

ВІДГУК
офіційного опонента
на дисертаційну роботу Труш Марії Миколаївни
«Антимікробна активність і токсичність функціоналізованих онієвих солей»,
поданої до спеціалізованої вченого ради Д 26.220.01
в інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України ім. В. П. Кухаря
на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія

Актуальність теми дисертації. Створення ефективних біоцидів як антисептиків, консервантів, інших антимікробних препаратів, які відповідають зростаючим вимогам біологічної та екологічної безпеки до ксенобіотиків є актуальним завданням і пріоритетним напрямком біоорганічної хімії.

Не зважаючи на великий вибір біоцидних препаратів, на даний час залишається актуальною проблема розробки нових ефективних дезінфектантів. Це обумовлено все зростаючим рівнем резистентності мікроорганізмів до існуючих лікарських та дезінфікуючих препаратів, формуванням і подальшим розвитком стійкості до існуючих антисептиків, що нівелює або знижує їх ефективність.

Перспективними сполуками для розробки нового покоління ефективних біоцидів є катіонні онієві солі, які застосовуються у біології, медицині та різних технологічних процесах. Відома їх висока антимікробна активністю проти широкого спектру патогенних бактерій.

Одним із підходів до вирішення проблем створення сучасних біоцидів є хемометричні дослідження, сучасні комп'ютерні технології, що дозволяють здійснити апріорну оцінку властивостей хімічних сполук у поєднанні з експериментальними дослідженнями. Тому віртуальні моделювання та експериментальні дослідження антимікробних і токсичних властивостей нових сполук цього ряду як потенційних біоцидів було актуальним завданням даної дисертаційної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.
Дисертаційна робота виконувалась у рамках наукової теми за відомчою

тематикою в області фундаментальних досліджень «QSAR моделювання та експериментальні дослідження властивостей нових потенційно біоактивних сполук» (Тема 2.1.10.18.17, № державної реєстрації 0117U000100).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність. На основі зібраних та проаналізованих даних літератури визначені основні тенденції розвитку та застосування антисептичних і дезінфікуючих препаратів для контролю мікробної контамінації. Узагальнено інформацію щодо antimікробних та антиоксидантних властивостей онієвих солей як перспективних універсальних біоцидів. Систематизація та узагальнення літературних даних стосовно онієвих солей дало можливість сформували мету та задачі досліджень даної дисертаційної роботи.

Для інтерпретації результатів досліджень використані сучасні експериментальні та хемометричні методи, загальноприйняті та коректні підходи до встановлення біологічних властивостей онієвих солей. Достовірність отриманих автором результатів не викликає сумніву.

Наукові положення, висновки та рекомендації дисертаційної роботи базуються на експериментальних даних, логічно витікають з отриманих результатів. Висновки, викладені дисертувальником, чіткі та конкретні.

Вважаю, що поставлені в роботі завдання реалізовані повною мірою на високому науковому рівні. При виконанні та написанні дисертаційної роботи автор дотримувався принципів академічної добродетелі.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше охарактеризовано взаємозв'язок між типом функціоналізації ряду катіонних онієвих солей та їх біологічними властивостями. Встановлено, що солі фосфонію демонструють вищий як антибактеріальний, так і протигрибковий потенціал у порівнянні з довголанцюговими солями, дія яких спрямована на інгібування росту грибів *Candida spp.* Ці солі фосфонію з високою antimікробною активністю відносяться до високо- та помірнотоксичних речовин, а більшість довголанцюгових катіонних онієвих солей – до помірно- та малотоксичних речовин. Продемонстровано ефективність хімічної модифікації

довголанцюгових катіонних солей різноманітними групами як одного із методів зниження їх токсичності. Показано, що досліджені речовини є екологічно безпечними за показниками інгібування ацетилхолінестерази. На основі спектральних даних та молекулярного докінгу продемонстровано потенційні механізми неспецифічного комплексутворювання сироваткового альбуміну людини з рядом досліджених довголанцюгових солей. Вперше встановлено наявність антиоксидантних властивостей досліджених функціоналізованих онієвих солей і проведено узагальнення щодо взаємозв'язку між їх структурою та здатністю до гальмування процесів вільнорадикального окиснення.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертаційної роботи вказують на те, що функціоналізовані солі 1,3-оксазолілфосфонію є перспективними кандидатами для розробки малотоксичних дезінфікуючих агентів із широким спектром антибактеріальної та протигрибкової дії, в тому числі ефективних проти резистентних клінічних мікробних штамів. Довголанцюгові функціоналізовані солі на основі катіонів піридинію, імідазолію та гуанідинію пропонуються для практичного використання як ефективні дезінфектанти і антисептики з антимікотичною дією. Встановлені закономірності «структура - активність - токсичність» солей можуть бути використано для пошуку, конструктування та спрямованого синтезу нових антимікробних препаратів.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто проведено експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, їх узагальнення та інтерпретація. Постановка задач та обговорення результатів проводилося спільно з науковим керівником – к.б.н. Л. О. Метелицею.

Результати робіт, що опубліковані у співавторстві та увійшли до дисертаційної роботи, одержані здобувачем особисто.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і автoreфераті. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 12 праць, з них 6 статей у наукових фахових виданнях, 1 патент на корисну модель та 5 тез наукових доповідей. Публікації та автoreферат повністю відображають

основний зміст роботи. Оформлення роботи та автореферату відповідає вимогам Державних стандартів України.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, власних результатів та їх обговорення, висновків та списку використаних джерел (408 найменувань). Дисертаційну роботу викладено на 175 сторінках друкованого тексту, містить 12 таблиць, 17 рисунків та 4 схеми.

Дисертаційна робота оформлена акуратно. Матеріал роботи викладено послідовно, доступно і проілюстровано рисунками, схемами. Застосована в роботі наукова термінологія є загальновизнаною, стиль викладення результатів теоретичних і практичних досліджень, нових наукових положень, висновків і рекомендацій забезпечує доступність їх сприйняття та використання.

У першому розділі «Літературний огляд. Сучасні дезінфікуючі засоби: тенденції розвитку та застосування тощо (31 сторінок) автор провів аналіз літературних джерел про сучасний стан та тенденції розвитку та використання дезінфікуючих засобів. Особливу увагу було приділено властивостям онієвих солей як перспективних біоцидних агентів із широким спектром антимікробної активності. Дано оцінка токсикологічних характеристик онієвих солей відносно тест-об'єктів та організмів різного трофічного і системного рівня. Важливим моментом є оцінка впливу онієвих солей на функціональну активність ферментів. Проаналізовано сучасний стан цих речовин як потенційних антиоксидантів, що впливають на процеси вільнорадикального окиснення (ВРО). Дослідження та аналіз анти/прооксидантних властивостей нових сполук є важливим етапом їх розробки та розуміння механізму дії і прогнозування можливих неочікуваних негативних результатів.

Дисертант показав, що дослідження в даному напряму є виправданими та актуальними.

У другому розділі «Матеріали та методи дослідження» (27 сторінок) було представлено матеріали, що вивчались. Це досліджені речовини, мікроорганізми, тварини, білки та ферменти.

Для визначення гострої токсичності сполук використано модельний гідробіонт «zebrafish» (*Danio rerio*) *in vivo* за відомими стандартами (OECP 203).

Інгібуючу *in vitro* активність онієвих солей оцінювали за використання моделі ацетилхолінестерази електричного органу вугра *Electrophorus electricus* за показником IC₅₀ за допомогою модифікованого методу Еллмана.

Антиоксидантні властивості онієвих солей оцінювали *in vitro* за відсотком вмісту малонового діальдегіду (МДА), як кінцевого продукту процесу аскорбатзалежного ВРО ліпідів. Інтенсивність процесів пероксидації ендогенних ліпідів визначали за різницею показників МДА дослідних проб відносно контрольних зразків.

У третьому розділі «Результати та обговорення» (68 сторінок) наведено результати експериментальних та хемометричних досліджень. Аналіз мікробіологічних досліджень засвідчив, що трифенілфосфонієві солі є високоактивними антибактеріальними та антигрибковими агентами, в тому числі проти резистентних клінічних мікробних штамів, у порівнянні з довголанцюзовими гетероциклічними онієвими солями, дія яких спрямована на інгібування росту грибів *Candida spp.*

Дисертантом виявлено, що antimікробний потенціал довголанцюзових онієвих солей забезпечується довжиною алкільного радикалу, функціоналізованого полярними естерними і/або гідроксильними групами, і, в меншій мірі, типом катіону або аніону. Показано, що 1,3-оксазолілфосфоній йодиди з етильними або алілсульфанільними замісниками у положенні 5 є найбільш перспективними antimікробними агентами. Запропоновано потенційні молекулярні механізми антигрибкової дії довголанцюзових онієвих солей як інгібіторів N-міристоїлтрансферази гриба *Candida albicans* і антибактеріальної дії фосфонієвих солей як інгібіторів гліказилтрансферази *Staphylococcus aureus*.

Автором встановлено, що солі фосфонію є помірно- та високотоксичними в порівнянні з мало- та помірно токсичними солями піридинію, імідазолію, аміноімідазолінію та гуанідинію. Продемонстровано ефективність хімічної

модифікації довголанцюгових катіонних солей естерними та гідроксильними групами як одного із методів зниження їх токсичності більше ніж у 100 разів. Показано, що всі досліджені онієві солі є безпечними за показником інгібування ферменту ацетилхолінестерази. Виявлено, що ці солі піридинію, імідазолію, аміноімідазолінію та гуанідинію здатні неспецифічно зв'язуватися з людським сироватковим альбуміном, що підтверджується результатами комп'ютерного моделювання ліганд-білкових взаємодій у сайт ПА (сайт Судлоу I).

Показано, що досліджені речовини мають виражені антиоксидантні властивості. Найбільшу здатність до гальмування процесів ВРО *in vitro* проявляють солі фосфонію, перевищуючи показник відомого антиоксиданту іонолу.

За результатами роботи солі на основі катіонів піридинію, імідазолію, гуанідинію, що містять алкілоксикарбонілметильні замісники, та солі 1,3-оксазол-4-ілтрифенілфосфонію є перспективними сполуками-кандидатами для подальшого їх вивчення як малотоксичних дезінфікуючих агентів із широким спектром антимікробної дії. В кінці третього розділу наведено загальні висновки, що витікають з усієї дисертаційної роботи.

Робота Труш Марії 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 Труш М.М. за темою «Антимікробна активність і токсичність функціоналізованих онієвих солей» є підтвердження важливого чинника прояву високого рівня антимікробних властивостей дезінфекантів - довжина алкільного ланцюга. Сполуки, що містить довголанцюгові функціоналізовані солі на основі катіонів піридинію, імідазолію та гуанідинію пропонуються для практичного використання як ефективні дезінфектанти і антисептики з антимікотичною дією.

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

1. В меті поставлено – дослідження «ефективних малотоксичних біоцидних агентів широкого спектру антимікробної дії», хоча останнім часом вважається більш важливим створення малотоксичних препаратів направленої дії із селективними властивостями.

2. Автором недостатньо висвітлено перспективність онієвих солей – біоциди чого (для боротьби із мікробами, що викликають інфекційні захворювання, пошкодження харчових продуктів тощо)? Чи дозволяє їхня токсичність бути використаними як лікарські препарати або препаратами, що можуть бути використані у харчовій хімії та технологіях?

3. На основі чого було складено дуже велику вибірку онієвих солей, що їх об'єднує? Не представлено в розділі 2 (Матеріали та методи дослідження) хоча б узагальнені структури досліджених сполук.

4. Стор. 92 - утворення L-ензимного комплексу з високою енергією – Е -7,2 ккал/мол (це не дуже висока Е). Вважаю, що правильніше – стабільного комплексу. Цей вираз автором використовується у подальших судженнях.

5. Чому антиоксидантна активність визначалась саме за рівнем малонового діальдегіду, а не інших маркерів? Наприклад, за впливом на рівень супероксиданіон-радикалу.

6. Чому як препарат порівняння при вивченні АОА було обрано іонол? Як концентрація досліджених речовин впливала на прояв АО властивостей?

7. Автором не дуже вдало проведено розрив скорочених формул досліджених сполук (стор. 66 - 2c $[IM-C_1COOC_{12}]^+[Cl^-]$, $1.7 \cdot 10^{-2}$ моль/л), стор. 68 - $[G-C_2COOC_{11}]^+[Cl^-]$, стор. 112), що ускладнює їх читання.

Наведені зауваження не є такими, що впливають на загальну позитивну оцінку роботи, яка є завершеним самостійним дослідженням. Дисертація виконана на високому науковому рівні та є логічно завершеною працею.

На підставі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота Труш Марії Миколаївни «Антимікробна активність і токсичність функціоналізованих онієвих 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 Труш Марія Миколаївна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.

Офіційний опонент:
 завідувач кафедри хімії
 Запорізького національного університету
 МОН України.
 доктор біологічних наук, професор

O.A. Бражко

