

Оригинальные статьи

Научная статья

УДК 577.325:602.1

<https://doi.org/10.17308/kcmf.2023.25/11098>

Биокатализаторы на основе ассоциатов папаина с наночастицами хитозана

С. С. Гончарова¹, Ю. А. Редько¹, М. С. Лавлинская^{1,2}, А. В. Сорокин^{1,2}, М. Г. Холявка^{1,2}✉, М. С. Кондратьев^{1,3}, В. Г. Артюхов¹

¹Воронежский государственный университет,
Университетская пл., 1, Воронеж 394018, Российская Федерация

²Севастопольский государственный университет,
ул. Университетская, 33, Севастополь 299053, Российская Федерация

³Институт биофизики клетки Российской академии наук,
ул. Институтская, 3, Пущино 142290, Российская Федерация

Аннотация

Работа направлена на разработку и исследование биокатализаторов на основе ассоциатов папаина с наночастицами хитозана. Получены наночастицы среднемолекулярного и высокомолекулярного хитозанов без и с добавлением аскорбиновой кислоты.

При образовании ассоциатов папаина с наночастицами, сформированными в присутствии аскорбиновой кислоты, его каталитическая способность увеличилась на 3 % для среднемолекулярного хитозана и на 16 % для высокомолекулярного хитозана. Свободный фермент после 168 часов инкубации в 0.05 М трис-НСI буфере (рН 7.5) при 37 °С сохранял 15 % каталитической активности, в то время как ассоциаты с наночастицами хитозана проявляли ~ 30 %, а комплекс папаина с наночастицами хитозана, полученными с добавлением аскорбиновой кислоты, – 40 % своей каталитической способности.

Смоделированы связи и взаимодействия, образующиеся внутри комплекса хитозан-аскорбиновая кислота-папаин. Предлагаемые нами биокатализаторы обладают высокими возможностями для эффективного использования в области косметологии, биомедицины и фармации.

Ключевые слова: наночастицы, папаин, хитозан, ассоциирование

Благодарности: Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда, проект №21-74-20053.

Для цитирования: Гончарова С. С., Редько Ю. А., Лавлинская М. С., Сорокин А. В., Холявка М. Г., Кондратьев М. С., Артюхов В. Г. Биокатализаторы на основе ассоциатов папаина с наночастицами хитозана. *Конденсированные среды и межфазные границы*. 2023;25(2): 173–181. <https://doi.org/10.17308/kcmf.2023.25/11098>

For citation: Goncharova S. S., Redko Yu. A., Lavlinskaya M. S., Sorokin A. V., Holyavka M. G., Kondratyev M. S., Artyukhov V. G. Biocatalysts based on papain associates with chitosan nanoparticles. *Condensed Matter and Interphases*. 2023;25(2): 173–181. <https://doi.org/10.17308/kcmf.2023.25/11098>

✉ Холявка Марина Геннадьевна, e-mail: holyavka@rambler.ru

© Гончарова С. С., Редько Ю. А., Лавлинская М. С., Сорокин А. В., Холявка М. Г., Кондратьев М. С., Артюхов В. Г., 2023



1. Введение

Наночастицы представляют собой высокодисперсные, как правило, сферические частицы с размерами, не превышающими 100 нм. Наночастицы обладают уникальными свойствами, благодаря которым их используют в биомедицине. Перспективным является применение полимерных наночастиц в качестве носителей генов и лекарственных средств, способных контролируемо высвобождать и доставлять адресно биологически активные вещества [1].

Свойства наночастиц отличаются от свойств макромолекул. Они обладают высокой удельной поверхностью, приводящей к увеличению дисперсности, которая влияет на скорость и способность препарата усваиваться системами организма. Благодаря большой площади раздела фаз наночастицы характеризуются высокими показателями сорбции лекарственных препаратов, что способствует более рациональному использованию последних [2, 3]. Наночастицы являются энергонасыщенными системами. Молекулы или атомы, находящиеся на поверхности раздела фаз, приводят к возникновению избыточной поверхностной энергии. Наночастицы для минимизации поверхностной энергии эффективно взаимодействуют с любыми химическими соединениями и быстро связываются друг с другом.

Свойства наночастиц являются «коллективными» и определяются не отдельно взятой частицей, а ансамблем частиц, распределенных в среде диспергирования, поэтому особенности микроокружения являются определяющим фактором свойств лекарственных средств [4].

Одним из перспективных материалов для создания систем доставки является хитозан. Хитозан – модифицированный природный полиамино- β -гликозид, обладающий биodeградируемостью, антибактериальным и противогрибковым действием [5–7]. Полимер характеризуется высокой мукоадгезивностью и является неиммунным [8].

Протеазы применяются во многих областях производства, например, пищевой и фармацевтической промышленности, а также в медицине. Среди наиболее используемых протеаз растительного происхождения стоит отметить папаин [9, 10].

Папаин (КФ 3.4.22.2) – протеолитический фермент, выделяемый из кожуры плодов незрелой папайи (*Carica papaya*). Фермент относится к цистеиновым протеазам, стабилен в широком диапазоне условий даже при высоких темпера-

турах и значениях pH 3–12. Папаин обладает антибактериальным, антиоксидантным противоопухолевым действиями. Комплексы папаина применяются в качестве фармацевтического адьюванта [11–14].

Основным недостатком растворимых форм протеолитических ферментов является их быстрая инактивация вследствие протеолиза. Одним из способов повышения стабильности протеаз является их ассоциирование с наночастицами.

В связи с вышесказанным, цель настоящей работы – разработка биокатализаторов на основе ассоциатов папаина с наночастицами хитозана и исследование их каталитической активности.

2. Экспериментальная часть

Объектом исследования в работе являлся папаин, в качестве субстрата для гидролиза был выбран азоказеин (Sigma, США). Наночастицы получали из хитозанов – среднемолекулярного (СМ, 200 кДа) и высокомолекулярного (ВМ, 350 кДа) (ЗАО «Биопрогресс», Россия).

Наночастицы хитозана получали следующим образом: 300 мг хитозана растворяли в 100 мл 0.3%-го раствора уксусной кислоты при механическом перемешивании, далее добавляли 3%-й раствор NaOH со скоростью 5 мл/мин при постоянном перемешивании до образования осадка белого цвета и значения pH среды выше 11. Раствор пропускали через фильтр (размер пор 0.45 мкм), осадок промывали дистиллированной водой до нейтрального значения pH, помещали в 100 мл дистиллированной воды и обрабатывали ультразвуком на дезинтеграторе Qsonica Sonicators (Япония) в течение 10 мин (40 кГц). Для получения наночастиц в присутствии аскорбиновой кислоты добавляли 50 мг последней в раствор хитозана в уксусной кислоте до внесения к нему раствора NaOH. Остальные манипуляции проводились аналогичным образом, как описано выше.

Ассоциаты наночастиц с папаином получали согласно методике, описанной в [15] и апробированной в работах [16–18].

Протеазную активность полученных препаратов измеряли, как описано в [19].

Для определения размеров и поверхностных зарядов ассоциатов наночастиц с папаином использовали установку Nano Zetasizer ZS (Malvern Instruments, США), оснащенную He/Ne-лазером мощностью 4 мВт с $\lambda = 632.8$ нм, угол рассеяния составлял 173° .

In silico исследование связей и взаимодействий, образующихся внутри комплекса хитозан-аскорбиновая кислота-папаин, проводили путем гибкого молекулярного докинга в пакете Autodock Vina (<https://sourceforge.net/projects/autodock-vina-1-1-2-64-bit/>) с использованием трехмерной структуры папаина (PDB ID: 9PAP, <https://www.rcsb.org/structure/9PAP>). Подготовку модели структуры энзима и оптимизацию матрицы полимера-носителя проводили, как описано в [20].

3. Результаты и их обсуждение

В первой серии экспериментов мы определили размеры и дзета-потенциал ассоциатов наночастиц хитозана до и после ассоциации с папаином. Параметры ассоциатов папаина с наночастицами представлены в табл. 1. Медианное значение дзета-потенциала всех типов наночастиц составило 0 мВ. Отчетливо видно, что ассоциаты папаина с наночастицами средне- и высокомолекулярного хитозанов, полученными в присутствии аскорбиновой кислоты, существенно отличаются по размерам от ассоциатов с частицами, сформированными без аскорбиновой кислоты. При взаимодействии наночастиц среднемолекулярного хитозана с папаином размеры ассоциатов превышают размеры свободных наночастиц в большей степени – в 42 и 13 раз для частиц, сформированных при отсутствии и в присутствии аскорбиновой кислоты соответственно, тогда как для наночастиц высокомолекулярного хитозана при ассоциировании с папаином увеличение размеров комплексов составило лишь 6 и 8 раз, по сравнению со свободными наночастицами. Исходя из полученных значений размеров ассоциатов папаина с наночастицами

хитозана, можно предположить, что адсорбция белка на поверхности наночастиц сопровождается образованием многослойных структур.

При образовании комплекса папаина с наночастицами средне- и высокомолекулярного хитозанов, полученными без добавления аскорбиновой кислоты, активность ассоциированных препаратов составляла 94 и 97 % соответственно от тех же значений для нативного энзима. При формировании комплексов папаина с наночастицами, полученными в присутствии аскорбиновой кислоты, протеолитическая способность фермента увеличилась на 3 % для среднемолекулярного хитозана и на 16 % для высокомолекулярного хитозана (рис. 1). Более высокому проценту сохранения активности папаина в комплексе с наночастицами хитозана, сформированными в присутствии аскорбиновой кислоты, по всей видимости, способствуют антиоксидантные функции этой кислоты по отношению к биокатализатору [21, 22].

Известно, что активный центр папаина содержит остаток цистеина, сульфгидрильная группа которого совершает нуклеофильную атаку на субстрат в процессе его гидролиза. Кроме того, SH-группа является мощным восстановителем и поэтому легко подвергается окислению под действием кислорода воздуха. В литературе имеется информация об активации папаина путем введения различных восстановителей, например, цистеина [23] и других SH-содержащих соединений [24]. Таким образом, более высокую активность ассоциатов папаина с наночастицами хитозана, полученными в присутствии аскорбиновой кислоты, можно связать с ее восстанавливающим действием на сульфгидрильную группу активного центра. Более того, есть со-

Таблица. 1. Параметры наночастиц и ассоциатов папаина с наночастицами средне- и высокомолекулярного хитозанов

Исследуемый образец	Средний размер, нм	Диапазон размеров, нм
Наночастицы хитозана		
среднемолекулярного	12	7–21
среднемолекулярного с аскорбиновой кислотой	21	14–59
высокомолекулярного	33	18–79
высокомолекулярного с аскорбиновой кислотой	38	28–79
Ассоциаты папаина с наночастицами хитозана		
среднемолекулярного	499	164–1281
среднемолекулярного с аскорбиновой кислотой	267	91–712
высокомолекулярного	200	105–396
высокомолекулярного с аскорбиновой кислотой	321	105–825

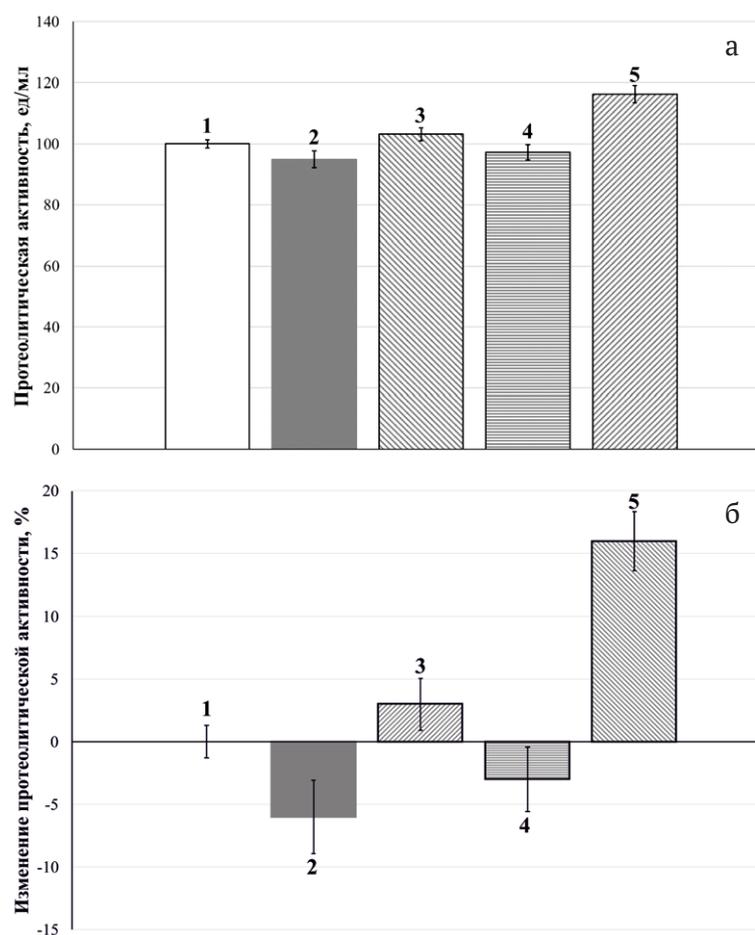


Рис. 1. Каталитическая активность папаина, ед/мл (А) и ее изменение, % (Б): растворимый папаин (1); папаин, ассоциированный с наночастицами среднемoleкулярного хитозана (2); папаин с наночастицами среднемoleкулярного хитозана, полученными с добавлением аскорбиновой кислоты (3); папаин, ассоциированный с наночастицами высокомолекулярного хитозана (4); папаин с наночастицами высокомолекулярного хитозана, полученными с добавлением аскорбиновой кислоты (5). За 100 % принята активность свободного папаина при оптимальных условиях гидролиза

общения о влиянии аскорбиновой кислоты [25] или ее сочетания с ионами Fe^{2+} [26] или Cu^{2+} [27] на протеолитическую активность нативного папаина. Также стоит отметить, что аскорбиновая кислота низкотоксична, широко используется в медицинской практике, что делает возможным применение содержащих ее ферментных препаратов в биомедицине и фармации.

В ходе выполнения экспериментов по определению остаточной активности папаина при 37 °С в 0.05 М трис-НСl буфере с рН 7.5 свободного и ассоциированного с наночастицами средне- и высокомолекулярного хитозанов, полученными без и с добавлением аскорбиновой кислоты, в течение 7 дней происходило снижение активности всех испытуемых образцов.

Раствор нативного папаина после инкубации продолжительностью 168 часов сохранял 15 % от

своей начальной протеолитической активности, его комплексы с наночастицами средне- и высокомолекулярного хитозанов, сформированными без добавления аскорбиновой кислоты, проявляли соответственно 29 и 34 % своей способности гидролизовать азоказеин, в то время как ассоциаты с наночастицами средне- и высокомолекулярного хитозанов, созданными с добавлением аскорбиновой кислоты, сохраняли 40 и 43 % их протеолитической активности соответственно (рис. 2).

Ассоциаты папаина и наночастиц обоих типов хитозана, созданных как без, так и с добавлением аскорбиновой кислоты, были более стабильны, чем свободный фермент, начиная с 4 часов инкубации в 0.05 М трис-НСl буфере с рН 7.5 при 37 °С. Таким образом, комплексообразование с наночастицами хитозана более

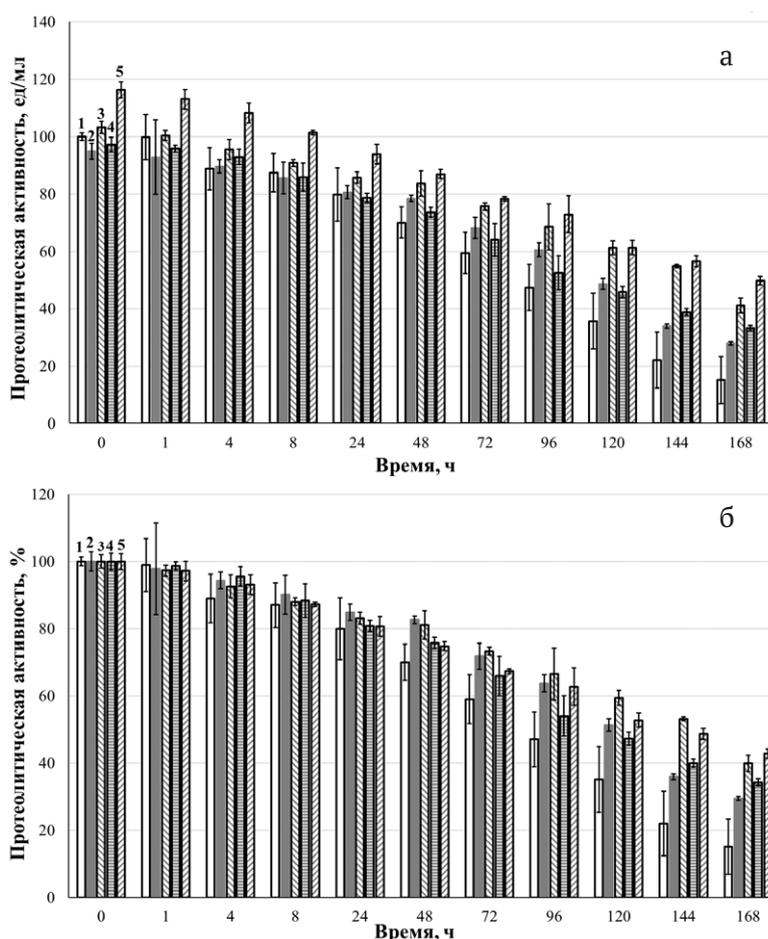


Рис. 2. Остаточная каталитическая активность папаина после инкубации образцов при 37 °С (А – в ед/мл раствора или суспензии, Б – в % от первоначального уровня): 1 – свободный папаин; 2 – папаин, ассоциированный с наночастицами среднемoleкулярного хитозана; 3 – папаин, ассоциированный с наночастицами среднемoleкулярного хитозана, полученными с добавлением аскорбиновой кислоты; 4 – папаин, ассоциированный с наночастицами высокомолекулярного хитозана; 5 – папаин, ассоциированный с наночастицами высокомолекулярного хитозана, полученными с добавлением аскорбиновой кислоты. Протеолитическую активность образцов, наблюдаемую без их предварительной инкубации и при оптимальных условиях гидролиза, принимали за 100 %

эффективно повышает стабильность папаина, чем ассоциирование фермента в аналогичных условиях с микрочастицами хитозана, при котором эффекты стабилизации протеолитической активности выявляются как минимум после 96 часов инкубации в 0.05 М трис-НСl буфере с рН 7.5 при 37 °С [16].

Для объяснения эффектов сохранения активности папаина в комплексе с наночастицами хитозана, сформированными в присутствии аскорбиновой кислоты, на более высоком уровне и повышения стабильности фермента в названном комплексе при инкубации при 37 °С нами были смоделированы связи и взаимодействия, образующиеся внутри конъюгата хитозан-аскорбиновая кислота-папаин (рис. 3). Из результатов

in silico исследования взаимодействия тройной системы хитозан-аскорбиновая кислота-папаин также следует, что непосредственно с цистеином, входящим в состав активного центра (Cys25), аскорбиновая кислота не взаимодействует. Однако тот факт, что она вступает посредством углеродного скелета в гидрофобные взаимодействия с каталитически значимым остатком гистидина (His159), указывает на близость расположения молекулы потенциального восстановителя к сульфгидрильной группе и также подтверждает гипотезу о восстанавливающем эффекте аскорбиновой кислоты по отношению к активному центру папаина. Кроме того, аскорбиновая кислота имеет некоторые преимущества перед другими типами восстановителей для

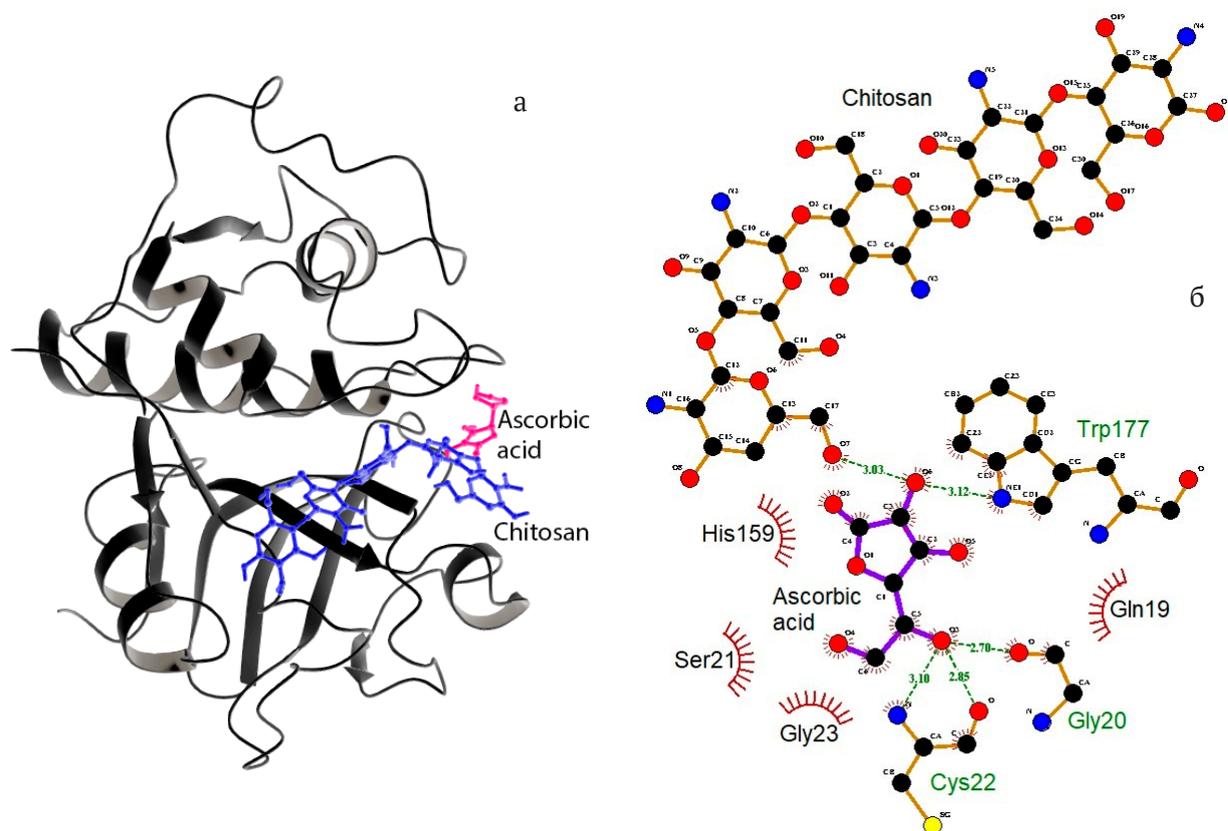


Рис. 3. Топология комплекса хитозан-аскорбиновая кислота-папаин (А) и связи и взаимодействия между компонентами названной системы, пунктирными линиями обозначены водородные связи, длина которых приведена в Å (Б)

косметологии, биомедицины и фармации: является кофактором для ряда ферментов, участвующих в биосинтезе коллагена, необходима для заживления ран и восстановления костей [28], вовлечена в синтез тироксина, метаболизм аминокислот [21], играет важную роль в системе антиоксидантной защиты, иммунной компетентности и в укреплении устойчивости организма к инфекции, предотвращает мутации ДНК и может быть важным элементом при лечении некоторых видов рака и хронических заболеваний [29]. Известно, что аскорбат хитозана обладает более высокой антибактериальной активностью против *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, чем хитозан, что, вероятно, замедляет микробную деградацию папаина при физиологических условиях (37 °С, pH 7.5) [30].

4. Заключение

Таким образом, в ходе проделанной работы нам удалось получить ассоциаты папаина с наночастицами среднемолекулярного и высокомолекулярного хитозанов, сформированными без и с добавлением аскорбиновой кислоты. Последние

показали более высокие значения протеолитической активности по отношению к азоказеину.

Установлено, что ассоциаты папаина с наночастицами обоих типов хитозанов, полученными в присутствии аскорбиновой кислоты, существенно отличаются по размерам от ассоциатов с частицами, сформированными без нее, а комплексы папаина с частицами среднемолекулярного хитозана превышают размеры свободных наночастиц в большей степени, чем ассоциаты фермента с частицами высокомолекулярного хитозана.

При определении стабильности комплексов наночастиц хитозана и папаина выявлялось снижение протеолитической активности образцов в течение семи суток. Ассоциирование с наночастицами хитозана, особенно с частицами, полученными в присутствии аскорбиновой кислоты, повышало устойчивость папаина.

Для объяснения эффектов сохранения активности папаина в комплексе с наночастицами хитозана *in silico* были изучены взаимодействия тройной системы хитозан-аскорбиновая кислота-папаин. Установлено, что непосредственно с

Cys25 в составе активного центра папаина аскорбиновая кислота не образует связей, но вступает в гидрофобные взаимодействия с каталитически значимым аминокислотным остатком – His159, что доказывает близость расположения молекулы потенциального восстановителя к сульфгидрильной группе и подтверждает гипотезу о восстанавливающем эффекте аскорбиновой кислоты по отношению к активному центру папаина.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Заявленный вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации

Список литературы

- Hillaireau N., Couvreur P. Nanocarriers' entry into the cell: relevance to drug delivery. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2009;66: 2873–2896. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0053-z>
- Ашуров Н. Ш., Югай С. М., Шахобутдинов С. Ш., Кулумбетов А. С., Атаханов А. А. Физико-химические исследования структуры наночастиц хитозана и аскорбат хитозана. *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2022; 2: 227–231. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=48176311>
- Медведева И. В., Медведева О. М., Студенок А. Г., Студенок Г. А., Цейтлин Е. М. Новые композитные материалы и процессы для химических, физико-химических и биохимических технологий водоочистки. *Известия высших учебных заведений. Серия: Химия и химическая технология*. 2023;66(1): 6–27. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20236601.6538>
- Egebro Birk S., Boisen A., Hagner Nielsen L. Polymeric nano- and microparticulate drug delivery systems for treatment of biofilms. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021;174: 30–52. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.04.005>
- Маевская Е. Н., Дресвянина Е. Н., Шабунин А. С., ... Зиновьев Е. В. Получение и исследование свойств гемостатических материалов на основе хитозана и наночастиц хитина. *Российские нанотехнологии*. 2020;15(4): 493–504. <https://doi.org/10.1134/S199272232004007X>
- Колесов С. В., Гурина М. С., Мударисова Р. Х. Закономерности и особенности образования водных нанодисперсий интерполиэлектролитных комплексов на основе хитозана и сукцинамида хитозана. *Журнал общей химии*. 2018;88(8): 1376–1380. <https://doi.org/10.1134/S0044460X1808022X>
- Cheung R., Ng T., Wong J., Chan W. Chitosan: an update on potential biomedical and pharmaceutical applications. *Marine Drugs*. 2015;13: 5156–5186. <https://doi.org/10.3390/md13085156>
- Попова Е. В., Тихомирова В. Е., Безнос О. В., Григорьев Ю. В., Чеснокова Н. Б., Кост О. А. Хитозановые наночастицы - система доставки лекарств в передний отдел глаза. *Вестник Московского университета. Серия 2: Химия*. 2023;64(2) 141–151. <https://doi.org/10.55959/MSU0579-9384-2-2023-64-2-141-151>
- Silva-López R. E., Gonçalves R. N. Therapeutic proteases from plants: biopharmaceuticals with multiple applications. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*. 2019;6(2): 101–109. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00180>
- Pankova S. M., Sakibaev F. A., Holyavka M. G., Artyukhov V. G. A possible role of charged amino-acid clusters on the surface of cysteine proteases for preserving activity when binding with polymers. *Biophysics*. 2022;67(1): 8–14. <https://doi.org/10.1134/S0006350922010146>
- Hu R., Chen G., Li Y. Production and characterization of antioxidative hydrolysates and peptides from corn gluten meal using papain, ficin, and bromelain. *Molecules*. 2020;25(18): 4091. <https://doi.org/10.3390/molecules25184091>
- Koroleva V. A., Olshannikova S. S., Holyavka M. G., Artyukhov V. G. Thermal inactivation of cysteine proteases: the key stages. *Biophysics*. 2021;66(3): 364–372. <https://doi.org/10.1134/S0006350921030088>
- Kong Y. R., Jong Y. X., Balakrishnan M., ... Khaw K. Y. Beneficial role of *Carica papaya* extracts and phytochemicals on oxidative stress and related diseases: a mini review. *Biology*. 2021;10(4): 20. <https://doi.org/10.3390/biology10040287>
- Semashko T. A., Lysogorskaya E. N., Okse-noit E. S., Bacheva A. V., Filippova I. Yu. Chemoenzymatic synthesis of new fluorogenous substrates for cysteine proteases of the papain family. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2008;34(3): 339–343. <https://doi.org/10.1134/S1068162008030151>
- Szeto Y. S., Hu Z. *Method for preparing chitosan nano-particles*. Patent no US2008/0234477 A1. Publ. 25.09.2008.
- Ольшанникова С. С., Редько Ю. А., Лавлинская М. С., Сорокин А. В., Холявка М. Г., Артюхов В. Г. Получение и оценка стабильности по уровню ферментативной активности комплексов папаина с микрочастицами хитозана. *Химико-фармацевтический журнал*. 2021;55(11): 51–55. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2021-55-11-51-55>
- Королева В. А., Холявка М. Г., Ольшанникова С. С., Артюхов В. Г. Разработка методики получения комплексов фицина с наночастицами хито-

зана с высоким уровнем протеолитической активности. *Биофармацевтический журнал*. 2018;10(4): 36–40. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=36834674>

18. García-Carreño F. L. The digestive proteases of langostilla (*pleuroncodes planipes*, decapoda): their partial characterization, and the effect of feed on their composition. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 1992;103: 575–578. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(92\)90373-Y](https://doi.org/10.1016/0305-0491(92)90373-Y)

19. Sabirova A. R., Rudakova N. L., Balaban N. P., ... Sharipova M. R. A novel secreted metzincin metalloproteinase from *Bacillus intermedius*. *FEBS Letters*. 2010;584 (21): 4419–4425. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.09.049>

20. Olshannikova S. S., Malykhina N. V., Lavlinskaya M. S., ... Artyukhov V. G. Novel immobilized biocatalysts based on cysteine proteases bound to 2-(4-acetamido-2-sulfanilamide) chitosan and research on their structural features. *Polymers*. 2022;14: 3223. <https://doi.org/10.3390/polym14153223>

21. Burri B., Jacob R. *Human metabolism and the requirement for vitamin C*. In: *Vitamin C in health and disease*. Packer L., Fuchs J. (eds.). New York: Marcel Dekker Inc., 1997; 25–58.

22. Arrigoni O., De Tullio M. C. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2002;1569: 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(01\)00235-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(01)00235-5)

23. Homaei A. A., Sajedi R. H., Sariri R., Seyfzadeh S., Stevanto R. Cysteine enhances activity and stability of immobilized papain. *Amino Acids*. 2010;38: 937–942. <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0302-3>

24. Storer A. C., Menrad R. Chapter 419 – Papain. In: *Handbook of Proteolytic Enzymes*. Rawlings N. D., Salvesen G. (eds.). Academic Press; 2013. Vol. 2, pp. 1858–1861. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-382219-2.00418-x>

25. Kyoichi O., Ohnishi T., Tanaka S. Activation and inhibition of papain. *The Journal of Biochemistry*. 1962;51(5): 372–374. <https://doi.org/10.1093/oxford-journals.jbchem.a127547>

26. Purr A. The activation phenomena of papain and cathepsin. *Biochemical Journal*. 1935;29(1): 13–20. <https://doi.org/10.1042/bj0290013>

27. Kanazawa H., Fujimoto S., Ohara A. On the mechanism of inactivation of active papain by ascorbic acid in the presence of cupric ions. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 1994;17(6): 789–793. <https://doi.org/10.1248/bpb.17.789>

28. Rebouche C. J. Ascorbic acid and carnitine biosynthesis. *The American Journal of Clinical Nutrition*.

1991;54(6): 1147S–1152S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/54.6.1147s>

29. Carr A. C., Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1999;69(6): 1086–1107. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.6.1086>

30. Gegel N. O., Zudina I. V., Malinkina O. N., Shipovskaya A. B. Effect of ascorbic acid isomeric forms on antibacterial activity of its chitosan salts. *Microbiology*. 2018;87(5): 732–737. <https://doi.org/10.1134/S0026261718050107>

Информация об авторах

Гончарова Светлана Сергеевна, м. н. с. кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет (Воронеж, Российская Федерация).

<https://orcid.org/0000-0003-3381-2008>

Olshannikovas@gmail.com

Редько Юлия Александровна, магистрант кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет (Воронеж, Российская Федерация).

Лавлинская Мария Сергеевна, к. х. н., с. н. с. кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, с. н. с. НИЛ «Биоресурсный потенциал приморской территории», Севастопольский государственный университет (Севастополь, Российская Федерация).

<https://orcid.org/0000-0001-9058-027X>

maria.lavlinskaya@gmail.com

Сорокин Андрей Викторович, аспирант кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидной химии, Воронежский государственный университет, м. н. с. кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет, м. н. с. НИЛ «Биоресурсный потенциал приморской территории», Севастопольский государственный университет (Севастополь, Российская Федерация).

<https://orcid.org/0000-0001-5268-9557>

andrew.v.sorokin@gmail.com

Холявка Марина Геннадьевна, д. б. н., профессор кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет (Воронеж, Российская Федерация), профессор кафедры «Физика» Севастопольского государственного университета (Севастополь, Российская Федерация).

<https://orcid.org/0000-0002-1390-4119>

holyavka@rambler.ru

Кондратьев Максим Сергеевич, к. ф.-м. н., заведующий лабораторией структуры и динамики биомолекулярных систем, Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН» (Пушино, Российская Федерация).

<https://orcid.org/0000-0001-6717-4206>
ma-ko@bk.ru

Артюхов Валерий Григорьевич, д. б. н., профессор, заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет (Воронеж, Российская Федерация).

<https://orcid.org/0000-0002-5872-8382>
artyukhov@bio.vsu.ru

Поступила в редакцию 03.10.2022; одобрена после рецензирования 15.11.2022; принята к публикации 23.11.2022; опубликована онлайн 25.06.2022.