

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 541.183.123.8

doi: 10.17308/sorpchrom.2025.25/13276

Расчет некоторых равновесных параметров и термодинамических характеристик сорбции при иммобилизации папаина на волокнистых носителях

Ирина Викторовна Шкутина^{1✉}, Наталья Владимировна Мироненко²,
Владимир Федорович Селеменев², Екатерина Геннадьевна Батоцыренова^{1,3},
Наталья Владиленовна Кузьмина¹

¹Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия, im55@mail.ru ✉

²Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

³Научно-клинический центр токсикологии им. акад. С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Разработка и внедрение иммобилизованных препаратов ферментов является актуальным и перспективным направлением в современной фармацевтической практике. Лекарственные формы, в состав которых входит протеолитический фермент папаин (КФ 3.4.22.2), обладают противовоспалительным и регенерирующим действием и эффективны для лечения нарушений кожного покрова. В данной работе рассматриваются условия получения иммобилизованных препаратов папаина с применением в качестве носителей волокнистых полиэлектролитов на основе полипропилен-стирол-дивинилбензольной матрицы: слабокислотного катионообменника К-4 и высокоосновного анионообменника А-1.

Адсорбционную иммобилизацию проводили при температурах $293 \pm 2\text{K}$, $313 \pm 2\text{K}$ с использованием метода переменных концентраций в интервале $0.2\text{--}5.0 \cdot 10^{-2}$ ммоль/дм³, pH 6.5. Выявлено, что фиксация белка на волокнах при температуре $313 \pm 2\text{K}$ описывается моделью Ленгмюра. Анализ экспериментально полученных изотерм сорбции папаина при $293 \pm 2\text{K}$ показал, что с увеличением концентрации папаина во внешнем растворе процесс адсорбции обусловлен преимущественно взаимодействием в фазе носителя белковых макромолекул. Образование полимолекулярных слоев фермента описывается уравнением Брунауэра-Эммета-Теллера (БЭТ). Наиболее значимый вклад в полную сорбционную емкость волокнистых носителей вносит физическая сорбция. Сделано предположение, что при этом имеет место формирование супрамолекулярных структур в виде ассоциатов белка. Каталитическая активность гетерогенных биокатализаторов при pH 6.5 составляет 47-87% от ферментативной активности растворимого папаина.

Проведен расчет равновесных параметров сорбции белка рассматриваемыми носителями (констант, характеризующих взаимодействия папаин-волокнистый носитель, папаин-папаин) и некоторых термодинамических характеристик исследуемого процесса иммобилизации (свободной энергии Гиббса, энтальпии, энтропии). Экспериментально подтверждена возможность применения данного способа иммобилизации папаина на волокнистых сорбентах.

Ключевые слова: иммобилизация, папаин, волокнистые полиэлектролиты, каталитическая активность, гетерогенный биокатализатор.

Благодарности: работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2024-2026 годы, проект FZGU-2024-0009.

Для цитирования: Шкутина И.В., Мироненко Н.В., Селеменев В.Ф., Батоцыренова Е.Г., Кузьмина Н.В. Расчет некоторых равновесных параметров и термодинамических характеристик сорбции при иммобилизации папаина на волокнистых носителях // Сорбционные и хроматографические процессы. 2025. Т. 25, № 4. С. 480-489. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2025.25/13276>

Original article

Calculation of some equilibrium parameters and thermodynamic characteristics of sorption in the process of papain immobilization on fibrous carriers

Irina V. Shkutina^{1✉}, Natalya V. Mironenko², Vladimir F. Selemenov²,
Ekaterina G. Batotsyrenova^{1,3}, Natalia V. Kuzmina¹

¹St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation, irn55@mail.ru✉

²Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

³Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. One of the current and promising areas in modern pharmaceutical practice is the development and implementation of immobilized enzyme preparations. Pharmaceutical forms containing the proteolytic enzyme papain (EC 3.4.22.2) have got anti-inflammatory, antioxidant, immunostimulating and regenerating effects and they are effective for treatment of various skin lesions and purulent complications. Immobilization of enzymes is aimed at obtaining prolonged-action drugs due to their increased stability and increased half-life of the enzyme, facilitating the diffusion of the substance in the human body, preventing autolysis, and increasing the resistance of the protein macromolecule to denaturing factors. This paper discusses the adsorption immobilization of papain using fibrous ion exchangers based on a polypropylene-styrene-divinylbenzene matrix as carriers: a weakly acidic cation exchanger K-4 and a highly basic anion exchanger A-1. Adsorption immobilization was carried out at temperatures of 293 ± 2 K, 313 ± 2 K using the variable concentration method in the range of $0.2-5.0 \cdot 10^{-2}$ mmol/dm³, pH 6.5. It was revealed that protein sorption on fibers at the temperature of 313 ± 2 K is described by the Langmuir model. Analysis of the obtained papain sorption isotherms the 293 ± 2 K showed that with an increase of the papain concentration in the external solution, the adsorption process is mainly due to protein-protein interactions. The formation of polymolecular layers of the enzyme is described by the Brunauer-Emmett-Teller equation. Physical sorption makes the most significant contribution to the total sorption capacity of fibrous carriers. An assumption has been made that in this case, supramolecular structures in the form of protein associates are formed. The catalytic activity of heterogeneous biocatalysts at pH 6.5 is 47-87% of the enzymatic activity of soluble papain.

In order to predict the conditions of enzyme binding to the carriers, the equilibrium parameters of protein sorption by the carriers under consideration (constants characterizing the interactions papain-fibrous carrier, papain-papain) and some thermodynamic characteristics of the immobilization process under study (sorption process energy, enthalpy, entropy) were calculated.

The maximum values of the sorption parameter and the constants of monomolecular sorption K_s , calculated using the BET equation for K-4 and A-1 at 293 K, are characterized by higher values compared to the values obtained on hand of the Langmuir equation. This fact indicates the predomination of protein-protein interactions in the system during immobilization with an increase in the concentration of the solution. The calculated filling constant of the K_L polylayers for K-4 takes on greater values ($K_L = 3.97$ dm³/mmol) compared to ($K_L = 2.89$ dm³/mmol), which indicates a greater affinity for the studied enzyme of this carrier. The results of the study can be considered as one of the stages in the technology of developing drugs production based on immobilized forms of the proteolytic enzyme papain.

Key words: immobilization, papain, fibrous polyelectrolytes, catalytic activity, heterogeneous biocatalyst.

Acknowledgments: the work was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of the state assignment for universities in the field of scientific activity for 2024-2026, project FZGU-2024-0009.

For citation: Shkutina I.V., Mironenko N.V., Selemenov V.F., Batotsyrenova E.G., Kuzmina N.V. Calculation of some equilibrium parameters and thermodynamic characteristics of sorption in the process of papain immobilization on fibrous carriers. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2025. 25(4): 480-489. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2025.25/13276>

Введение

На сегодняшний день препараты, содержащие ферменты, находят все большее применение в различных областях

медицины. Использование ряда энзимов в нативном состоянии не всегда эффективно, поскольку белки весьма лабильны

и могут подвергаться протеолизу. Фиксация на нерастворимой матрице носителя биологически активных веществ позволяет создавать линию лекарственных препаратов, имеющих комплексный спектр фармакологического действия по сравнению с индивидуальными соединениями. Благодаря стабилизации и цикличности действия гетерогенного биокатализатора обеспечивается пролонгированность действия ферментного препарата, появляется возможность моделирования диффузионных процессов, направленное регулирование температурного оптимума и кислотности среды, снижается опасность ингибирования энзима. Разделение фермента и реакционной среды позволяет повторно применять биокатализатор, что обеспечивает экономическую выгоду процесса [1-3]. Перевозочные средства на основе растворимых и иммобилизованных форм ферментов все чаще применяются для ранозаживления в современной медицинской практике, и, как следствие, их производство является одной из интенсивно развивающихся областей химии полимеров медицинского назначения [4,5].

Папаин (КФ 3.4.22.2) относится к монотиоловым цистеиновым эндопротеазам. Обладая противовоспалительными свойствами, папаин эффективен при синтезе лекарственных препаратов с регенерирующим и ранозаживляющим эффектом. На основе данного фермента изготавливаются лекарственные средства, применяемые при лечении гнойно-воспалительных повреждений кожи. Не оказывая непосредственного действия на очаг воспаления, энзим тем не менее ускоряет процессы регенерации тканей и стимулирует метаболизм. Также папаин способен разрушать токсичные вещества, накапливающиеся в очаге воспаления, и нейтрализует бактериальные токсины [6,7].

Результативным подходом оказалась иммобилизация папаина на волокнистых материалах [8-10]. Преимущество воло-

кон типа ФИБАН перед зернистыми носителями заключается в ускорении сорбционных процессов, более эффективной регенерации, гидролитической устойчивости к действию агрессивных сред (кислот, щелочей, регенерирующих агентов). По сравнению с нативными энзимами иммобилизация способствует более высокой устойчивости ферментных препаратов к микробной деградации. Отмечается, что на основе волокон была получена матрица для создания гемосорбентов, характеризующихся хорошей биосовместимостью [11].

Целью данной работы являлось изучение взаимодействия в системе папаин-волокнистый носитель для направленного поиска условий получения иммобилизованного биокатализатора.

Экспериментальная часть

В работе объектом исследования при проведении иммобилизации выступал протеолитический фермент папаин, $pI=8.75$ («Sigma-Aldrich»). В качестве субстрата для реакции гидролиза использовался азоказеин («Sigma-Aldrich»). Сорбентами для адсорбционной иммобилизации папаина были выбраны волокнистые полиэлектролиты ФИБАН (табл.1).

При подготовке носителей к работе использовали методики кондиционирования ионообменников [12]. Сорбционное равновесие в системе «папаин – волокнистый полиэлектролит» исследовали в термостатических условиях при температурах $293\pm 2\text{K}$, $313\pm 2\text{K}$ методом переменных концентраций. В конические колбы с притертой крышкой помещали навески в воздушно-сухом состоянии каждого из рассматриваемых сорбентов массой 1.0000 ± 0.0002 г и добавляли раствор папаина объемом 100 мл с концентрациями $0.2\text{--}5.0\cdot 10^{-2}$ ммоль/дм³ (рН 6.5). Растворы папаина готовили на основе 0.1 М фосфатного буфера.

Содержимое колб выдерживали в режиме периодического перемешивания

Таблица 1. Характеристики волокнистых материалов ФИБАН

Table 1. Characteristics of fibrous materials FIBAN

Тип волокна	Основа	Тип	Функциональная группа	COE, ммоль/г
К-4	ПП-СТ-ДВБ	монофункциональный слабокислотный	-COOH	3.0
А-1	ПП-СТ-ДВБ	монофункциональный сильноосновный	-N ⁺ (CH ₃) ₃	2.8

ПП-СТ-ДВБ – полипропилен-стирол-дивинилбензол; PP-ST-DVB – polypropylene-styrene-divinylbenzene

фаз в течение 4 часов при температуре 293±2К и 3 часов при температуре 313±2К до установления равновесия в системе. Время, достаточное для достижения равновесия, было заранее определено в ходе предварительных кинетических опытов методом ограниченного объема. Равновесные фазы разделяли фильтрованием, отмывка от неиммобилизованной формы фермента проводилась буферным раствором до отсутствия в промывных водах белка.

Фильтрат анализировали на содержание белка с помощью спектрофотометрии («Shimadzu UV-1800») методом Лоури. Процесс адсорбционной иммобилизации папаина считался завершенным, если с течением времени концентрация папаина в растворе оставалась постоянной. Для количественного определения иммобилизованного папаина в ферментных препаратах использовали модифицированный метод Лоури [13]. Сорбционный параметр емкости волокнистых носителей по отношению к энзиму определяли по разности концентраций исходного и равновесного растворов.

Каталитическую активность папаина рассчитывали по методу Кунитца [14]. Анализ ферментативной активности проводили по скорости реакции гидролиза субстрата до пептидов и аминокислот с последующим фотометрическим определением (КФК-3-01) их количества. Растворы субстрата готовили на основе 0.2 М ацетатного буфера (рН 4.0-6.0), 0.1 М фосфатного буфера (6.0-8.0) и 0.1 М

трис-буфера (8.0-9.0). Кислотность среды контролировали с помощью рН-метра ИТАН. За единицу каталитической активности принимали количество энзима, которое в экспериментальных условиях за 1 мин гидролизует 1 мкМ азоказеина.

В ходе проведенных опытов по адсорбционной иммобилизации стандартное отклонение не превышало величину 0.05.

Обсуждение результатов

При иммобилизации белковых соединений следует учитывать их специфические особенности (большой размер молекул, наличие различных функциональных групп, входящих в состав аминокислот, образующих полипептид, поверхностную активность и др.), а также свойства носителя. При определении факторов, оказывающих значимое влияние на процесс иммобилизации, необходимо принимать во внимание прежде всего концентрацию раствора, температуру, кислотность среды.

В ходе полученных экспериментальных данных отмечено, что максимальная сорбция папаина как для слабокислотного катионообменника К-4, так и для высокоосновного анионообменника А-1 наблюдается при температуре 293 К (рис.1). Представленные изотермы сорбции папаина при данной температуре, учитывая классификацию ИУРАС, основанную на классификации Брунауэра, относятся к IV типу. S-образная форма изотерм была также выявлена при исследо-

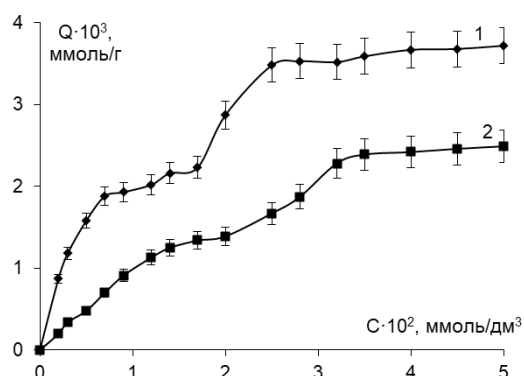


Рис. 1. Изотермы сорбции папаина на К-4 (1) и А-1 (2) при pH 6.5, 293 К: С – равновесная концентрация белка в растворе, ммоль/дм³.

Fig. 1. Isotherms of papain sorption on K-4 (1) and A-1 (2) at pH 6.5, 293 K: C is the equilibrium concentration of protein in the solution, mmol/dm³

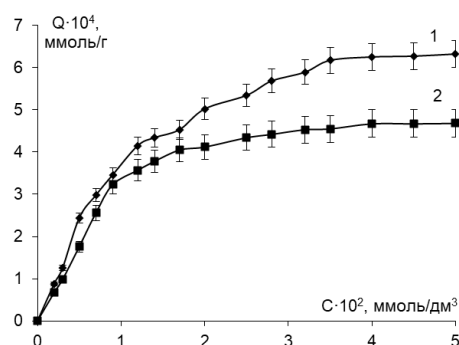


Рис. 2. Изотермы сорбции папаина на К-4 (1) и А-1 (2) при pH 6.5, 313 К: С – равновесная концентрация белка в растворе, ммоль/дм³.

Fig. 2. Isotherms of papain sorption on K-4 (1) and A-1 (2) at pH 6.5, 313 K: C is the equilibrium concentration of protein in the solution, mmol/dm³

вании процесса адсорбционной иммобилизации других ферментов (глюкоамилазы, инулиназы, амилазы) на волокнистых ионообменниках ФИБАН [15-17].

При фиксации папаина на рассматриваемых носителях при концентрации белка в растворе менее $1.0 \cdot 10^{-2}$ ммоль/дм³ на изотермах наблюдается практически линейная зависимость, и далее происходит формирование незначительного горизонтального плато, соответствующего мономолекулярному слою энзима. Следует отметить, что образующийся адсорбционный слой белка, имеющего трехмерную пространственную структуру, которая представлена двумя отличающимися друг от друга доменами, в большинстве случаев не может компенсировать возникающую избыточную поверхностную энергию. С возрастанием концентрации папаина в растворе на поверхности носителя появляются новые дополнительные центры адсорбции и образуются комплексы с двумя и более молекулами сорбата; в результате связывание фермента с ионообменниками уже будет характеризоваться полислойной адсорбцией.

Молекула полипептида включает 212 аминокислотных остатков с некоторым преобладанием в составе белка тирозина

и триптофана. Входящие в состав аминокислот функциональные группы отличаются природой и структурой бокового радикала. Это обуславливает их различную способность к образованию ассоциатов в фазе носителя, формирующихся за счет ван-дер-ваальсовых, электростатических сил, водородных связей и ведущих к появлению структурированных супрамолекулярных комплексов. Вероятно, в образовании межмолекулярных связей определенную роль играют также π - π взаимодействия электронных систем аминокислот и матрицы носителей. Кроме того, при взаимодействии фермента с волокнами следует учитывать количество растворителя и его межфазное перераспределение. Гидрофобные радикалы остатков аминокислот защищают полярные участки белковой молекулы от гидратации, что приводит к усилению электростатического притяжения в системах «сорбент-белок», «белок-белок».

При температуре 313 К на изотермах практически отсутствует перегиб, и снижается сорбционный параметр (рис. 2). Изотермы связывания белка волокнистыми ионообменниками К-4 и А-1 при данной температуре имеют вид кривых с насыщением и описываются уравнением

Таблица 2. Величины адсорбционных параметров, рассчитанных с использованием уравнений Ленгмюра и Брунауэра-Эммета-Теллера
Table 2. Values of adsorption parameters calculated using the Langmuir and Brunauer-Emmett-Teller equations

Сорбент	Расчет по уравнению Ленгмюра			Расчет по уравнению БЭТ			
	$Q_s \cdot 10^{-3}$, ммоль/г	K_s	R^2	$Q_s \cdot 10^{-3}$, ммоль/г	K_s , дм ³ /ммоль	K_L , дм ³ /ммоль	R^2
К-4 (1)	2.13	1.34	0.95	2.35	1.86	3.97	0.94
А-1(1)	1.22	1.28	0.96	1.48	1.72	2.89	0.96
К-4(2)	0.73	1.16	0.98	-	-	-	-
А-1(2)	0.51	1.05	0.97	-	-	-	-

1– 293 К; 2– 313 К; где $Q_s \cdot 10^{-3}$ – предельное количество сорбированного белка (емкость монослоя), ммоль/г; K_s – константа сорбционного равновесия заполнения монослоя слоя, дм³/ммоль; K_L – константа сорбционного равновесия заполнения полимолекулярных слоев, дм³/ммоль

Таблица 3. Термодинамические характеристики сорбции папаина волокнистыми носителями
Table 3. Thermodynamic characteristics of papain sorption by fibrous carriers

Сорбент	Температура, К	$-\Delta G^*$, кДж/моль	$-\Delta H^*$, кДж/моль	$-\Delta S^*$, кДж/моль
К-4	293	24.5	39.6	15.1
А-1	293	19.7	36.4	16.7
К-4	313	21.3	34.8	13.5
А-1	313	18.2	33.6	15.4

Ленгмюра. Установлено, что с возрастанием температуры общее количество иммобилизованного белка уменьшается, так как кинетическая энергия макромолекулы увеличивается, что, в свою очередь, приводит к ослаблению межмолекулярных взаимодействий.

Более высокие значения сорбционной емкости по отношению к белку выявлены для волокнистого катионообменника К-4 (при температуре 293 К – $3.72 \cdot 10^{-3}$ ммоль/г; при температуре 313 К – $6.32 \cdot 10^{-4}$ ммоль/г), чем у анионообменника А-1 при рассматриваемых температурах. Можно предположить, что наряду с физической адсорбцией определенная роль при закреплении фермента на волокнистых полиэлектролитах принадлежит процессу ионного обмена, поскольку при рН 6.5 часть энзима находится в форме катиона.

На основании линеаризованных уравнений Ленгмюра и БЭТ во всем диапазоне концентраций рассчитаны равновесные характеристики процесса иммобилизации папаина на исследуемых носителях

(табл.2) [18,19]. Величины сорбционного параметра и констант мономолекулярной сорбции K_s , вычисленные по уравнению БЭТ для К-4 и А-1 при 293 К, характеризуются более высокими значениями по сравнению со значениями, полученными на основании уравнения Ленгмюра. Данный факт свидетельствует о том, что при иммобилизации с возрастанием концентрации раствора в системе преобладают белок-белковые взаимодействия. Рассчитанная константа заполнения полислоев K_L для К-4 выше ($K_L=3.97$ дм³/ммоль), чем для А-1 ($K_L=2.89$ дм³/ммоль), что подтверждает большее сродство к исследуемому ферменту карбоксильного полиэлектролита и усиление взаимодействия макромолекул папаина между собой.

Для расчета термодинамических величин процесса иммобилизации папаина (табл. 3) учитывали участок изотерм сорбции, соответствующий монослойному закреплению сорбата при двух рассматриваемых температурах. При определении термодинамических параметров

проводили линеаризацию изотерм сорбции фермента по уравнению Ленгмюра [20].

Кажущуюся энтальпию сорбции (ΔH^*) папаина волокнистыми полиэлектролитами вычисляли по уравнению Вант-Гоффа:

$$\Delta H^* = \frac{RT_1T_2}{T_2 - T_1} \ln\left(\frac{K_{T_2}}{K_{T_1}}\right) \quad (1)$$

где K_{Ti} – константа сорбционного равновесия при температуре системы T_i ; $R = 8.314$ Дж/(моль·К) – универсальная газовая постоянная.

Определение свободной энергии Гиббса (ΔG^*) процесса иммобилизации фермента проводилось по уравнению:

$$\Delta G^* = -RT \ln K \quad (2)$$

Величину энтропийного вклада ($T\Delta S^*$) оценивали по уравнению:

$$T\Delta S^* = \Delta H^* - \Delta G^* \quad (3)$$

Отрицательные значения изменения свободной энергии Гиббса являются подтверждением самопроизвольного процесса иммобилизации белка на волокнистых носителях. Значения ΔG^* находятся в интервале $-18.2 \div 24.5$ кДж/моль, что указывает на слабые межмолекулярные взаимодействия, проявляющиеся при закреплении сорбата на волокнах [20]. Полученные при расчете более низкие значения свободной энергии Гиббса для комплекса папаин – К-4 согласуются с более высокими значениями сорбционного параметра при поглощении фермента на данном носителе.

С увеличением температуры энтальпийная составляющая изменяется незначительно, что подтверждает прочность связей в исследуемой системе. Полученные при иммобилизации отрицательные значения энтропии являются результатом структурирования системы.

Ключевым фактором при связывании папаина с носителями является процент сохранения ферментом каталитической активности, обусловленной конформационной и молекулярной подвижностью гетерогенного биокатализатора. Необходимо отметить, что важным условием

процесса иммобилизации является взаимодействие с носителем только тех функциональных групп энзима, которые не определяют его каталитическую активность, т.е. не находятся в составе активного центра и не располагаются в непосредственной близости от него. Входящие в состав активного центра папаина цистеин-25 и гистидин-159 при иммобилизации должны быть защищены от окисления и не должны экранироваться. Однако на практике данное условие трудно реализовать в полной мере, поскольку активный центр папаина – самая «активная» и реакционноспособная часть его макромолекулы, поэтому активный центр и его ближайшее окружение чаще всего в той или иной мере взаимодействуют с носителем.

Для сравнительной оценки образцов нативного и иммобилизованного биокатализатора была исследована зависимость показателя каталитической активности от концентрации ионов водорода (рис. 3). Установлено, что максимальную активность иммобилизованные препараты, также как и нативная форма энзима, проявляют в диапазоне pH 5.5-8.0. Этот показатель важен для эффективного лечения гнойных ран, в процессе которого уровень кислотности среды должен постоянно поддерживаться в пределах pH 6.5-8.0 [21-23]. Наиболее высокое значение активности выявлено для препарата папаин – К-4 (87% от активности нативного папаина, pH 6.5). Предполагается, что активный центр не принимает значительного участия во взаимодействии с носителем.

Для иммобилизованного папаина при температуре 313 К его активность уменьшается и составляет 35-49% от активности нативного папаина (при pH 6.0-7.0), хотя кривая зависимости pH от активности свободного фермента более пологая по сравнению с биокатализаторами, полученными при 293 К.

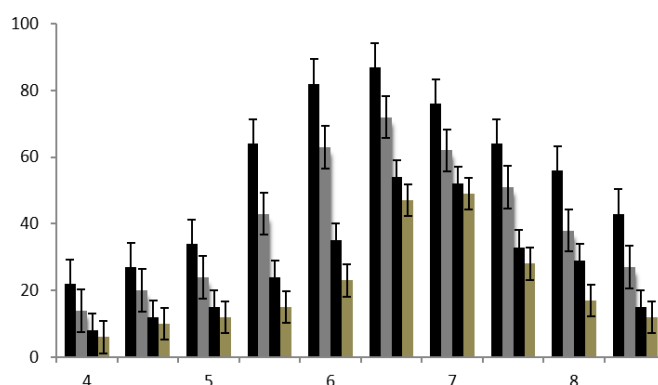


Рис.3. Процент сохранения каталитической активности образцов иммобилизованного папаина (А, %) в зависимости от pH равновесного раствора.

К-4 (1), А-1 (2) при температуре 293 К; К-4 (3), А-1 (4) при температуре 313 К.

Активность нативного препарата – 1200 Ед/мг.

Fig. 3. Percentage of retention of catalytic activity of immobilized papain samples (А, %) depending on the pH of the equilibrium solution. К-4 (1), А-1 (2) at a temperature of 293 К; К-4 (3), А-1 (4) at a temperature of 313 К.

Хотя для всех полученных образцов папаина при иммобилизации наблюдалось некоторое снижение каталитической активности, все же следует отметить, что иммобилизованные препараты более стабильны по сравнению с нативными энзимами, что позволяет применять их в течение длительного периода.

Закключение

Исследована адсорбционная иммобилизация папаина в концентрационном интервале $0.2-5.0 \cdot 10^{-2}$ ммоль/дм³ при температурах 293 ± 2 К, 313 ± 2 К. Определены величины сорбционных параметров фиксации папаина на волокнистых носителях, проанализированы термодинамические параметры процесса иммобилизации.

Для сравнительной оценки поведения фермента в составе волокнистых поли-

мерных материалов по сравнению с нативным энзимом получена зависимость каталитической активности от концентрации ионов водорода. Экспериментально подтверждено сохранение активности фермента при исследуемом способе иммобилизации.

Результаты данной работы можно рассматривать как один из этапов в технологии разработки лекарственных препаратов, в основе которых используются иммобилизованные формы протеолитического фермента папаин.

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.

Список литературы/References

1. Blednov A.V., *Bulletin of Pharmacy*, 2005; 27(1): 9-17. (In Russ.)
2. Bunyatyan N.D., Zainkova N.V., Murav'eva T.I., Omel'yanova A.P., Glazova N.V. *Fundamental research*, 2015; 2: 514-517. (In Russ.)
3. Biotekhnologiya, Yu.O. Sazykin, S.N. Orekhov, I.I. Chakaleva; pod red. A.V. Katlinskogo. М.: Academy, 2008, 256 p. (In Russ.)
4. Murashkin N.N., Epishev R.V., Materikin A.I., Ambarchyan E.T., Opryatn L.A., Ivanov

R.A., *Issues of modern pediatrics*, 2020; 19(6): 420-431. <https://doi.org/10.15690/vsp.v19i6.2143> (In Russ.)

5. Matiev O., Belov A.A., *Advances in chemistry and chemical technology*, 2021; 35(12): 117-119. (In Russ.)

6. Pendzhiev A.M., Abdullaev A., *Scientific review. Medical science*, 2017; 1: 57-72. (In Russ.)

7. Misas - Villamil J.C., van- der Hoorn R.A., Doehlemann G *New Phytol.*, 2016; 212(4): 902-907. <https://doi.org/10.1111/nph.14117>

8. Gorlenko L.E., Emel'yanova G.I., Zverev M.P., Lunin V.V. Patent RF, no. 2054481, 1996. (In Russ.)
9. Holyavka M.G., Artyuhov V.G., Koroleva V.A. Patent RF, no. 2677873, 2019. (In Russ.)
10. Horunzhina S.I., Shamolina I.I., Hohlova V.A., Volf L.A., *Applied Chemistry and Microbiology*, 1978; 29 (1): 11-14. (In Russ.)
11. Polikarpov A.P., Shunkevich A.A., Grachek V.I., Medyak G.V., *Russian Chemical Journal*, 2015; 59(3): 102-11. (In Russ.)
12. Selemenov V.F., Slavinskaja G.V., Hohlov V.Ju., Ivanov V.A., Gorshkov V.I., Timofeevskaja V.D. *Praktikum po ionnomu obmenu*. Voronezh, Voronezh University Publishing House, 2004, 160 p. (In Russ.)
13. Lowry O.N., Rosebrough N.J., Faar A.L., Randall R.J., *J. Biol. Chem.*, 1951; 193: 265-275.
14. Kunitz M., *Gen Physiol.*, 1947; 30(4): 291-310. <https://doi.org/10.1085/jgp.30.4.291>.
15. Shkutina I.V., Stoyanova O.F., Selemenov V.F., *Sorbtsionnye I Khromatograficheskie Protssesy*, 2017; 17(2): 285-290. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2017.17/382> (In Russ.)
16. Shkutina I.V., Stoyanova O.F., Selemenov V.F., *Journal of Applied Chemistry*, 2005; 78(6): 1003-1005. (In Russ.)
17. Holyavka M.G., Dubovickaya A.N., Sakibaev F.A., Shkutina I.V., Mironenko N.V., Selemenov V.F., Artyuhov V.G., *Sorbtsionnye I Khromatograficheskie Protssesy*, 2020; 20(4): 523-538. (In Russ.)
18. Fridrihsberg D.A. *Kurs kolloidnoj himii*. St. Petersburg: Lan, 2010, 416 p. (In Russ.)
19. Ebadi A., Soltan Mohammadzadeh J.S., Khudiev A., *Adsorption*, 2009; 15: 65-73. <https://doi.org/10.1007/s10450-009-9151-3>
20. Civadze A.Yu., Rusanov A.I., Fomkin A.A., Voloshchuk A.M., Tovbin Yu.K. *Fizicheskaya himiya adsorbtsionnyh yavlenij*. M.: Border, 2011. 304 p. (In Russ.)
21. Zinov'ev E.V., Asadulaev M.S., Komissarov I.A., Shemet M.V., Yudin V.E., Stoyanovskij R.G., Smirnova N.V., Shabunin A.S., Luk'yanov S.A., Shalonya T.A., Kryukov A.E., Arcimovich I.V., Kostyakov D.V., *Pediatr*, 2017; 8(3): 23-31. <https://doi.org/10.17816/PED8323-31> (In Russ.)
22. Semiglazov A.V., Zinov'ev E.V., Kostyakov D.V., Soloshenko V.V., Krylov P.K., Zavorotnij O.O., *Russian biomedical research*, 2023; 8(1): 32-36. <https://doi.org/10.56871/RBR.2023.51.81.005> (In Russ.)
22. Konstantinova M.V., Hajcev N.V., Kravcova A. A., Balashov L. D., *Pediatr*, 2015; 6(2): 85-95. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

И.В. Шкутина – к.б.н.; доцент кафедры общей и медицинской химии им. проф. В.В. Хорунжего Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, г. Санкт-Петербург; Санкт-Петербург; irn55@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6733-0627>

Н.В. МIRONENKO – к.х.н.; заведующий кафедрой естественных дисциплин, доцент кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж; Воронеж, natashamir@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3049-6647>, <https://orcid.org/0000-0003-3954-5628>

В.Ф. Селеменев – д.х.н.; профессор кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж; Воронеж, <https://orcid.org/0000-0002-5061-2588>

Е.Г. Батоцыренова – д.б.н., заведующий кафедрой общей и медицинской химии им. проф. В.В. Хорунжего, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург; ведущий научный сотрудник лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА Санкт-Петербург, России,

I.V. Shkutina – PhD of Biology; Associate Professor of the Department of General and Medical Chemistry named after prof. V.V. Khorunzhy, the St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg; 194100, St. Petersburg, irn55@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6733-0627>

N.V. Mironenko – PhD of Chemistry; Head of the Department of Natural Sciences, Associate Professor of the Department of Analytical Chemistry of the Voronezh State University, Voronezh; Voronezh, natashamir@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3049-6647>

V.F. Selemenov – Doctor of Chemical Science; Professor of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh; <https://orcid.org/0000-0002-5061-2588>

E.G. Batotsyrenova – Doctor of Biology Science, Head of the Department of General and Medical Chemistry named after prof. V.V. Khorunzhy, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg; Leading Researcher of the Laboratory of Biochemical Toxicology and Pharmacology, named after Academician S.N. Golikov, Scientific Center of Therapy, Federal Medical and Biological Agency of



bkaterina2009@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3827-4579>

Н.В. Кузьмина – к.х.н., доцент кафедры общей и медицинской химии им. проф. В.В. Хорунжего, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, г. Санкт-Петербург; Россия, kuznatvlad@yandex.ru

Russia, St. Petersburg, bkaterina2009@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3827-4579>

N.V. Kuzmina – Ph.D. of Chemistry, Associate Professor of the Department of General and Medical Chemistry named after prof. V.V. Khorunzhy, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg; kuznatvlad@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3954-5628>

Статья поступила в редакцию 05.06.2025; одобрена после рецензирования 02.09.2025; принята к публикации 03.09.2025.

The article was submitted 05.06.2025; approved after reviewing 02.09.2025; accepted for publication 03.09.2025.