

## **ВІДГУК**

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Години Діани Миколаївни  
«QSAR прогнозування та оцінка антимікробної активності імідазолієвих солей», поданої до спеціалізованої Вченої ради Д 26.220.01 в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія

**Актуальність теми дисертації.** Створення ефективних біоактивних сполук та матеріалів для медицини і біотехнологій є пріоритетним завданням біоорганічної хімії. Необхідність розробки все більшого числа фармакологічних препаратів із усе вищою біоактивністю неминуче призводить до відсікання завідомо неактивних структур-кандидатів. Одним із підходів до вирішення цієї проблеми є сучасні комп'ютерні технології – методи аналізу кількісного взаємозв'язку структура-активність (QSAR), що дозволяють здійснити апріорну оцінку властивостей хімічних сполук у поєднанні з експериментальними дослідженнями.

Не зважаючи на великий вибір біоцидних препаратів, на даний час залишається актуальною проблема розробки нових ефективних дезінфектантів. Перспективними сполуками для розробки нового покоління ефективних біоцидів є імідазолієві солі (ІмС), які в літературі отримали назву імідазолієві іонні рідини, з високою антимікробною та антибіоплівковою активністю проти широкого спектру патогенних бактерій та грибів. Тому комп'ютерне моделювання та експериментальні дослідження антимікробних і токсичних властивостей нових сполук цього ряду як потенційних біоцидів було актуальним завданням дисертаційної роботи.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконувалась у рамках наукової теми «Комп'ютерний дизайн нових біоактивних сполук та дослідження зв'язку структура-активність» (Тема 2.1.10.18-14, № державної реєстрації 0114U003042).

**Наукова новизна одержаних результатів, ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у**

**дисертації.** На основі зібраних та проаналізованих даних літератури (опублікованих до 2015 р.) сформовано оригінальні інформаційні бази про антимікробні властивості імідазолієвих солей проти певних штамів бактеріальних та грибкових культур.

Вперше на основі створених баз систематизованої інформації розроблено ефективні прогнозуючі класифікаційні та регресійні QSAR моделі для передбачення антимікробних властивостей нових сполук дослідженого ряду з урахуванням впливу типу аніона.

Продемонстровано високу ефективність класифікаційних QSAR моделей активності ІмС, у порівнянні з регресійними, для успішного пошуку нових сполук цього ряду як потенційних біоцидних агентів. Обґрунтовано використання розробленої класифікаційної QSAR моделі активності ІмС проти стандартного штаму *C. albicans* для конструювання нових ІмС як ефективних фунгістатичних засобів проти широкого спектру *Candida spp.*

Вперше встановлені показники антимікробних властивостей досліджених ІмС дозволили значно розширили експериментально-інформаційну базу про антимікробний спектр активності ІмС.

Встановлені закономірності взаємозв'язку між особливостями будови та активністю ІмС свідчать, що важливим фактором, відповідальним за рівень активності ряду досліджених сполук, є алкільний ланцюг С12 та наявність невеликих метильних, бутильних, алільних або 2-гідроксietильних радикалів для асиметричних ІмС, а для симетричних – алкільний ланцюг із 6 або 8 атомів Карбону у кожному ланцюзі.

Вперше експериментально отримані дані про гостру токсичність ІмС дозволили визначити один із підходів зниження гострої токсичності шляхом комплексоутворення високоактивних сполук із циклічним олігосахаридом  $\beta$ -циклодекстрином.

**Практичне значення одержаних результатів.** Систематизовані результати комп'ютерного моделювання про спектр антимікробних властивостей ІмС включено до бази хімічних сполук серверу ОСНЕМ як

основа для ефективного пошуку та моделювання нових ІмС в якості потенційних біоцидних агентів.

За результатами аналізу проведених віртуальних та експериментальних досліджень симетричні ІмС з кількістю атомів Карбону з С6-С8 у структурі алкільних ланцюгів є перспективними потенційними високоактивними та малотоксичними біоцидами для подальшого вивчення.

Результати QSAR моделювання та експериментальні дослідження антимікробних властивостей ІмС, а також методологічний підхід до подолання їх гострої токсичності впроваджено у навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри біомедичної інженерії НТУУ «КПІ».

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом особисто проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, їх узагальнення та інтерпретація. Результати робіт, що опубліковані у співавторстві та увійшли до дисертаційної роботи, одержані здобувачем особисто.

**Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 12 робіт, у тому числі: 5 статей у наукових фахових виданнях та 7 тез доповідей. Публікації та автореферат повністю відображають основний зміст роботи.

Оформлення дисертаційної роботи та автореферату відповідає вимогам Державних стандартів України.

**Аналіз дисертаційної роботи.** Дисертаційна робота Години Д.М. на тему: «QSAR прогнозування та оцінка антимікробної активності імідазолієвих солей», складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження та розділу експериментальних досліджень, висновків, списку використаних літературних джерел та 7 додатків.

Дисертація викладена на 207 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 19 рисунками та 16 таблицями. Список використаних джерел містить 272 найменування.

Дисертаційна робота оформлена акуратно. Матеріал роботи викладено послідовно, доступно і проілюстровано рисунками, схемами. Застосована в роботі наукова термінологія є загально визнаною, стиль викладення результатів

теоретичних і практичних досліджень, нових наукових положень, висновків і рекомендацій забезпечує доступність їх сприйняття та використання.

У першому розділі «Сучасні тенденції розвитку та використання іонних рідин» (огляд літератури) (30 сторінок) автор провів аналіз літературних джерел про сучасний стан та тенденції розвитку та використання іонних рідин у біології та медицині як перспективних біоцидних агентів із широким спектром антимікробної активності. Особливу увагу приділено сучасним методам створення прогнозуючих комп'ютерних моделей біологічних властивостей імідазолієвих солей для пошуку та розробки нових ефективних та малотоксичних біоцидів на їх основі. Проаналізував, що комп'ютерне моделювання та прогнозування біологічних властивостей до сьогодні не є стандартною процедурою і в силу недостатності та неупорядкованості експериментальних даних досліджень зумовлює дуже обмежену кількість публікацій QSPR/QSAR моделей у цій області. Дисертант показав, що дослідження в даному напрямку є виправданими та актуальними.

У другому розділі «Матеріали та методи дослідження» (11 сторінок) було створено прогнозуючі QSAR моделі, сформовані індивідуальні вибірки похідних імідазолу. Для побудови регресійних QSAR моделей використаний метод штучних нейронних мереж (Associative Neural Network, ASNN) та метод  $k$ -найближчих сусідів ( $k$ -Nearest Neighbor Method,  $k$ -NN). Класифікаційні моделі побудовані за допомогою методу випадкового лісу (WEKA-RF, Random Forest).

Для розрахунку молекулярних дескрипторів використано 6 пакетів програм, що об'єднують як дескриптори простого типу для підрахунку хімічних груп, так і дескриптори широкого спектру можливостей підрахунку хімічних структур, таких як: ALOGPS, E-State, ADRIANA.Code, Dragon V6.0, Chemaxon, Inductive descriptors, доступних на сервері OCHEM. Доцільно відмітити, що в якості додаткового дескриптора використали параметр, що описує тип аніону (Type of anion).

Точність всіх індивідуальних регресійних та класифікаційних моделей була оцінена за допомогою методу 5-разової перехресної перевірки.

Антимікробну активність сполук та їх комплексів з  $\beta$ -циклодекстрином визначено *in vitro* диско-дифузійним методом на твердому поживному середовищі за діаметрами зон затримки росту мікроорганізмів. Для дослідження антибактеріальної активності використанні наступні бактеріальні штами із колекції АТСС – грам-позитивні *Staphylococcus aureus* (АТСС 25923), *Bacillus subtilis* (АТСС 6633) та грам-негативні *Escherichia coli* (АТСС 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (АТСС 27853) та культуру гриба *Candida albicans* М 885 (АТСС 10231) і клінічні ізоляти грибів *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*.

Визначення гострої токсичності  $LD_{50}$  досліджених ІмС проведено *in vivo* на моделі гідробіонта зебрафіш (*Danio rerio*) за відомими стандартами (ОЕСР 203).

Статистичну обробку результатів проведено за допомогою стандартних комп'ютерних програм.

У третьому розділі «Результати та обговорення» (49 сторінок) наведено створення QSAR моделей антимікробної активності ІмС та її прогноз. Використання регресійних QSAR моделей для прогнозування антимікробної активності сполук дозволило виділити перспективні сполуки для дослідження антимікробної активності синтезованих ІмС. Результати мікробіологічних досліджень засвідчили, що тип аніону у структурі ІмС не впливає на рівень антибактеріальної активності сполук.

Продемонстровані результати протигрибкової активності досліджених ІмС, як ефективних біоцидних агентів, проти стандартного штаму та клінічних ізолятів гриба роду *Candida* підтвердили встановлені для антибактеріальної активності загальні закономірності дії ІмС за типом «структура-активність».

Визначені дисертантом показники  $LD_{50}$  для *Danio rerio* за класифікацією D.R. Passino виявляють різну токсичність від помірно нетоксичних до надзвичайно токсичних. Для зниження токсичності даних хімічних сполук дисертантом був застосований  $\beta$ -циклодекстрин, як відомий комплексоутворювач для зниження гострої токсичності біологічно активних

сполук. Експериментальні дослідження показали перспективність використання  $\beta$ -циклодекстрину у комплексі з ІмС для зниження гострої токсичності сполук.

В кінці третього розділу наведено загальні висновки, що витікають зі всієї дисертаційної роботи.

Робота Години Діани Миколаївни наповнена значним фактичним матеріалом, оригінальними сучасними підходами до вирішення поставлених завдань. Висновки автора ґрунтуються на достовірному фактичному матеріалі.

**Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.**

Результатом дисертаційного дослідження Години Д.М. за темою «QSAR прогнозування та оцінка антимікробної активності імідазолієвих солей» є підтвердження важливого фактору прояву високого рівня антимікробних властивостей ІмС таких, як довжина алкільного ланцюга, що містить 12 атомів вуглецю, та наявність невеликих метильних, бутильних, алільних або 2-гідроксіетильних радикалів для асиметричних сполук, а для симетричних ІмС оптимальна довжина алкільного ланцюга – 6 або 8 атомів вуглецю у кожному ланцюгу.

На підставі результатів експериментальних досліджень гострої токсичності ІмС дисертантом виявлено, що більшість ІмС, як симетричних, так і асиметричних, відносяться до малотоксичних сполук. Продемонстровано перспективність використання  $\beta$ -циклодекстрину у комплексі з ІмС для зниження гострої токсичності сполук.

Високо оцінюючи експериментальний рівень дисертаційної роботи, слід, проте, **відмітити деякі зауваження та пропозиції:**

1. Автором недостатньо висвітлено перспективність ІмС – біоциди чого (для боротьби із мікробами, що викликають інфекційні захворювання, пошкодження харчових продуктів, біодеструкцію матеріалів, біообростання устаткування та ін.)? Чи дозволяє їхня токсичність бути перспективними лікарськими препаратами чи препаратами, що можуть бути використані у харчовій хімії?

2. Вважаю за доцільне при використанні QSAR моделей для прогнозування активності ІмС застосовувати молекулярні дескриптори МОРАС (Molecular Orbital PACkage) в пакеті ОСНЕМ для встановлення асиметричного та симетричного фактору за допомогою напівемпіричних квантово-хімічних розрахунків.
3. Дисертантом не визначено вплив величини вибірки на точність прогнозу для створення QSAR- моделлю.
4. На основі чого при вивченні токсичності високоактивних сполук було обрано модель «імідазолієва сіль –  $\beta$ -циклодекстрин»? Чи достатнє зниження токсичності у 2 рази?
5. У роботі не визначено який препарат порівняння для вивчення протимікробної активності використовували.
6. Автором не дуже вдало проведено розрив таблиць між сторінками (стор. 59, 73, 74, 77, 84), що ускладнює їх читання та аналіз.

На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Години Діани Миколаївни «QSAR прогнозування та оцінка антимікробної активності імідазолієвих солей» є завершеною науковою працею і за актуальністю тематики, обсягом виконаних досліджень, новизною отриманих результатів, ступенем обґрунтованості наукових положень і рекомендацій, результатами впровадження, повнотою викладення результатів роботи у фахових виданнях, теоретичним і практичним значенням **відповідає** вимогам, які пред'являються до кандидатських дисертацій, а її автор Година Діана Миколаївна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.

Офіційний опонент:  
 доктор біологічних наук, професор,  
 завідувач кафедри хімії,  
 завідувач лабораторії біотехнології  
 фізіологічно активних речовин  
 Запорізького національного університету  
 МОН України

Підпис  
 засвідчую

*Бражка*  
*О.А.*

НАЧАЛЬНИК  
 ВІДДІЛУ КАДРІВ

  
 О.А. Бражка  
*О.А. Бражка*  
 02.02.2014 р.