

Учреждение образования
«Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина»

Менделеевские чтения 2017

Сборник материалов
Международной научно-практической конференции
по химии и химическому образованию

Брест, 24 февраля 2017 года

Под общей редакцией Н.С. Ступень

Брест
БрГУ имени А.С. Пушкина
2017

УДК 16+37+54+87+371+372+373+378+504+524+538+543+544+547+573+
576+577+581+592+621+628+669+678+691+712+762+811
ББК 24.1+24.2+24.4+24.5
М50

*Рекомендовано редакционно-издательским советом Учреждения образования
«Брестский государственный университет имени А. С. Пушкина»*

Рецензенты:

кандидат технических наук, доцент Э.А. Тур
кандидат биологических наук, доцент В.И. Бойко

Редакционная коллегия:

кандидат технических наук, доцент Н.С. Ступень
старший преподаватель В.В. Коваленко
доцент В.А. Халецкий

М 50 Менделеевские чтения 2017 : сб. материалов Междунар. науч.- практ. конф, по химии и хим. образованию, Брест, 24 февр. 2017 г. / Брест, гос. ун-т им. А. С. Пушкина ; редкол.: Н. С. Ступень, В. В. Коваленко, В. А. Халецкий ; под общ. ред. Н. С. Ступень. - Брест :БрГУ, 2017.-265 с.
ISBN 978-985-555-606-1.

В материалах сборника освещаются актуальные проблемы химии и экологии, а также отражен опыт преподавания соответствующих дисциплин в высших и средних учебных заведениях.

‘ Материалы могут быть использованы научными работниками, аспирантами, магистрантами, преподавателями и студентами высших учебных заведений, учителями химии и другими специалистами системы образования.

УДК 16+37+54+87+371+372+373+378+504+524+538+543+544+547+573+
576+577+581+592+621+628+669+678+691+712+762+811
ББК 24.1+24.2+24.4+24.5

(ЯШ 978-985-555-606-1

© УО «Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина», 2017

УДК 577.151.042:577.152.344:579.841.11

Н.С. ПЫЖОВА, В.Н. НИКАНДРОВ

Беларусь, Минск, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии

**О ВЫЯВЛЕНИИ ДЕЙСТВИЯ ЭФФЕКТОРОВ
НА АКТИВНОСТЬ «НЕЙТРАЛЬНЫХ» ПРОТЕИНАЗ
ПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
РАЗЛИЧНОЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ**

Ранее [1; 2] мы уже отмечали, что одним из факторов патогенности *Pseudomonas aeruginosa* – частого возбудителя нозокомиальной пневмонии, хирургических и урологических заболеваний инфекционной этиологии – являются протеиназы. Судя по результатам расщепления белков-субстратов и ингибиторного анализа, микроорганизмы образуют несколько протеиназ, причем доминирующее значение имеют металлопротеиназы [1]. Нами описана также способность протеиназ *P. aeruginosa* расщеплять фибрин(оген) и тромбин, продуцировать субстанции, как правило подавляющие активность протеиназ, особенно сериновых и папаина, активаторов плазминогена, особенно сильно – тканевого [1; 3].

Эти исследования действия эффекторов на активность протеиназ были выполнены на объединенных пулах супернатантов культуральной жидкости и клеток разных штаммов данного микроорганизма, тогда как метаболическая специфика штаммов может заметно различаться.

Цель настоящей работы – раскрыть особенности выявления действия эффекторов на протеолитическую активность отдельных штаммов патогенных псевдомонад различной метаболической направленности.

Госпитальные штаммы микроорганизма предоставлены сотрудниками лаборатории внутрибольничных инфекций ЦНИЛ Белгосмедуниверситета. Штаммы, отобранные для исследования, с одной стороны, отличались быстрым ростом на питательных средах, обильным образованием

сине-зеленых пигментов (пиоцианина и пиовердина), высокой гемолитической активностью, включая высокую долю термостабильного гемолиза – 13/3, а с другой – обильной продукцией слизи – 12/2р₃.

Техника культивирования микроорганизма, получения супернатантов культуральной жидкости и клеток, определения активности протеиназ подробно описаны в предыдущих статьях [1–4]. Все исследования выполнены не менее чем трехкратно. Результаты обработаны статистически. Ниже в тексте приведены только статически достоверные ($p \leq 0,05$) изменения.

В предыдущей статье было показано, что признак «протеолитическая активность» штаммов *P. Aeruginosa* очень вариабелен [1]. На ряде белков-субстратов он проявляется неодинаково. В данном эксперименте в целом величины протеолитической активности обоих штаммов, за редким исключением, принципиально не отличались от ранее установленных [1] (не показано). Подтверждено, что казеин не годится для определения протеолитической активности штаммов условно патогенных микроорганизмов, несмотря на длительный период контакта протеиназ с этим белком. Сопоставление протеолитической активности штаммов 13/3 и 12/2р₃ не позволило выделить какую-либо специфику в расщеплении белков.

Результаты ингибиторного анализа фибринолитической активности бесклеточных супернатантов культуральной жидкости свидетельствуют о том, что комплексоны (этилендиаминтетраацетат и *o*-фенантролин) полностью подавляли расщепление фибрина протеиназами обоих штаммов (рисунок 1).

Это заметно отличалось от действия этих эффекторов на протеолитическую активность объединенного пула супернатантов культуральных жидкостей восьми различных штаммов [1]. Более того, фибринолитическая активность обоих штаммов полностью подавлялась диизопропилфосфатом – группоспецифическим ингибитором сериновых протеиназ, а действие *p*-хлормеркурибензоата было невелико.

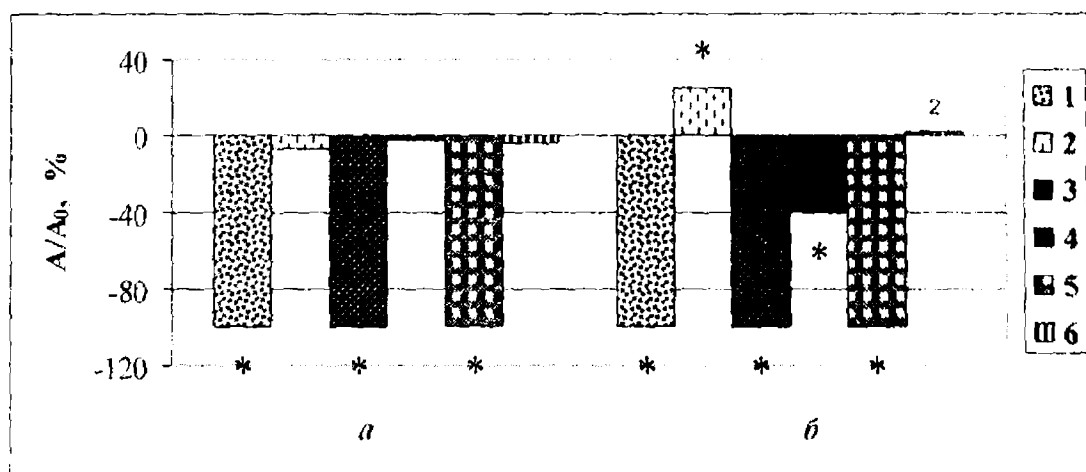


Рисунок 1 – Изменения (% к контролю) расщепления фибрина протеиназами супернатантов культуральных жидкостей патогенных штаммов 13p₃ (а) и 12/2 p₃ (б) *Pseudomonas aeruginosa* в присутствии группоспецифических ингибиторов: 1 – этилендиаминтетраацетат, 2 – *p*-хлормеркурибензоат, 3 – диизопропилфосфат, 4 – фенилметилсульфонилфторид, 5 – *o*-фенантролин, 6 – этанол в концентрации 10⁻² М. Концентрация белка-субстрата – 10 г/л, растворитель – 0,05 М трис-НСl буфер рН 7,5; *n* = 4; * – *P* ≤ 0,05

Дальнейшие исследования проведены с быстрорастущим пигментообразующим штаммом 13/3.

Наибольшее подавление желатинолитической активности его супернатанта наблюдалось при добавлении силикатов, однако с разведением проявлялся ингибирующий эффект даже NaCl, достигающий 50 % при максимальном разведении супернатанта (рисунок 2).

Выраженный ингибирующий эффект – 90 % проявлял и хлорид кальция. Нужно отметить, что ингибиторный эффект катионов Cd, Mn, Fe и Co (но не Cr и Mg) резко возрастал при уже в трех- или шестикратном разведении супернатанта культуральной жидкости. Несколько неожиданной явилась меньшая эффективность в качестве ингибитора ионов Cr(III) в сравнении с таковым Mg и даже солями натрия.

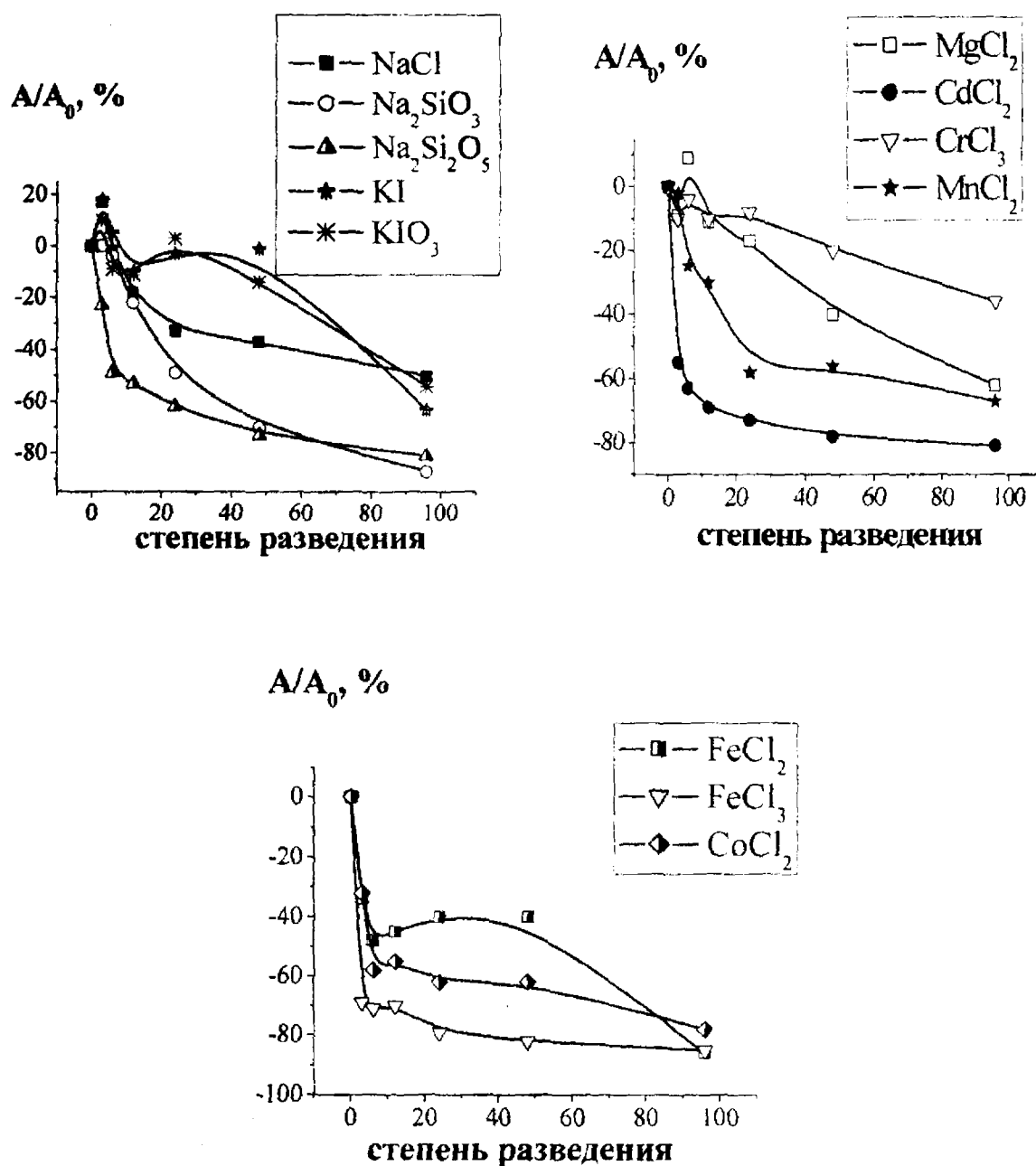


Рисунок 2 – Изменения (% к контролю) желатинолитической активности протеиназ супернатантов культуральной жидкости штамма *Pseudomonas aeruginosa* 13_{p3} при разведении супернатантов в присутствии неорганических в концентрации 10^{-2} М. Условия как в рисунке 1, $n = 3$

В отдельном эксперименте показано действие трех ингибиторов протеиназ на желатинолитическую активность этого штамма при разведении супернатанта культуральной жидкости (рисунок 3). Как и при использовании в качестве субстрата фибрина, действие *p*-хлормеркурибензоата было мини-

мально, тогда как подавление расщепления желатина *o*-фенантролином усиливалось с 37 до 100 % при разведении супернатанта в 48 раз и более. Увеличение степени действия солей металлов и ингибиторов вполне объяснимо, поскольку культуральная жидкость содержит ряд биомолекул, в том числе и белков, которые могут также взаимодействовать с эффекторами, уменьшая долю таковых для подавления активности протеиназ.

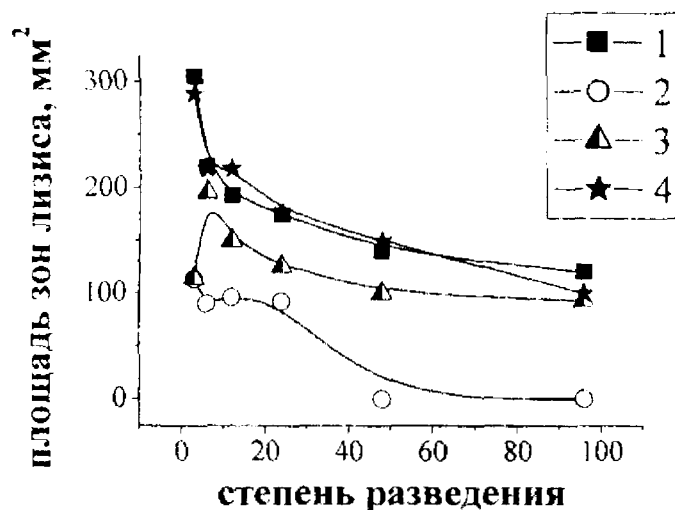


Рисунок 3 — Влияние комплексонеров и *p*-хлормеркурибензоата на желатинолитическую активность протеиназ супернатантов культуральной жидкости штамма *Pseudomonas aeruginosa* 13_{p3} при разведении супернатантов: 1 — контроль без добавок, 2 — *o*-фенантролин, 3 — диэтилдитиокарбамат, 4 — *p*-хлормеркурибензоат в концентрации 10^{-3} М. Условия как в рисунке 1; $n = 4$

Следовательно, патогенные штаммы *Pseudomonas aeruginosa* обладают большим разнообразием набора протеиназ, чем это было замечено ранее. Так, кроме металлопротеиназ они могут продуцировать сериновые протеиназы. Этой способностью обладали оба штамма, несмотря на их метаболические различия. Весьма умеренное подавление активности последних диизопропилфторфосфатом в пуле супернатантов восьми штаммов [1] может быть сопряжено с продуцированием патогенными штаммами *P. aeruginosa* субстанций, ингибирующих как раз в большей мере активность именно сериновых протеиназ [3], что делает малодоступным активный центр гидролаз для синтетического ингибитора. Отмечается также невысокая эффективность фенилметилсульфонилфторида, что может быть обусловлено (это согласуется с ранее полученными результатами [1]), большим размером его молекулы в сравнении с диизопропилфторфосфатом.

Неожиданным было увеличение фибринолитической активности супернатанта культуральной жидкости штамма 12/2_{рз} в присутствии *p*-хлормеркурибензоата. Ранее было зафиксировано парадоксальное действие на активность протеиназ с фенилметилсульфонилфторида [1]. Выявленный момент является новым и нуждается в дальнейшем изучении.

Полученные результаты, таким образом, свидетельствуют о более разнообразном наборе внеклеточных протеиназ у патогенных штаммов *P. aeruginosa*. Становится также совершенно ясной целесообразность исследования свойств каждого штамма в отдельности, а в ряде случаев – необходимости проведения исследований на разведенных образцах.

Авторы выражают благодарность Г.А. Скороходу и А.Э. Пыж за помощь в проведении исследований.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пыжова, Н. С. Особенности набора «нейтральных» протеиназ патогенных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* / Н. С. Пыжова, В. Н. Никандров // Современные проблемы инфекционной патологии человека : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии ; под ред. Л. П. Титова. – Минск : ГУ РНМБ, 2014. – Вып. 7. – С. 216–223.

2. Пыжова, Н. С. Влияние солей железа на желатинолитическую активность патогенных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* / Н. С. Пыжова, В. Н. Никандров // Проблемы устойчивого развития регионов Республики Беларусь и сопредельных стран : сб. науч. ст. IV Междунар. науч.-практ. конф., Могилев, 2 апр. 2015 г. / МГУ им. А. А. Кулешова ; редкол. : И. Н. Шарухо [и др.]. – Могилев, 2015. – С. 277–281.

3. Пыжова, Н. С. О способности патогенных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* продуцировать ингибиторы протеиназ и активаторов плазминогена / Н. С. Пыжова, В. Н. Никандров // Менделеевские чтения 2016 : сб. материалов Респ. науч.-практ. конф. по химии и хим. образованию, Брест, 26 февр. 2016 г. / Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина ; редкол.: Н. С. Ступень [и др.]. – Брест, 2016. – С. 62–67.

4. Пыжова, Н. С. Влияние биогенных фосфатов на расщепление белков протеиназами и функцию активаторов плазминогена / Н. С. Пыжова, В. Н. Никандров // Биоорг. химия. – 2008. – Т. 34, № 3. – С. 382–391.

СОДЕРЖАНИЕ

НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ХИМИИ

<i>Артемук Е.Г.</i> Содержание нитратов в продукции растениеводства приусадебных участков д. Тельмы Брестского района	3
<i>Арчибасова Я.В., Колбас Н.Ю.</i> Влияние структуры brassinosterоидов на их биологическую активность.....	6
<i>Бокшиц Ю.В., Третья Е.В., Паршикова Е.А., Шевченко Г.П.</i> Получение методом соосаждения сложнозамещенных соединений $Y_3-XLAXAL_5-YGAUO_{12}:SE$ со структурой граната.....	10
<i>Бондарь К.В., Яловая Н.П.</i> Потенциометрическое определение нитратов в химических добавках для бетона.....	15
<i>Васильева Н.Г.</i> Синтез 3-(пиперидин-1-ил)-2-алканоил-2-циклогексенонов.....	19
<i>Воробьева Т.Н., Кудако А.А.</i> Процессы гидролиза и окисления соединений олова(II) в электролите осаждения сплава Ni–Sn	22
<i>Воробьева Т.Н., Галуза М.Г., Врублевская О.Н.</i> Фазовые превращения в порошковых сплавах Cu-Sn, получаемых осаждением из растворов.....	28
<i>Гайдук Ю.С., Савицкий А.А., Ломоносов В.А.</i> Структура и газочувствительные свойства гетерогенной оксидной композиции $W_2O_3-Co_3O_4$	33
<i>Гвоздева Н.А., Пиц И.В.</i> Синтез керамических пигментов с кристаллической структурой мервинита по ресурсосберегающей технологи.....	38
<i>Демидчик А.В.</i> Морфология поверхности быстрозатвердевших фольг висмут-сурьмянистых и железо-никелевых сплавов, полученных прокаткой.....	41
<i>Дервяго А.А., Суханкина Н.В.</i> Значение химического анализа почвы для определения ее плодородия.....	44
<i>Елисеев С.Ю.</i> Ферромагнитная жидкость на основе бромидов железа	48
<i>Зданевич Ю.А., Секержицкий В.С.</i> О пионном конденсате тяжелых атомных ядер.....	51
<i>Зубец И.В.</i> Изучение способности биополимеров к разложению биологическим путем	54
<i>Зуенок Т.В., Козлова-Козыревская А.Л.</i> Проблемы анализа производственных газообразных выбросов.....	58
<i>Ильючик И.А., Никандров В.Н.</i> Влияние ионов марганца <i>in vitro</i> на протеолитическую активность в супернатантах гомогенатов клеток <i>Chlorella vulgaris</i>	61

Кадырова Э.М., Рустамова У.Н., Рафиева Х.Л., Гаджиева Х.Ф., Самадова Т.А. Абсорбция нефтезагрязненных вод.....	67
Климашевич Н.В., Ступень Н.С. Совместное влияние фосфатов и сульфатов на степень коррозии цементного клинкера.....	71
Ковалевич В.А. Процесс экстракции липоевой кислоты и методика ее определения	74
Козлова-Козыревская А.Л. Анализ почв в рамках проведения студенческого химического эксперимента: определение макро- и микроэлементов	78
Колбас А.П., Качанович П.В., Синчук О.В. Эффективность различных способов борьбы с инвазивными минерами (cameraria ohridella, рагестора robiniella).....	81
Колбас Н.Ю. Кинетические параметры реакции автоокисления адреналина в условиях <i>in vitro</i>	85
Корзюк О.В., Бутко Е.А. Рострегулирующее действие стероидных гликозидов на бобовые культуры	89
Корзюк О.В. Адаптогенное действие наномикроэлементов при воздействии ионов кадмия на растения люпина узколистного.....	93
Левчук Н.В., Василевская М.В. Исследование адсорбционных свойств волокон базальтовой фибры при умягчении воды.....	96
Лениско С.М., Кирисюк Ю.В. О потенциальных возможностях расширения спектра действия брассиностероидов.....	100
Матусевич Н.М., Жигар М.П. Физиолого-биохимические особенности зимостойкости некоторых сортов голубики садовой	105
Пыжова Н.С., Никандров В.Н. О выявлении действия эффекторов на активность «нейтральных» протеиназ патогенных штаммов <i>pseudomonas aeruginosa</i> различной метаболической направленности.....	109
Новиков Л.С. Синтез и гетероциклизация непредельных карбонильных соединений на основе 1,5 диарил-2-изобутенил-3-изопропил-1,5-дикетонов.....	115
Секерджицкий В.С., Хомич Е.М. О фазовых состояниях сверхплотного замагниченного водорода	118
Сорока А.В., Гапонюк А.Н., Брыль Е.А., Антонюк А.С. Оценка химического состава бесподстилочного навоза современных животноводческих молочно-товарных ферм и комплексов предприятий АПК Брестской области	122
Ступень Н.С., Азымов С. Исследование влияния реакции среды на агрессивность хлорид-ионов в цементном камне и стальной арматуре	126
Сулейманов Г.З., Байрамов Г.И., Кадырова Э.М., Шарифова Н.Ш. Синтез циклических карбинолов	129