

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Труш Марії Миколаївни
«Антимікробна активність і токсичність
функціоналізованих онієвих солей»,
представленої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія

Актуальність теми. Дисертаційну роботу Труш М.М. присвячено пошуку і направленому синтезу онієвих солей як нових біоцидних засобів, ефективних по відношенню до актуальних штамів мікроорганізмів та дослідження їх біологічної активності на моделях різного функціонально-організаційного рівня. Актуальність обраної теми підтверджується аналізом літературних джерел про набуття патогенними мікроорганізмами мультирезистентних властивостей по відношенню до відомих антибіотиків, антисептиків та дезінфектантів, що сприяє поширенню внутрішньолікарняних інфекцій. Сьогодні найбільшу загрозу для здоров'я людини становлять умовно патогенні мікроорганізми: *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* і деякі інші. Спеціальною Європейською комісією ухвалено програму, спрямовану на посилення досліджень, розробку та інновації, що мають забезпечити нові рішення та інструменти для профілактики інфекційних хвороб та боротьби з поширенням їх antimікробної резистентності. У зв'язку з цим, найбільш перспективними antimікробними агентами є катіонні онієві солі, що мають широкий спектр antimікробних властивостей і потенціал для застосування у біології, медицині, фармації та суміжних технологічних напрямках.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконувалась в рамках наукової роботи за відомчою тематикою в галузі 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, рекомендацій. Дисертаційна робота Труш М.М. має належне теоретичне обґрунтування, виконана на високому науковому рівні, характеризується логічним викладенням матеріалу. Автором сформульовано мету та завдання дослідження, описано етапи дослідження та використано відповідний комплекс методів. Результати, що виносяться здобувачем на захист отримані на підставі аналізу достатнього обсягу первинної інформації та статистично опрацьовані. На основі них сформульовані науково-методичні положення, висновки, практичні рекомендації, які є обґрунтованими і достовірними.

Аналіз змісту дисертаційної роботи. Дисертаційна робота Труш М.М. побудована традиційно, викладена логічно і послідовно, акуратно оформлена і ретельно вичитана. Вона складається з анатації, вступу, трьох основних розділів, загальних висновків, переліку використаних джерел і додатку. Загальний обсяг роботи викладений на 175 сторінках друкованого тексту, обсяг основного тексту дисертації складає 71 сторінку. Список літератури

налічує 408 джерел, практично всі англомовні. Дисертація ілюстрована 12 таблицями, 17 рисунками та 4 схемами.

Вступ роботи має традиційне викладення: обґрунтування вибору теми роботи; зазначення зв'язку роботи з науковими програмами; визначення мети і завдань дослідження, об'єктів, предмету та методів дослідження; наукової новизни одержаних результатів; їх практичного значення, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертації, наукових публікацій за результатами роботи.

Об'єктом дослідження є – функціоналізовані довголанцюгові катіонні солі піридинію, імідазолію, аміноімідазоліню, гуанідинію та фосфонію як потенційні біоцидні засоби.

Предметом дослідження автор обрала антимікробну активність, антиоксидантні властивості та токсичність зазначених сполук на моделях різного функціонально-організаційного рівня.

Метою дисертаційної роботи Труш М.М. є цілеспрямовані дослідження ряду функціоналізованих онієвих солей та встановлення закономірностей прояву їх біологічної активності як ефективних малотоксичних біоцидних агентів з відповідним спектром антимікробної дії. Для реалізації поставленої мети автором послідовно вирішено шість задач з використанням мікробіологічних, токсикологічних, біохімічних, фізико-хімічних методів та методів молекулярного моделювання (докінг-аналізу).

У першому розділі дисертаційної роботи Труш М.М. проаналізовано дані літературних джерел щодо світових тенденцій розвитку та застосування антисептичних і дезінфікуючих засобів для контролю мікробної контамінації. Узагальнено інформацію про антимікробні та антиоксидантні властивості онієвих солей як перспективних універсальних біоцидів широкого спектру дії. Враховуючи сучасні вимоги екологічної та медичної безпеки, особливу увагу приділено аналізу токсичної дії онієвих солей щодо організмів різного трофічного і системного рівня, зокрема цитотоксичної, фітотоксичної, екотоксичної дії на моделях безхребетних і хребетних гідробіонтів а також дослідженню їх біологічних характеристик - зокрема антиоксидантних властивостей та впливу на функціональну активність ферментів. Саме проведений дисертантою аналіз, систематизація та узагальнення даних літературних джерел стосовно онієвих солей дозволила сформувати мету і задачі роботи та обрати адекватні сучасні методи дослідження.

Другий розділ роботи присвячено опису матеріалів і методів досліджень. Дисертантом використані сучасні мікробіологічні, (диско-дифузійний метод визначення антимікробної активності онієвих солей *in vitro*), токсикологічні (визначення *in vivo* параметру гострої токсичності LC₅₀), біохімічні (визначення активності ферментних систем), фізико-хімічні (ІЧ-Фур'є спектроскопія), методи молекулярного моделювання (молекулярний докінг), статистичні.

Третій розділ присвячено результатам власних досліджень автора та їх обговоренню. Труш М.М. дуже ретельно і старанно виконала надзвичайно великий об'єм досліджень. Нею показано, що функціоналізовані довголанцюгові піридинієві, імідазолієві, гуанідинієві та імідазолінієві солі а

також 1,3-оксазоліл- та 1,3-тіазолілфосфонієві солі проявляють виражені антимікробні властивості як по відношенню до еталонних колекційних штамів *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* так і до антибіотикорезистентних клінічних штамів *A. baumannii*, *E. coli* та *S. aureus*. Виявлено особливості взаємозв'язку між хімічною будовою онієвих солей та їх антимікробними властивостями а також потенціальні молекулярні механізми їх біологічної дії.

На моделях різного функціонально-організаційного рівня дисертантом показано, що солі фосфонію є більш токсичними в порівнянні зі солями піридинію, імідазолію, аміноімідазолінію та гуанідинію, а хімічна модифікація довголанцюгових катіонних солей естерними та гідроксильними групами знижує їх токсичність більше ніж у 100 разів. Показана безпечність онієвих солей за показником інгібування ферменту ацетилхолінестерази. Використання ІЧ-Фур'є спектроскопії в комплексі з методом молекулярного докінгу дозволило отримати важливі відомості про потенційний механізм ліганд-альбумінових взаємодій та характер залучених у процес комплексоутворення хімічних зв'язків. Встановлено, що майже всі досліджені онієві солі, особливо солі фосфонію, мають виражені антиоксидантні властивості, виявляючи здатність до гальмування процесів вільно радикального окислення, що суттєво розширяє спектр їх біологічних властивостей та сферу використання.

Результати досліджень Труш М.М. можуть бути використані в фармакокінетичних та фармакодинамічних дослідженнях як при аналізі взаємодій відомих лікарських засобів, так і при розробці нових препаратів на основі функціоналізованих онієвих солей.

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, головним чином, на інгібування росту грибів *Candida* spp. Продемонстровано ефективність хімічної модифікації довголанцюгових катіонних солей естерними та гідроксильними групами як одного із методів зниження їх екотоксичності. Показано, що всі досліджені онієві солі є екологічно безпечними за показниками інгібування ацетилхолінестерази. На основі результатів спектрального аналізу та молекулярного докінгу продемонстровано потенційні механізми неспецифічного комплексоутворювання сироваткового альбуміну людини з рядом досліджених довголанцюгових солей. Вперше встановлено наявність антиоксидантних властивостей досліджених функціоналізованих онієвих солей і узагальнено результати щодо потенційного взаємозв'язку між їх структурою та здатністю до гальмування процесів вільнорадикального окиснення.

Таким чином Труш М.М. продемонструвала, що вона добре володіє не лише складними мікробіологічними, токсикологічними, біохімічними та фізико-хімічними методами досліджень, але й арсеналом розрахункових методів та прийомів комп'ютерного моделювання. Саме це й обумовило успішне виконання роботи і одержання важливих наукових результатів та висновків, які повністю відповідають поставленим задачам.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати досліджень становлять у сукупності науково-методичну основу для відбору перспективних кандидатів серед функціоналізованих онієвих солей як малотоксичних дезінфікуючих засобів з широким спектром антибактеріальної та протигрибкової активності, в тому числі проти резистентних клінічних штамів мікроорганізмів. Довголанцюгові функціоналізовані солі на основі катіонів піридинію, імідазолію та гуанідинію пропонуються для практичного використання як ефективні дезінфектанти і антисептики з антимікотичною дією. Встановлені закономірності залежності «структура – біологічна активність» функціоналізованих онієвих солей можуть бути використані для *in silico* пошуку, конструювання та спрямованого синтезу нових антимікробних агентів.

Повнота викладу основних результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи Труш М.М. висвітлені у 12 наукових працях: - 6 статтях у фахових наукових виданнях, що входять до науково метричних баз Scopus і WOS, 5 тезах наукових доповідей та 1 патенті на корисну модель. Результати роботи доповідались на: X Українській науковій конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю «Хімічні проблеми сьогодення (ХПС-2017)» (м. Вінниця, 2017 р.); XIX Науковій молодіжній конференції «Проблеми та досягнення сучасної хімії» (м. Одеса, 2017 р.); 9th International chemistry conference «Kyiv-Toulouse» (ICKT-9) (м. Київ, 2017 р.); III Всеукраїнській науковій конференції «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи» (м. Житомир, 2019 р.); II Міжнародній (XII Українській) науковій конференції студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення (ХПС-2019)» (м. Вінниця, 2019 р.).

Аналіз тексту автореферату дозволяє стверджувати про його відповідність змісту дисертаційного дослідження.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертаційної роботи.

В цілому необхідно констатувати, що дисертаційна робота здобувача Труш М.М. логічно і чітко викладена, оформлена належним чином, добре ілюстрована і заслуговує на позитивну оцінку. Зауважень до змісту і оформлення роботи немає.

Високо оцінюючи теоретичний і експериментальний рівень дисертаційної роботи Труш М.М. логічно одержати відповідь на наступні питання.

1. Відповідно до результатів проведених токсикологічних досліджень показано, що функціоналізовані онієві солі, хоча і відносяться до IV та V класів помірно- та малотоксичних речовин, проте все ж значно впливають на показники життєдіяльності і розмноження гідробіонтів, а переконливі докази зв'язування онієвих солей зі сироватковим альбуміном людини передбачають їх потенційну гепато-, ентеро- та нефротоксичність, особливо при хронічному впливі на організм людини. Чи відомо Вам, як довго онієві солі зберігаються в об'єктах довкілля і яким чином відбувається їх біодеградація в природі до нетоксичних сполук.

2. Чи перспективні функціоналізовані онієві солі для застосування у складі комплексних антисептиків і дезінфектантів в поєднанні з

дезінфікуючими засобами інших класів, зокрема пероксидами, глютаровим альдегідом, спиртами тощо?

Висновок про відповідність дисертації вимогам Положення.

Дисертаційна робота Труш Марії Миколаївни «Антимікробна активність і токсичність функціоналізованих онієвих солей» є завершеною науковою працею. За актуальністю, науковим рівнем, обсягом виконаних досліджень, новизною, практичним значенням отриманих результатів, ступенем обґрунтованості наукових положень і рекомендацій, практичним значенням результатів, повнотою їх викладу у наукових фахових виданнях та виданнях, що входять до науково метричних баз Scopus і WOS дисертація Труш М.М. відповідає вимогам п. 9 та п. 11-14 «Про затвердження порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор Труш Марія Миколаївна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.

Офіційний опонент:

доцент кафедри вірусології
НМАПО імені П.Л. Шупика,
кандидат біологічних наук

Трохименко О.П.

