2022 г.

Принята к публикации 30 сентября 2022 г.

*Разработан способ получения гемосорбента посредством химической и физической модификации натурального шелка и волокнистых отходов, получаемых при переработке коконов шелкопряда *Bombyx mori*. Посредством гидролиза шелковых волокон и волокнистых отходов в воде в замкнутой системе при 110°C и давлении 0.143 МПа в течение 24 ч достигнуто полное разделение шелковых нитей на чистый фиброин и серицин. Гидролиз чистого фиброина осуществлен в водной среде при температуре 130°C под давлением 0.145 МПа. Далее температуру повышали до 210°C при давлении 0.60 МПа и на реакционную среду воздействовали ультразвуковым диспергированием и сверхвысокочастотным облучением при 2450 МГц в течение 1–15 мин. Состав, структуру, физико-химические свойства гемосорбента изучали с использованием методов ИК-спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Полученный гемосорбент обладает высокой сорбционной активностью по отношению к витамину В₁₂.*

Ключевые слова: гемосорбент; фиброин; аминокислота; серицин; коконы *Bombyx mori*

DOI: 10.31857/S0044461822070088; EDN: DMQXET

Белок природного шелка — фиброин, который выделяют из коконов шелкопряда *Bombyx mori*, не растворяется в воде и в некоторых разбавленных растворах кислот и щелочей [1]. Он существует в нескольких структурных формах, в частности, способен формировать α -спирали и β -складки [2, 3]. Фиброин применяется в регенеративной медицине в качестве материала для изготовления матриц, пленок, хирургических нитей и покрытий [4]. Кроме того, он обладает умеренной антимикробной активностью и может быть рекомендован в качестве природного антибактериального биоматериала [5].

Цель работы — получение гемосорбента на основе фиброина шелка из коконов шелкопряда *Bombyx mori* для детоксикации крови и сыворотки крови, а также определение его физико-химических и сорбционных характеристик.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследований были выбраны шелковые нити, некондиционные коконы шелкопряда *Bombyx mori* и волокнистые отходы переработки шелка фирмы ООО Inter Silk Pro. Основные используемые реактивы приобретены у фирмы Sigma-Aldrich: спирт этиловый (96.0%, кат. № 1.59010), HCl (37.0%, кат. № H1758), бензол (99.9%, кат. № 270790), витамин В₁₂ (98.0%, кат. № V6629), LiCl (98.0%, кат. № 203637, диметилформамид (99.8%, кат. № 227056), CaCl₂ (99.99%, кат. № 499609), гель додецилсульфат–полиакриламид натрия (4–12%, 10 × 10 см, кат. № PCG2003); для получения дистиллированной воды использовали дистиллятор DZ-10L11 фирмы Huanghua Faithful Instrument Co., LTD.

Очистку шелковых нитей и волокнистых отходов от жира-восковых и неорганических примесей осу-

щественности посредством последовательной обработки бензолом и смесью этанол–дистиллированная вода при соотношении 70:30 (об%) трехкратно в течение 1 ч при температуре 50°C. Степень чистоты шелковых нитей и волоконистых отходов, определенная по методу,* составила 99.8%.

С целью удаления водорастворимого серицина из структуры шелковых нитей образцы выдерживали в течение 24 ч в воде при температуре 110°C и давлении 0.143 МПа. Аминокислотный состав фиброина шелка определяли на приборе Agilent 6400 Series Triple Quadrupole LC/MS Systems (Shimadzu) методом, представленным в сообщении A. Steven и D. Cohen [6].

С целью повышения сорбционной активности фиброина и получения гемосорбента проведен его повторный гидролиз в воде при температуре 130–230°C и давлении 0.145–0.60 МПа с последующим ультразвуковым диспергированием на приборе УЗДН-1, У-4,2 (ООО НПП «Укрросприбор») в течение 1–15 мин с последующим сверхвысококачественным облучением на СВЧ-установке УОМО-Т150 (ООО «Специнтех»).

ИК-спектроскопические исследования фиброина и гемосорбента на его основе осуществляли с использованием ИК-Фурье-спектрометра Inventio-S (Bruker) в спектральном диапазоне $4000 \pm 500 \text{ см}^{-1}$. Рентгеноструктурный анализ гемосорбента проводили на приборе Miniflex600 (Rigaku) при 40 кВ и силе тока 15 мА в интервале 2θ , равном 5–44°.

Расчет степени кристалличности (СК) проводили по оценке интенсивности максимального пика и по формуле

$$СК = \frac{I_k}{I_k + KI_a} \cdot 100\%,$$

где I_k и I_a — интенсивности кристаллического рефлекса и аморфного рассеяния соответственно, K — поправочный коэффициент.

Размер кристаллитов определяли по формуле Шеррера:

$$L = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta},$$

где L — эффективный размер кристаллита (Å); $\lambda = 1.5418 \text{ Å}$ — длина волны; 2θ — брэгговский угол (град); k — коэффициент, зависящий от формы кристаллита, $k = 0.9$; β — ширина полувысоты пика (град).

Характеристическую вязкость фиброина и гемосорбента на его основе определяли вискозиметриче-

ским методом в 2.5 М растворе LiCl, в диметилформамиде при 25°C. Молекулярная масса фиброина рассчитана по уравнению Марка–Куна–Хаувинка с использованием параметров $K = 1.23 \cdot 10^{-3}$, $\alpha = 0.91$, величины которых зависят от природы полимера, растворителя и температуры [7].

Также молекулярную массу фиброина определяли электрофоретическим методом [8]; при этом водный раствор фиброина был разделен по методике [9] на 6 фракций, различающихся молекулярной массой. Для определения молекулярной массы фиброина электрофоретическим методом [8] 130 мг фиброина в растворителе, содержащем 389 мг CaCl₂, 388 мкл этилового спирта и 544 мкл дистиллированной воды, перемешивали 5 ч до полного растворения фиброина. Раствор центрифугировали на центрифуге Cenlee 20K (Hunan) в течение 20 мин при 8000 об·мин⁻¹. Центрифугат диализовали через полупроницаемую целлюлозную мембрану (8–14 кДа) [10]. Распределение молекулярной массы раствора фиброина измеряли электрофорезом на многоцелевой системе электрофореза EW-28571-02 (Cole-Parmer) в геле додецилсульфат–полиакриламид натрия.

Степень чистоты фиброина, промытого дистиллированной водой, определяли УФ-спектроскопическим методом. Оптические спектры поглощения растворов были зарегистрированы на приборе Specord M210 (Analytic Jena) в диапазоне длин волн 200–900 нм, где длина оптического пути составляла 2 мм.

Сорбционные свойства гемосорбента по отношению к витамину В₁₂ изучали в статических условиях при комнатной температуре [11]. К навеске образца чистого фиброина и гемосорбента на его основе ($1.0000 \pm 0.0002 \text{ г}$) добавляли 25 мл водного раствора витамина В₁₂ концентрацией $0.50 \pm 0.02 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$. Концентрацию сорбата в растворе определяли через 60 мин методом УФ-спектроскопии до и после проведения сорбции при длине волны 360 нм в кювете толщиной 10 мм. Содержание в гидролизованном фиброине карбоксильных и аминокрупп определяли потенциометрически по методике [12], объем пор — методом ГОСТ 17219–71.**

Обсуждение результатов

Экспериментально определенный аминокислотный состав чистого фиброина (табл. 1) близок к расчетному [13].

* ГОСТ 5556–81. Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия.

** ГОСТ 17219–71. Угли активные. Метод определения суммарного объема пор в воде.

Таблица 1
Аминокислотный состав чистого фиброина и после его гидролиза

Аминокислота	Количественный состав аминокислот, мас%		Содержание аминокислот в гидролизате, мг·мл ⁻¹
	рассчитано	определено	
Серин (Ser)*	12.22	11.91	0.3121
Аспарагин (Asp)*	1.93	0.75	0.3563
Аргинин (Arg)*	0.51	0.45	0.0176
Треонин (Thr)*	0.95	0.82	0.0152
Глутамин (Glu)*	1.42	1.35	0.0205
Гистидин (His)*	0.19	0.19	0.0428
Цистеин (Cys)*	0.05	0.05	0.0593
Пролин (Pro)*	0.45	0.65	0.0233
Лизин HCl (Lys)*	0.34	0.46	0.0135
Глицин (Gly)**	42.92	43.10	0.2605
Аланин (Ala)**	29.91	31.21	0.0260
Валин (Val)**	2.55	2.34	0.0253
Изолейцин (Ile)**	0.64	0.72	0.0295
Лейцин (Leu)**	0.55	0.46	0.0217
Метионин (Met)**	0.12	0.22	0.0297
Тирозин (Tyr)***	4.81	5.12	0.0908
Фенилаланин (Phe)***	0.67	0.55	0.0298

Примечание. * гидрофильные, ** гидрофобные, *** ароматические.

Фиброин шелка шелкопряда *Bombyx mori* содержит в своем составе шесть тяжелых Н-цепей (~350 кДа) и шесть легких L-цепей (~25.8 кДа), связанных одной дисульфидной связью [14]. Щелочное рафинирование может привести к деградации макромолекул фиброина за счет разрыва пептидных связей в основных Н- и L-цепях, что снижает среднюю молекулярную массу регенерированного фиброина [15].

Фиброин содержит в своем составе примерно 75% гидрофобных аминокислот. Кроме того, аминокислоты фиброина способны формировать большое количество межмолекулярных водородных связей. В связи с этим фиброин не может растворяться, но способен к набуханию в воде и большинстве органических растворителей. Фиброин растворим только в растворителях, которые могут разрушить его водородные связи и гидрофобные взаимодействия, включая разрыв пептидных цепей [4].

Молекулярная масса фиброина, определенная вискозиметрическим методом, составила 340 кДа, что сопоставимо с результатом, полученным электрофоретическим методом.

Выделенный очищенный фиброин был подвергнут повторному гидролизу при температурах 130–230°C в течение 30–240 мин.

При температуре повторного гидролиза фиброина 210°C сохраняется волокнистая структура и достигаются высокие значения сорбции витамина В₁₂ (табл. 2, 3).

Предполагаемый механизм гидротермической деструкции фиброина [16] приведен ниже (см. схему).

При повторном гидролизе фиброина в результате разрыва пептидных связей образуются свободные карбоксильные и аминогруппы, способствующие увеличению сорбционной способности гемосорбента. В процессе гидролиза фиброин частично гидролизуется до аминокислот, содержание которых представлено в табл. 1.

С целью дальнейшего повышения сорбционной активности гидролизованного фиброина было проведено его ультразвуковое (УЗ) диспергирование и сверхвысокочастотное облучение (табл. 4). Максимальная сорбционная активность гидролизованного фиброина достигнута при ультразвуковом диспергировании в течение 5 мин и составляет 76 мас%. Данный факт, видимо, объясняется тем, что в процессе ультразвукового диспергирования из структуры фиброина в водную среду переходят аморфные фрагменты фиброина с относительно низкой молекулярной массой, в результате чего формируются

Таблица 2
Зависимость сорбции витамина В₁₂ от температуры повторного гидролиза фиброина (время гидролиза 60 мин, начальная концентрация В₁₂ 180 мг·л⁻¹)

Температура, °С	Давление, МПа	Концентрация сорбированного витамина В ₁₂ гидролизанным фиброином, мг·л ⁻¹	Сорбция витамина В ₁₂ , мас%	Потеря массы фиброина после повторного гидролиза, мас%	Внешний вид гидролизованного фиброина
130	0.145	82	45.55	2.2	Волокно
150	0.249	85	47.22	2.4	»
170	0.320	89	49.44	3.3	»
190	0.410	97	53.89	5.7	»
210	0.510	109	61.23	8.8	»
230	0.609	—	—	—	Порошок

Примечание: «—» — не определяли, поскольку фиброин в виде порошка не может быть использован в качестве гемосорбента.

Таблица 3
Зависимость сорбции витамина В₁₂ от времени повторного гидролиза фиброина (температура 210°С, давление 0.51 МПа, начальная концентрация В₁₂ 180 мг·л⁻¹)

Время, мин	Потеря массы фиброина после повторного гидролиза, мас%	Концентрация сорбированного витамина В ₁₂ , мг·л ⁻¹	Сорбция витамина В ₁₂ , мас%	Внешний вид гидролизованного фиброина
30	6.2	97.2	54.1	Волокно
60	8.8	109.8	61.2	»
120	12.6	117.9	65.5	»
180	25.7	124.7	69.3	Смесь волокна и порошка
240	—	—	—	Порошок

Примечание: «—» — не определяли, поскольку фиброин в виде порошка не может быть использован в качестве гемосорбента.

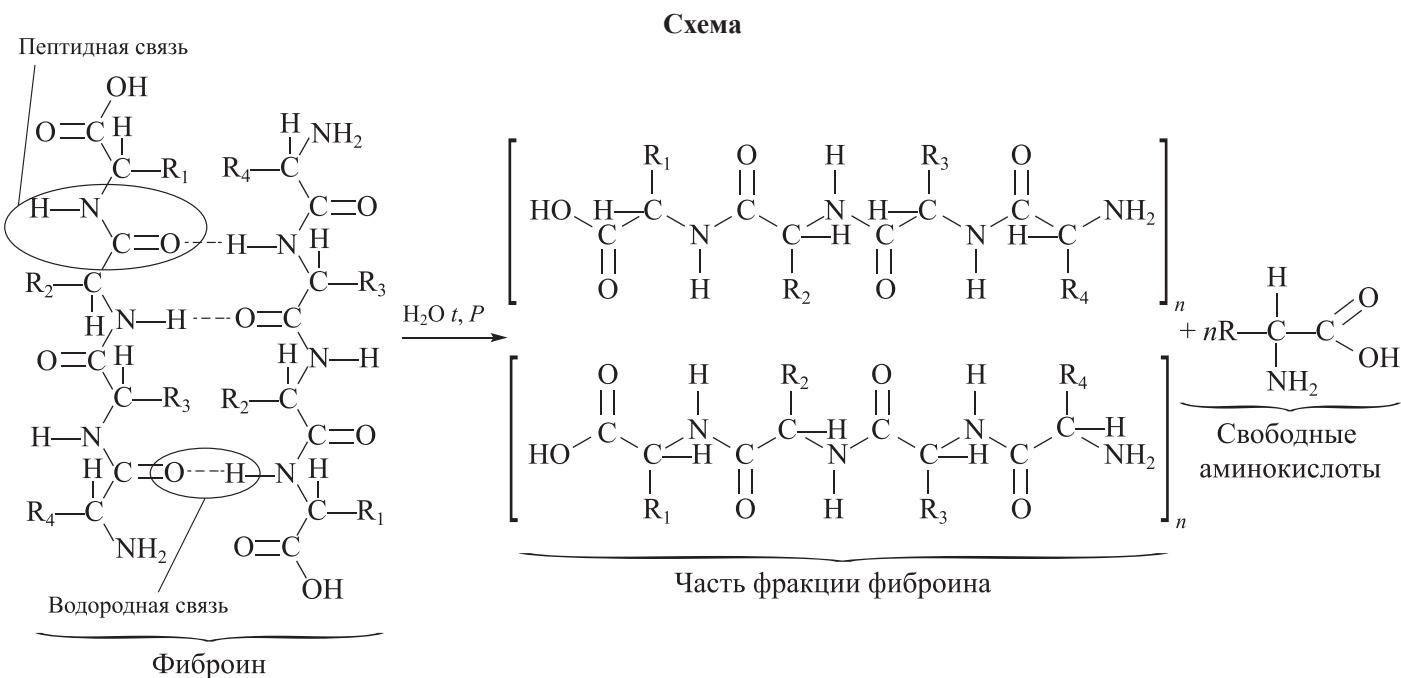


Таблица 4

Влияние времени ультразвукового диспергирования на изменение сорбционной активности гидролизованного фиброина (начальная концентрация V_{12} $180 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, время сорбции 45 мин)

Время ультразвукового диспергирования, мин	Изменение концентрации витамина V_{12} в системе после сорбции, $\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	Сорбция витамина V_{12} , мас%	Потеря массы фиброина, мас%	Размеры частиц фиброина, мкм		
				средние	минимальные	максимальные
1	52	71.13	6.02	540	93	850
3	50	71.94	6.10	360	70	720
5	43	76.12	7.51	120	45	590
10	53	70.55	9.75	27	9	60
15	56	68.89	11.97	18	7	38

полости, содержащие реакционноактивные амино- и карбоксильные группы.

Гидролизированный фиброин модифицировали также с использованием сверхвысокочастотного (СВЧ) облучения. Сорбционные свойства приведены в табл. 5.

Сверхвысокочастотное облучение гидролизованного фиброина способствует увеличению объема пор за счет разрыва структуры волокон фиброина и удаления паров воды из внутренних слоев структуры элементарных волокон. Установлено, что последовательное УЗ-диспергирование и СВЧ-облучение гидролизованного фиброина способствует увеличению его сорбционной активности до 95 мас% при сорбции V_{12} . Наблюдаемый эффект объясняется увеличением содержания реакционноактивных карбоксильных и аминогрупп. Для подтверждения данного факта определено содержание карбоксильных и аминогрупп в структуре гидролизованного фиброина (табл. 6).

При последовательном изменении условий обработки гидролизованного фиброина наблюдается увеличение содержания в его составе карбоксильных и аминогрупп, что приводит к увеличению сорбционной активности (рис. 1).

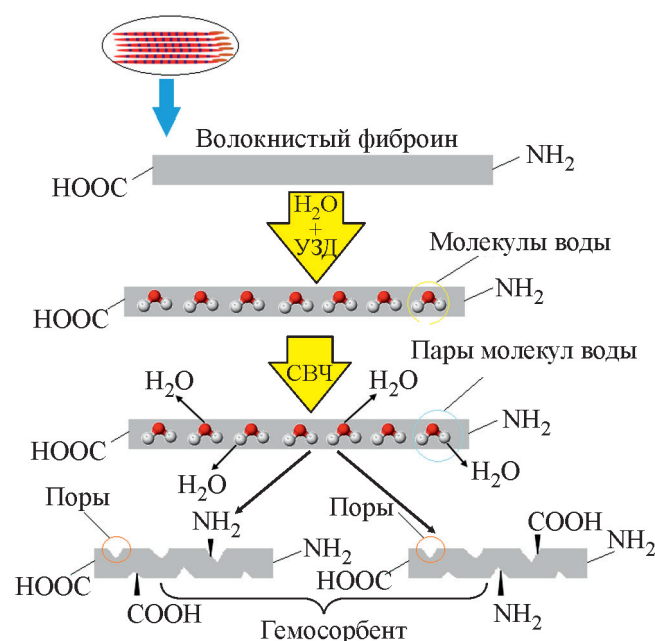


Рис. 1. Предполагаемый механизм модификации гидролизованного фиброина с использованием ультразвукового диспергирования и сверхвысокочастотного облучения.

Таблица 5

Зависимость сорбции витамина V_{12} от времени сверхвысокочастотного облучения гидролизованного фиброина (начальная концентрация V_{12} $180 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, мощность 800 Вт, частота 2450 МГц, время сорбции 45 мин)

Время сверхвысокочастотного облучения, мин	Изменение концентрации витамина V_{12} в системе после сорбции, $\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	Сорбция витамина V_{12}		Потеря массы фиброина, мас%	Внешний вид гидролизованного фиброина
		$\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	мас%		
1	41.4	138.6	77	7.8	Волокно
3	37.8	142.2	79	8.2	»
5	31.5	148.5	82	10.6	»
10	14.4	165.6	92	15.8	»
20	9.3	171.1	95	18.7	Частично волокно
30	—	—	—	—	Порошок

Таблица 6

Сорбционные показатели образцов гидролизованного фиброина (начальная концентрация V_{12} 180 мг·л⁻¹)

Образец	Реакционноактивные функциональные группы, мас%		Сорбция витамина V_{12} , мас%
	карбоксильные	аминогруппы	
Исходный шелк	4.65	3.52	31.8
Чистый фиброин	4.71	3.86	43.3
Гидролизованный фиброин (210°C)	8.14	6.72	65.5
Гидролизованный фиброин (210°C + ультразвуковое диспергирование)	9.33	8.23	69.4
Гидролизованный фиброин (210°C + сверхвысокочастотное облучение)	11.64	9.86	70.8
Гидролизованный фиброин (210°C + ультразвуковое диспергирование + сверхвысокочастотное облучение)	14.26	12.82	95.2

Вода способна проникать во внутренние слои фиброина. В процессе СВЧ-облучения гидролизованного фиброина при 2450 МГц и мощности 800 Вт молекулы воды, содержащиеся во внутренних слоях волокна фиброина, быстро переходят в состояние пара и способствуют образованию пор за счет разрыва поверхности волокон. Путем модификации гидролизованного фиброина под воздействием физических факторов были получены полифункциональные волокнистые гемосорбенты с длиной волокон 5–7 мм и высокими сорбционными свойствами. Их сорбционная активность по отношению к витамину V_{12} составляла 95 мас%.

При определении содержания свободных карбоксильных и аминогрупп в результате разрыва пептидных и водородных связей под воздействием УЗ-диспергирования и СВЧ-облучения по выше-

указанной методике установлено, что объем пор гемосорбента в 3–4 раза выше, чем при термическом гидролизе фиброина в водной среде. Установлено, что содержание свободных карбоксильных групп в гемосорбенте составляет 14.2 мас%. Это достигается за счет разрыва пептидных связей фиброина в процессе его модификации.

В ИК-спектрах фиброина шелка (рис. 2) полосы поглощения при 1700–2710 см^{-1} соответствуют карбоксильным группам, 1514 см^{-1} — полосам поглощения —CO—NH-групп, 2931 см^{-1} — —CH₂-группам и 2979 см^{-1} — третичным —C(R)H-группам. В ИК-спектрах гемосорбента, полученного из фиброина, полосы поглощения при 3296 см^{-1} характеризуют —OH-группу; 3300, 1623, 690 см^{-1} отнесены к —NH₂-группам; полоса при 1230 см^{-1} — к связям C—O карбоксильных групп и 1700 см^{-1} — карбок-

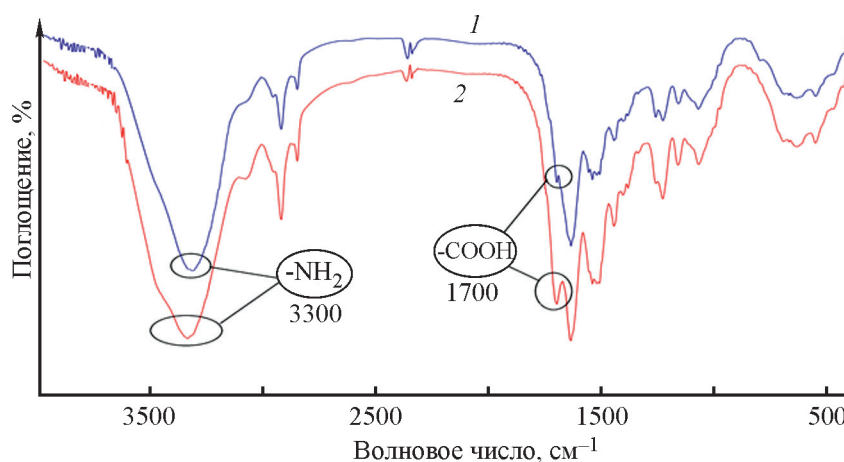


Рис. 2. ИК-Фурье-спектры: 1 — фиброина, 2 — гемосорбента, полученного посредством ультразвукового диспергирования и сверхвысокочастотного облучения фиброина.

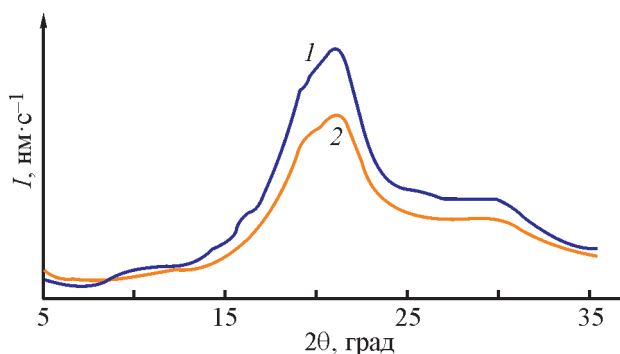


Рис. 3. Рентгеновские дифракционные кривые: 1 — фиброина, 2 — гемосорбента на его основе.

сильным группам, интенсивность которых увеличена по сравнению с исходным фиброином.

С целью определения изменения степени кристалличности чистого фиброина и полученного гемосорбента были зарегистрированы их дифрактограммы (рис. 3). Степень кристалличности чистого фиброина составила 46.1 мас%. Высокая кристалличность фиброина является результатом вымывания аморфных частей из межплоскостных участков кристаллических слоев фиброина. В процессе получения гемосорбента на основе чистого фиброина, обработанного УЗ-диспергированием и СВЧ-облучением, степень кристалличности снижается до 38.1 мас%, что объясняется аморфизацией структуры гемосорбента. При выделении фиброина из шелка происходит увеличение степени кристалличности, которое может быть связано с переходом α -спирали в β -структуру под действием их гидролиза в среде чистой воды при высоких температурах (130–210°C) и давлениях (0.145–0.510 МПа). Степень кристалличности гемосорбента еще в большей степени снижалась при его УЗ-диспергировании и СВЧ-облучении.

Выводы

Разработан способ очистки природных шелковых нитей и волокнистых отходов предприятий по переработке коконов шелкопряда *Bombyx mori* от жирно-восковых и минеральных примесей. Путем последовательной промывки полярными (этанол–вода) и неполярным (бензол) растворителями достигнута степень чистоты 99.8 мас%. Обработкой шелковых нитей и волокнистых отходов водой при температурах 110–230°C и давлениях 0.143–0.600 МПа получен чистый фиброин.

Посредством последовательного гидролиза чистого фиброина в водной среде с использованием

методов ультразвукового диспергирования и сверхвысокочастотного облучения получен высокопористый гемосорбент, обладающий высокой сорбционной способностью по отношению к витамину В₁₂.

Финансирование работы

Исследования выполнены при поддержке фундаментальных исследований по базовому финансированию Академии наук Республики Узбекистан и проекту № MBV-2021-548.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Информация об авторах

Сарымсаков Абдушкур Абдухалилович, проф.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4562-7280>
Ярматов Сардорбек Собиржонович
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8557-3304>
Юнусов Хайдар Эргашевич, д.т.н.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4646-7859>

Список литературы

- [1] Hai-Yan W., Yu-Qing Zh., Zheng-Guo W. Dissolution and processing of silk fibroin for materials science // Crit. Rev. Biotechnol. 2021. V. 41. N 3. P. 406–424. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1853030>
- [2] Weisel J. W., Litvinov R. I. Fibrin formation, structure, and properties. Fibrous proteins: Structures and mechanisms / Eds D. Parry, J. Squire. Subcell. Biochem. Springer, Cham. 2017. V. 82. P. 405–456. https://doi.org/10.1007/978-3-319-49674-0_13
- [3] Zheng Y., Wang D., Zhao L., Wang X., Han W., Wang L. Chemically modified silk fibroin hydrogel for environment-stable electronic skin // Sens. Actuators Rep. 2022. V. 4. P. 100089–100095. <https://doi.org/10.1016/j.snr.2022.100089>
- [4] Сашина Е. С., Голубихин А. Ю., Новоселов Н. П., Цобкалло Е. С., Заборский М., Горальский Я. Исследование возможности применения пленок фиброина шелка и его смесей с синтетическими полимерами для создания материалов контактных линз // ЖПХ. 2009. Т. 82. № 5. С. 843–849 [Sashina E. S., Golubikhin A. Yu., Novoselov N. P., Tsobkallo E. S., Zaboriskii M., Goralskii Ya. Study of a possibility of applying the films of the silk fibroin and its mixtures with synthetic polymers for creating the materials of contact lenses // Russ. J. Appl. Chem. 2009. V. 82. N 5. P. 898–904. <https://doi.org/10.1134/S1070427209050292>].

- [5] *Abdel-Fattah W. I., Atwa N., Ali G. W.* Influence of the protocol of fibroin extraction on the antibiotic activities of the constructed composites // *Prog. Biomater.* 2015. V. 4. N 2–4. P. 77–88. <https://doi.org/10.1007/s40204-015-0039-x>
- [6] *Chumroenphat T., Somboonwatthanakul I., Saensouk S., Siriamornpun S.* Changes in curcuminoids and chemical components of turmeric (*Curcuma longa* L.) under freeze-drying and low-temperature drying methods // *Food Chem.* 2021. V. 339. P. 128121–128130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128121>
- [7] *Pawcenis D., Syrek M., Koperska M. A., Łojewski T., Łojewska J.* Mark-Houwink-Sakurada coefficients determination for molar mass of silk fibroin from viscometric results // *RSC Adv.* 2016. V. 6. P. 38071–38078. <https://doi.org/10.1039/C6RA00871B>
- [8] *Остерман Л. А.* Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: электрофорез и ультрацентрифугирование. М.: Наука, 1981. С. 56–59.
- [9] *Aoki M., Masuda Y., Ishikawa. K., Tamada Y.* Fractionation of regenerated silk fibroin and characterization of the fractions // *Molecules.* 2021. V. 26. P. 6317–6343. <https://doi.org/10.3390/molecules26206317>
- [10] *Сафонова Л. А., Боброва М. М., Агапова О. И., Архипова А. Ю., Гончаренко А. В., Агапов И. И.* Пленки на основе фиброина шелка для заживления полнослойной раны кожи у крыс // *Вестн. трансплантологии и искусств. органов.* 2016. Т. 18. № 3. С. 74–84 [*Safonova L. A., Bobrova M. M., Agapova O. I., Arkhipova A. Yu., Goncharenko A. V., Agapov I. I.* Fibroin silk based films for rat's full-thickness skin wound regeneration // *Russ. J. Transplantology and Artificial Organs.* 2016. V. 18. N 3. P. 74–84. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2016-3-74-84>].
- [11] *Veprikova E. V., Ivanov I. P., Chesnokov N. V., Kuznetsov B. N.* Study of enterosorption activity of carbon sorbents based on organosolvent lignin of fir wood // *J. Sib. Fed. Univ. Chem.* 2018. V. 11. N 2. P. 249–261. <https://doi.org/10.17516/1998-2836-0072>
- [12] *Аввакумова Н. И., Бударина Л. А., Дивгун С. М., Заикин А. Е., Кузнецов Е. В., Куренков В. Ф.* Практикум по химии и физике полимеров. М.: Химия, 1990. С. 57–58.
- [13] *Yuan-Jing W., Yu-Qing Zh.* Three-layered sericins around the silk fibroin fiber from *Bombyx mori* cocoon and their amino acid composition // *Adv. Mater. Res.* 2011. V. 175–176. P. 158–163. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.175-176.158>
- [14] *Asakura T.* Structure of silk I (*Bombyx mori* silk fibroin before spinning)-type II β -turn, not α -helix- // *Molecules.* 2021. V. 26. P. 3706–3726. <https://doi.org/10.3390/molecules26123706>
- [15] *Gandhimathi C., Venugopal J. R., Tham A. Y., Ramakrishna S., Kumar S. D.* Biomimetic hybrid nanofibrous substrates for mesenchymal stem cells differentiation into osteogenic cells // *Mater. Sci. Eng. C.* 2015. V. 49. P. 776–785. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.01.075>
- [16] *Qiang L., Bing Zh., Mingzhong L., Baoqi Z., David L. K., Yongli H., an Hesun Zh.* Degradation mechanism and control of silk fibroin // *Biomacromolecules.* 2011. V. 12. N 4. P.1080–1086. <https://doi.org/10.1021/bm101422j>