

## РАЗРАБОТКА БИОКАТАЛИЗАТОРА НА ОСНОВЕ БРОМЕЛИНА, ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА N-СУКЦИНОИЛХИТОЗАНЕ

С. С. Ольшанникова<sup>1</sup>, Н. В. Малыгина<sup>1</sup>, М. С. Лавлинская<sup>1,2,3</sup>, А. В. Сорокин<sup>1,2,3</sup>,  
М. Г. Холявка<sup>1,2\*</sup>, В. Г. Артюхов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет»

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Поступила в редакцию 01.03.2022 г.

**Аннотация.** В основе жизни всех организмов лежат различные химические процессы. Их основная роль отводится ферментам. Ферменты – это природные биокатализаторы. Благодаря каталитической функции, энзимы обеспечивают быстрое протекание в организме или вне его огромного числа химических реакций. Протеазы расщепляют пептидные связи между аминокислотами в белках и пептидах. Бромелин (КФ 3.4.22.32) – протеолический фермент, выделенный из *Ananas comosus*.

Применение свободных форм энзимов затруднено из-за их неустойчивости к внешним воздействиям. Данная проблема решается с помощью иммобилизации ферментов на полимерных носителях. Иммобилизация приводит к изменению физико-химических и кинетических характеристик фермента за счет образования химических связей или физических взаимодействий с матрицей полимера. Поэтому для каждой пары энзим-носитель необходимо индивидуально исследовать механизмы их взаимодействия. Перспективными носителями для иммобилизации протеаз являются хитозаны и их производные.

Хитозан – это универсальный сорбент, который связывает широкий спектр веществ органической и неорганической природы, в том числе и молекулы ферментов. Хитозан и его производные являются перспективными для медицины и фармации благодаря их высокой биосовместимости и низкой токсичности.

Кислотным гидролизом в 0.1 М водном растворе соляной кислоты получены образцы хитозана с различными величинами молекулярных масс, определенными вискозиметрическим методом и равными 350 и 200 кДа. Из полученных образцов синтезированы целевые производные N-сукциноилхитозана, структура которых подтверждена методом ИК-спектроскопии, а степени замещения рассчитаны на основе титриметрических данных. Проведена иммобилизация бромелина на данных носителях, определены содержание белка и каталитическая активность препаратов. Оптимальное соотношение содержания белка (мг на г носителя), общей активности (в ед на мл раствора) и удельной активности (в ед на мг белка) выявлено при иммобилизации бромелина на матрице N-сукциноилхитозана с молекулярной массой 350 кДа.

Благодаря сочетанию относительно недорогих компонентов, предлагаемый нами технологичный метод доступен для российских лабораторий и дает перспективы дальнейшего использования иммобилизованного ферментного препарата в медицине и фармацевтической промышленности.

**Ключевые слова:** бромелин, N-сукциноилхитозан, иммобилизация.

Хитин представляет собой природный полимер, состоящий из остатков 2-ацетиламино-2-дезоксид-β-D-глюкозы, соединенных между собой β-гликозидными связями. Это самый распространенный в природе после целлюлозы полисахарид, который встречается в основном в экзоскелетах

ракообразных и насекомых, а также в клеточных стенках грибов и водорослей [1]. Хитозан представляет собой модифицированный природный полисахарид, полученный путем частичного или полного деацетилирования хитина, характеризующийся многими практически значимыми свойствами, такими как высокая биосовместимость, биоразлагаемость, сродство к клеткам человека

© Ольшанникова С. С., Малыгина Н. В., Лавлинская М. С., Сорокин А. В., Холявка М. Г., Артюхов В. Г., 2022

и животных, а также способность образовывать пленки [2]. Хитозан широко используется как пищевая добавка, в биомедицине, текстильной промышленности, при создании упаковочных материалов и сельском хозяйстве.

Однако из-за особенностей строения хитозана, он не только не растворим в распространенных органических растворителях, но и ограниченно растворяется в водных средах, причем только с кислым значением pH [3]. Эти факты значительно сужают область его применения. Для решения подобных задач часто используется введение гидрофильных групп в структуру макромолекул хитозана.

В хитозане много активных амино- (группа C-2 NH<sub>2</sub>) и гидроксильных групп (вторичная группа OH C-3 и первичная группа OH C-6), которые легко реагируют с различными химическими соединениями. Использование этих активных центров хитозана для модификации и введения новых функциональных групп, очевидно, может улучшить физические и химические свойства хитозана, а также расширить области применения полисахарида и его производных. Анализ литературных данных показывает, что модификация хитозана путем взаимодействия C-2 аминогруппы является одним из наиболее распространенных способов улучшения растворимости хитозана в воде [3-5]. Например, аминогруппа хитозана может реагировать с йодметаном с образованием четвертичной аммониевой соли йодида *N*-триметилхитозана, растворимой в воде и обладающей антибактериальным действием [6]. Получение производных *N*-октилхитозана может быть достигнуто путем взаимодействия хитозана с октаналем в присутствии KВН<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O/MeOH. В то же время, введение этих новых функциональных групп превратило хитозан в сетчатую структуру, которая может выступать как носитель некоторых природных антибактериальных соединений [7]. Водорастворимый *N*-сукциноилхитозан можно получить реакцией хитозана с янтарным ангидридом, заключающейся во введении карбоксильных групп по свободной первичной аминогруппе. *N*-сукциноилхитозан – водорастворимое производное хитозана с высокой биосовместимостью, характеризующееся способностью к удержанию влаги и низкой токсичностью [8]. Он используется во многих областях деятельности человека, например, при создании инновационных ранозаживляющих материалов, систем адресной доставки лекарственных средств, гидрогелей; в

косметологии и биотехнологии [9-12]. Таким образом, наличие практически значимых свойств *N*-сукциноилхитозана, среди которых стоит выделить водорастворимость, гигроскопичность, пленкообразующую способность и др., делает его перспективным объектом для дальнейшего исследования и поиска новых сфер применения.

Протеазы (протеиназы, пептидазы или протеолитические ферменты) представляют собой сложную группу ферментов, обнаруженных в самых разных организмах, включая растения, животные и микроорганизмы. Одной из наиболее распространенных растительных протеаз является бромелин. Благодаря малой токсичности, высокой эффективности и доступности, он является интересным объектом для ученых [13,14]. Известно применение бромелина при лечении сердечно-сосудистых заболеваний, нарушений процессов свертывания крови и фибринолиза, инфекционных и воспалительных заболеваний, а также многих видов рака. Предполагается, что противовирусная, противовоспалительная, кардиопротекторная и антикоагулянтная активность бромелина могут быть использованы при дополнительной терапии пациентов с COVID-19 и пост-COVID-19. Во время распространения новых вариантов вируса SARS-CoV-2 такие полезные свойства бромелина могут помочь предотвратить эскалацию и прогрессирование заболевания COVID-19 [15].

На сегодняшний день доказано, что бромелин хорошо всасывается в организме после перорального приема и не имеет значительных побочных эффектов даже при длительном приеме. Таким образом, он может применяться для пероральной ферментной терапии пациентов. Однако протеаза чувствительна к кислотности среды, многим химическим веществам, органическим растворителям и повышенной температуре. Даже небольшие конформационные изменения могут снижать активность фермента, что ограничивает сферы его использования в медицине и фармакологии [16,17], поэтому одной из важных задач ученых является преодоление проблем со стабильностью бромелина, в основном путем разработки новых и улучшения существующих методов его стабилизации и методов его очистки. Одним из таких способов является иммобилизация ферментов. При иммобилизации энзимов применяют различные носители, такие как кремнезем, золото, хитозан и его производные [18]. Таким образом, цель настоящего исследования – разработка методики иммобилизации бромелина на водорастворимом

производном хитозана – *N*-сукциноилхитозане с различными молекулярными массами.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объектов исследования был выбран бромелин из *Ananas comosus* (Sigma, США), субстратом для гидролиза служил азоказеин (Sigma, США), для синтеза *N*-сукциноилхитозана был использован хитозан со средней молекулярной массой 600 кДа и степенью деацетилирования 0.85 (Биопрогресс, Россия).

**Синтез *N*-сукциноилхитозана осуществляли по следующей методике:** для получения хитозана с различными молекулярными массами использовали кислотный гидролиз исходного полисахарида. Навеску хитозана массой 1 г растворяли в 100 мл 2%-ного водного раствора уксусной кислоты, после чего переносили раствор в круглодонную колбу, снабженную обратным холодильником, добавляли 50 мл 0.1 М водного раствора HCl и кипятили в течение 10 или 20 минут. После смесь охлаждали до комнатной температуры, раствор нейтрализовали водным раствором аммиака до слабощелочного значения pH. Полимер из реакционной массы выделяли осаждением в изопропиловый спирт, после чего промывали дистиллированной водой и этиловым спиртом и сушили в вакуумном сушильном шкафу до постоянной массы.

Молекулярные массы деструктированного хитозана определяли общепринятым вискозиметрическим методом с помощью вискозиметра Уббелюде в смеси водных растворов 0.3 М уксусной кислоты и 0.2 М ацетата натрия при 25 °С. Из данных вискозиметрии с помощью уравнения Марка-Куна-Хаувинка-Сакурады вычисляли значения молекулярных масс:

$$[\eta] = K \times M^\alpha,$$

где  $[\eta]$  – характеристическая вязкость, дл/г, рассчитанная из данных вискозиметрии,  $M$  – средневязкостная молекулярная масса полимера,  $K$  и  $\alpha$  – константы, равные  $82 \times 10^{-5}$  дл/г и 0.76 соответственно [3].

*N*-сукциноилхитозан получали по следующей методике. Навеску хитозана массой 2 г растворяли в 200 мл 2 %-ного водного раствора уксусной кислоты. Затем растворяли 0.4 г янтарного ангидрида в 25 мл ацетона и вносили по каплям в течение 30 минут в раствор хитозана. Выдерживали полученную смесь 2 часа на водяной бане при 50 °С. После смесь охлаждали до комнатной температуры. Полимер из реакционной массы выделя-

ли осаждением в 4-метил-2-пентанон, после чего промывали этиловым спиртом, отфильтровывали и сушили в вакуумном сушильном шкафу до постоянной массы.

Модификацию хитозана подтверждали с помощью метода ИК-спектроскопии. ИК-спектры регистрировали в диапазоне частот 4000-400 см<sup>-1</sup> на спектрометре *Bruker Vertex 70* с Фурье-преобразователем (*Bruker Optics*, Германия) методом нарушенного полного внутреннего отражения.

Степень замещения полученного полимера определяли титриметрически, согласно методике, представленной в работе [19].

**Иммобилизацию бромелина на матрице хитозана и его производных осуществляли адсорбционным методом.** К 1 г *N*-сукциноилхитозана добавляли 20 мл раствора фермента (в концентрации 1 мг/мл глицинового буфера, pH 10.0), инкубировали в течение 2 часов. После окончания инкубации образовавшийся осадок (в виде геля) промывали с помощью диализа против 50 мМ трис-HCl буфера (pH 7.5) через целлофановую мембрану с размером пор 25 кДа до отсутствия в промывных водах белка (контроль осуществляли на спектрофотометре СФ-2000 при  $\lambda = 280$  нм).

Содержание белка в иммобилизованных препаратах бромелина определяли методом Лоури [20].

**Метод определения протеолитической активности бромелина.** Измерение протеолитической активности бромелина проводили по отношению к субстрату азоказеину (Sigma, США) [21]. К 50 мг образца добавляли 200 мкл трис-HCl буфера, pH 7.5, 800 мкл азоказеина (0.5 % в 50 мМ трис-HCl буфере, pH 7.5) и инкубировали 2 часа при 37 °С. Далее добавляли 800 мкл ТХУ (5 %), инкубировали 10 минут при 4 °С, затем центрифугировали в течение 3 мин при 11 700 g для удаления негидролизованного азоказеина. К 1200 мкл супернатанта добавляли 240 мкл 3 % NaOH для нейтрализации кислоты, после чего измеряли оптическую плотность опытной пробы при 410 нм в 1 см кювете. Контрольная проба содержала 800 мкл азоказеина, 800 мкл ТХУ, 50 мг образца и 200 мкл трис-HCl буфера. За единицу каталитической активности принимали количество фермента, которое в условиях эксперимента гидролизует 1 мкМ субстрата за 1 мин. Удельную протеолитическую активность бромелина рассчитывали по формуле:

$$A = D \cdot 1000 / 120 / 200 / C,$$

где  $A$  – протеолитическая активность, мкМ/мин на 1 мг белка,  $D$  – оптическая плотность при 410

нм, С – концентрация белка в пробе, мг/мл, измеренная по методу Лоури, 120 – время инкубации в минутах, 200 – объем пробы, мкл, 1000 – коэффициент для пересчета в мкМ.

Статистическую значимость различий величин контрольных и опытных показателей определяли по t-критерию Стьюдента (при  $p < 0.05$ ), поскольку все показатели характеризовались нормальным распределением.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ содержания белка в иммобилизованных препаратах показал, что наибольшее количество бромелина (в мг на г носителя) сорбируется на *N*-сукциноилхитозане с молекулярными массами 350 и 600 кДа (рис. 1).

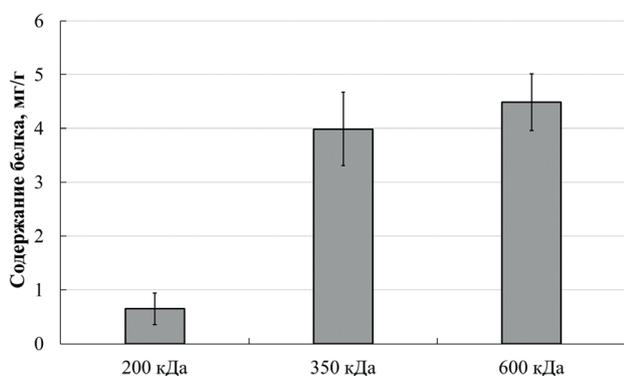


Рис. 1. Содержание белка (мг/г носителя) в препаратах бромелина, иммобилизованного адсорбционным методом на матрице *N*-сукциноилхитозана

Общая активность бромелина (в ед на мл раствора) оказалась выше при его иммобилизации на *N*-сукциноилхитозане с молекулярной массой 350 кДа (рис. 2). Наибольшую удельную активность показали образцы, адсорбированные на матрице

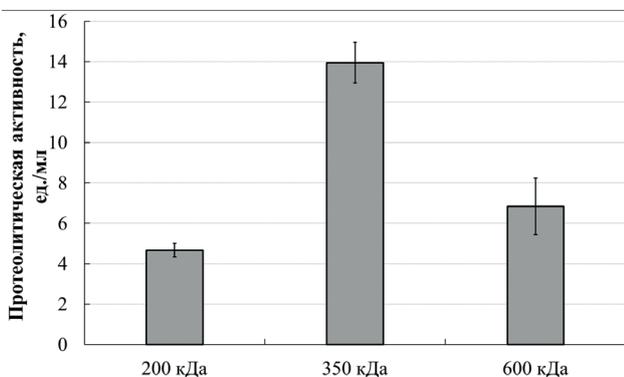


Рис. 2. Общая каталитическая активность (ед/мл раствора) в препаратах бромелина, иммобилизованного адсорбционным методом на матрице *N*-сукциноилхитозана

*N*-сукциноилхитозана с молекулярной массой 200 кДа (рис. 3).

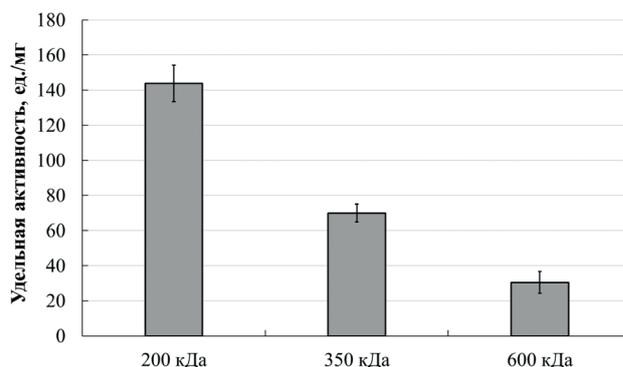


Рис. 3. Удельная каталитическая активность (ед/мг белка) в препаратах бромелина, иммобилизованного адсорбционным методом на матрице *N*-сукциноилхитозана

Таким образом, оптимальное соотношение содержания белка (мг на г носителя), общей активности (в ед на мл раствора) и удельной активности (в ед на мг белка) выявлено при иммобилизации бромелина на матрице *N*-сукциноилхитозана с молекулярной массой 350 кДа.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проделанной работы нам удалось синтезировать производные хитозана, а именно *N*-сукциноилхитозан с молекулярными массами 200, 350 и 600 кДа. Была проведена иммобилизация бромелина на данных носителях. Определены содержание белка и каталитическая активность препаратов. Оптимальное соотношение содержания белка (мг на г носителя), общей активности (в ед на мл раствора) и удельной активности (в ед на мг белка) выявлено при иммобилизации бромелина на матрице *N*-сукциноилхитозана с молекулярной массой 350 кДа.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук, номер гранта МК-2517.2022.1.3

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. Tharanathan R.N., Kittur F. S. // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2010. Vol. 43, pp. 61-87. DOI: 10.1080/10408690390826455.
2. Holyavka M., Faizullin Dzh., Koroleva V., Olshannikova S., Zakhartchenko N., Zuev Yu., Kondratyev M., Zakharova E., Artyukhov V. // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021. Vol. 180, pp. 161-176. DOI: 10.1016/j.

ijbiomac.2021.03.016.

3. Sorokin A., Lavlinskaya M. // Polymer Bulletin. 2022. Vol. 79, pp. 407-427. DOI: 10.1007/s00289-020-03521-9.

4. Panda P. K., Dasha Pr., Chang Ye., Yang J. // Materials Letters. 2022. Vol. 316. DOI: 10.1016/j.matlet.2022.132046.

5. Huaytragul J., Chalitangkoon J., Monvisade P., Chotsaeng N. // Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 2021. Vol. 123, pp. 293-301. DOI: 10.1016/j.jtice.2021.05.020.

6. Curti E., Britto D., Campana-Filho S. P. // Macromolecular Bioscience. 2003. Vol. 3, pp. 571-576. DOI: 10.1002/mabi.200300030.

7. Zhang C., Ding Ya, Yu L., Ping Q. // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2007. Vol. 55(2), pp. 192-199. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2006.11.031

8. Niu X., Zhu L., Xi L., Guo L., Wang H. // Food Control. 2020. Vol. 108, p. 106829. DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.106829.

9. Kato Y., Onishi H., Machida Y. // Biomaterials. 2004. Vol. 25(5), pp. 907-915. DOI: 10.1016/S0142-9612(03)00598-2.

10. Lima E.L., Vasconcelos N.F., Maciel J.S., Andrade F.K., Vieira R.S., Feitosa J.P.A. // Hydrogels in Regenerative Medicine. 2020. Vol. 5. DOI: 10.1007/s10856-019-6343-6.

11. Ying G.Q., Yang H., Yi Yu, Xu F. // Polymer Bulletin. 2007. Vol. 59, pp. 509-516. DOI: 10.1007/s00289-007-0790-9.

12. Zeng R., Wang Z., Wang H., Chen L., Qiao R., Hu L., Li Z. // Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed. 2013. Vol. 28, pp. 617-621. DOI: 10.1007/s11595-013-0740-3

13. Ol'shannikova S. S., Red'ko Yu. A.,

*Воронежский государственный университет  
Ольшанникова С. С., аспирант кафедры биофизики и биотехнологии*

*Малыхина Н. В., студент кафедры биофизики и биотехнологии*

*Лавлинская М. С., к.х.н., старший научный сотрудник кафедры биофизики и биотехнологии; старший научный сотрудник НИЛ «Биоресурсный потенциал приморской территории», Севастопольский государственный университет; старший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий, Воронежский государственный университет инженерных технологий*

Lavlinskaya M. S., Sorokin A.V., Holyavka M.G., Artyukhov V.G. // Pharmaceutical Chemistry Journal. 2022. Vol. 55, pp. 1240-1244. DOI: 10.1007/s11094-022-02564-8.

14. Baidamshina D.R., Koroleva V.A., Trizna E.Yu., Pankova S.M., Agafonova M.N., Chirkova M.N., Vasileva O.S., Akhmetov N., Shubina V.V., Porfiriev A.G., Semenova E.V., Sachenkov O.A., Bogachev M.I., Artyukhov V.G., Baltina T.V., Holyavka M.G., Kayumova A.R. // International Journal of Biological Macromolecules. 2020. Vol. 164, pp. 4205-4217. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.030.

15. Hikisz P., Bernasinska-Slomczewska J. // Nutrients. 2021. Vol. 13, p. 4313. DOI: 10.3390/nu13124313.

16. Varilla, C., Marccone M., Paiva L., Baptista J. // Foods. 2021. Vol. 10, p. 2249. DOI: 10.3390/foods10102249.

17. Hatano K.-I., Takahashi K., Tanokura M. // Protein Pept Lett. 2018. Vol. 25, pp. 838-852. DOI: 10.2174/0929866525666180821115432.

18. Nwagu T.N., Ugwuodo C.J. // International Journal of Biological Macromolecules. 2019. Vol. 127, pp. 406-414. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.01.061.

19. Kasaai M. R. // Carbohydrate Polymers. 2007. Vol. 68. pp. 477-488. doi:10.1016/j.carbpol.2006.11.006.

20. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Faar A.L., Randall R.J. // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. pp. 265-275.

21. Sabirova A.R., Rudakova N.L., Balaban N.P., Ilyinskaya O.N., Demidyuk I.V., Kostrov S.V., Rudenskaya G.N., Sharipova M.R. // FEBS Lett. 2010. Vol. 584(21). pp. 4419-4425. DOI:10.1016/j.febslet.2010.09.049.

*Voronezh State University  
Olshannikova S. S., postgraduate student, department of biophysics and biotechnology*

*Malykhina N. V., student, department of biophysics and biotechnology*

*Lavlinskaya M. S., PhD., Senior Researcher, Department of Biophysics and Biotechnology; Senior Researcher of Bioresource Potential of Seaside territory Laboratory, Sevastopol State University; Senior Researcher of Metagenomics and Food Biotechnologies Laboratory, Voronezh State University of Engineering Technologies*

Сорокин А. В., аспирант кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидной химии; младший научный сотрудник кафедры биофизики и биотехнологии, Воронежский государственный университет; младший научный сотрудник НИЛ «Биоресурсный потенциал приморской территории», Севастопольский государственный университет; младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий, Воронежский государственный университет инженерных технологий

Sorokin A. V., postgraduate student, department of department of Macromolecular Compounds and Colloidal Chemistry; Junior Researcher, Department of Biophysics and Biotechnology, Voronezh State University; Junior Researcher of Bioresource Potential of Seaside territory Laboratory, Sevastopol State University; Junior Researcher of Metagenomics and Food Biotechnologies Laboratory, Voronezh State University of Engineering Technologies  
E-mail: andrew.v.sorokin@gmail.com

Холявка М. Г., д.б.н., профессор кафедры биофизики и биотехнологии; профессор кафедры «Физика» Севастопольского государственного университета

Holyavka M. G., PhD., prof., department of biophysics and biotechnology; Professor of Physics Department, Sevastopol State University  
E-mail: holyavka@rambler.ru

E-mail: holyavka@rambler.ru

Артюхов В. Г., д.б.н., профессор, зав. кафедрой биофизики и биотехнологии  
E-mail: artyukhov@bio.vsu.ru

Artyukhov Valery G. – Ph.D. (biology), professor, Head of the Biophysics and Biotechnology Dept.  
e-mail: artyukhov@bio.vsu.ru

## DEVELOPMENT OF A BIOCATALYST BASED ON BROMELAIN IMMOBILIZED ON *N*-SUCCINYLCITOSAN

S. S. Olshannikova<sup>1</sup>, N. V. Malykhina<sup>1</sup>, M. S. Lavlinskaya<sup>1,2,3</sup>, A. V. Sorokin<sup>1,2,3</sup>, M. G. Holyavka<sup>1,2\*</sup>, V. G. Artyukhov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Voronezh State University

<sup>2</sup>Sevastopol State University, Sevastopol

<sup>3</sup>Voronezh State University of Engineering Technologies

**Abstract.** The life of all organisms is based on various chemical processes. Their main role is given to enzymes. Enzymes are natural biocatalysts. Due to their catalytic function enzymes allow a huge number of chemical reactions to proceed quickly in the body or outside it. Proteases cleave peptide bonds between amino acids in proteins and peptides. Bromelain (EC 3.4.22.32) is a proteolytic enzyme isolated from *Ananas comosus*.

The use of enzymes in free forms is difficult due to their instability to external influences. This problem is solved by immobilization of enzymes on insoluble carriers. Immobilization leads to a change in the physicochemical and kinetic characteristics of the enzyme due to the formation of chemical bonds and physical interactions with the polymer matrix. Therefore, for each pair of enzymes-carrier it is necessary to investigate the mechanisms of their interaction individually. Chitosans and their derivatives are promising carriers for immobilization of proteases.

Chitosan is a universal sorbent that binds a wide range of substances of organic and inorganic nature, including enzyme molecules. Chitosan and its derivatives are promising for medicine and pharmacy due to their high biocompatibility and low toxicity.

Acid hydrolysis in 0.1 M aqueous hydrochloric acid solution yielded chitosan samples with different molecular weights determined by the viscometric method and equal to 350 and 200 kDa. Target derivatives of *N*-succinylchitosan were synthesized from the obtained samples, the structure of which was confirmed by IR spectroscopy, and the degrees of substitution were calculated on the basis of titrimetric data. Bromelain was immobilized on these carriers. The protein content and catalytic activity of the preparations were measured. The optimal ratio of protein content (mg per g of carrier), total activity (in units per ml of

solution), and specific activity (in units per mg of protein) was found upon immobilization of bromelain on an *N*-succinoylchitosan matrix with a molecular weight of 350 kDa.

Due to the combination of relatively inexpensive components, the technological method proposed by us is accessible to Russian laboratories and gives prospects for further use of the immobilized enzyme in medicine and the pharmaceutical industry.

**Keywords:** bromelain, *N*-succinylchitosan, immobilization.