



UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI
BABEȘ-BOLYAI TUDOMÁNYEGYETEM
BABEȘ-BOLYAI UNIVERSITÄT
BABEȘ-BOLYAI UNIVERSITY

FACULTATEA DE FIZICĂ
Str. Mihail Kogălniceanu nr.1
Cluj-Napoca, RO-400084
Tel: +4(0)264-405300 | FAX: +4(0)264-591906
secretariat.phys@ubbcluj.ro
www.phys.ubbcluj.ro



DOCTORAL SCHOOL OF PHYSICS

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Student doctorand
Ana Maria Raluca GHERMAN

Îndrumător
Prof. Vasile CHIȘ

Iulie 2022
Cluj-Napoca



UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI
BABEȘ-BOLYAI TUDOMÁNYEGYETEM
BABEȘ-BOLYAI UNIVERSITÄT
BABEȘ-BOLYAI UNIVERSITY

FACULTATEA DE FIZICĂ
Str. Mihail Kogălniceanu nr.1
Cluj-Napoca, RO-400084
Tel: +4(0)264-405300 | FAX: +4(0)264-591906
secretariat.phys@ubbcluj.ro
www.phys.ubbcluj.ro



DOCTORAL SCHOOL OF PHYSICS

Cheminformatics tools used to characterize the structure and bactericidal-activity of β -lactams against pathogens

**Instrumente cheminformatică folosite
pentru caracterizarea structurii și a
activității antibacteriene împotriva
patogenilor a β -lactamicelor**

Student doctorand
Ana Maria Raluca GHERMAN

Îndrumător
Prof. Vasile CHIȘ

Iulie 2022
Cluj-Napoca

CUPRINSUL TEZEI

Table of contents	4
Introduction	7
Part I. Bacteria	10
Chapter 1. Multivariate analysis	12
Theory and motivation	13
Computational details	18
Results and discussion	18
1. <i>Enterococcus faecalis</i> samples following different sample preparation protocols	18
PCA on full spectrum	20
PCA on NPs' response	21
PCA on the bacterial fingerprint	22
PCA-LDA	23
2. Gram-negative – Gram-positive discrimination	25
2.1 GN <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vs. GP <i>Enterococcus faecalis</i> and <i>Staphylococcus aureus</i>	25
2.2 GN <i>Aeromonas hydrophila</i> vs. GP <i>Bacillus cereus</i> samples	29
2.3 A mix of GN <i>Aeromonas hydrophila</i> vs. GP <i>Bacillus cereus</i> samples	31
3. SERS-PCA based alternative resistogram	34
4. DNA samples of <i>Salmonella serovars</i> UV irradiated	36
Conclusions	41
Chapter 2. Raman technique and Density Functional Theory – the 'R'&'D' in Research and Development of antibiotics	44
Theory and motivation	45
Raman spectroscopy	45
Density Functional Theory (DFT)	46
Hohenberg-Kohn Theory	46
The first Hohenberg-Kohn theorem	46
The second Hohenberg-Kohn theorem	46
The Kohn-Sham equations	47
Density Functionals	47
Local density approximation (LDA)	47
Gradient corrected functional	48
Computational details	48
Results and discussions	49
1. Vibrational spectra	49
1.1 Common bands	51
1.2 Specific bands	52
2. Molecular Electrostatic Potential surfaces (MEPs)	58
3. Frontier molecular orbital (FMO) studies	59
Chapter 3. Can molecular docking solely predict antibiotics' bactericidal activity?	64
Theory and motivation	65
The theory behind molecular docking	65
B-lactams' mechanism of action	66
B-lactams' classification	66
Computational details	69
Selecting the ligands and receptors	69

Building the ligand-receptor complexes	69
Setting the search box	69
Running the code	70
Results and discussions	72
1. Molecular docking	72
2. Disk diffusion tests	80
Conclusions	83
Part II. Fantastic yeasts and where to find them	85
Theory and motivation	86
Results and discussion	88
1. Principal Component Analysis (PCA)	88
2. Linear Discriminant Analysis (PCA-LDA)	92
3. DFT calculations	95
Conclusions	99
Overview	101
Acknowledgements	103
Abbreviations	105
References	106
Dissemination of the results	111
ADDENDUM 1 - Full assignments of the common FT-Raman bands observed for benzypenicillin, oxacillin, ampicillin, carbenicillin, and azlocillin	114
ADDENDUM 2 - List of hydrogen bonds formed between the most stable conformer of each ligand and surrounding residues in PBPs	122
ADDENDUM 3 - List of samples chosen for training and testing sets of Models I-X	128

Rezumat

Detecția și identificarea rapidă a patogenilor sunt esențiale pentru sistemele de sănătate publică. Metodele clasice de diagnostic microbiologic și-au atins limitele, având repercursiuni severe, în special pentru copii (de exemplu, apariția sindromul hemolitic-uremic, sepsis, etc). Unul dintre neajunsurile acestora îl reprezintă timpul îndelungat (de ordinul zilelor) necesar pentru identificarea patogenilor la nivel de tulpină. Pe de altă parte, odată cu dezvoltarea metodelor chirurgicale (de exemplu, transplanturile, chirurgia neonatală) și a medicinei de urgență, au apărut și complicațiile postoperatorii severe, cum ar fi infecțiile nosocomiale, care pot duce la șoc septic în absența unui tratament ținut. Infecțiile bacteriene dobândite în spitale sunt, din păcate, răspândite în România (1, 2) și creează o problemă critică, deoarece se știe că întârzierile în aplicarea unei terapii inițiale țintite cresc dramatic rata morbidității. Măsurile de control al infecțiilor precum protocoalele de urmărire a pacienților cu risc ridicat, protocoalele de izolare pentru pacienții identificați pozitivi pentru cultură de agenți patogeni infecțioși, protocoalele de decontaminare și procedurile adecvate de screening microbiologic, cum ar fi testarea periodică a sensibilității acestora, sunt strategii convenționale de prevenire și depășire a acestui scenariu, dar nu sunt eficiente și de încredere pe termen lung (3).

Rezistența antimicrobiană (RAM) reprezintă capacitatea microbilor de a nu răspunde la acțiunile antibioticelor, ducând la o limitare a opțiunilor de tratament și la o creștere a costurilor de tratament și numărului potențialelor efecte secundare pentru pacienți. Practic, aceste organisme au dezvoltat concomitent mecanisme de rezistență la antimicrobiene, iar comunitatea medicală începe să piardă cursa împotriva microorganismelor infecțioase care odată erau simplu de tratat (4, 5). Din cauza constrângerilor economice, a disponibilității testelor de diagnosticare, o mare parte din cercetările care investighează evoluția RAM se bazează pe organisme individuale provenite din anumite regiuni la nivel global (4). Principalii agenți patogeni rezistenți la antibiotice (APR) actuali sunt: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină (MRSA), *Enterococi* rezistenți la vancomicină (VRE), *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pneumoniae* rezistent la penicilină (PRSP), *Mycobacterium tuberculosis* cu rezistență extinsă la antibiotice (XDR), *Enterobacteriaceae* producătoare de β-lactamaze cu spectru extins și *Klebsiella pneumoniae*. În 2014, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a publicat cel mai cuprinzător raport de supraveghere până în prezent (6), care analizează ratele de rezistență ale infecțiilor comune din 114 țări. Numai efortul economic al SUA este de peste 20 de miliarde de dolari/an pentru asistența medicală ce include tratarea celor 1,7 milioane de infecții asociate spitalelor (HAI), care duc, de asemenea, la 99.000 de decese care ar putea fi prevenite. Iar acesta este cazul unei țări în care ratele de rezistență la antimicrobiene sunt mult mai scăzute comparativ cu alte țări, iar antimicrobienele sunt semnificativ mai accesibile decât în orice altă țară (7).

Recent, tehnicile spectroscopice au devenit mai promițătoare datorită dezvoltării unor metode de detecție cu costuri reduse, ultrasensibile și fără marcarea, permițând obținerea de rezultate rapide, specifice și suficient de sensibile pentru a fi aplicate în domenii critice, cum ar fi asistența medicală. Spectroscopia Raman este o metodă de analiză *in situ* non-invazivă care nu necesită o pregătire laborioasă a probei și care poate fi utilizată cu ușurință în afara laboratorului științific cu ajutorul versiunilor portabile și miniaturizate ale spectrometrelor (7-10). Când se utilizează efectul de împrăștiere Raman amplificat la suprafață (SERS), acesta poate ajunge să detecteze semnal provenit de la o singură moleculă (11). Datorită amplificării masive într-un experiment SERS (până la 10^{10}), pot fi detectate urme de probe adsorbite pe nanostructurile metalice, de obicei pe nanoparticule (NP).

Lucrarea de față este împărțită în două, fiecare parte tratând una dintre cele două clase principale de patogeni – bacterii (**Partea I**) și ciuperci (**Partea a II-a**).

Partea I relatează începutul poveștii „Instrumente cheminformatică folosite pentru caracterizarea structurii și a activității antibacteriene împotriva patogenilor a β -lactamicelor”. Aceasta a început în 2014, când dr. Nicoleta Dina, capul miciei echipe științifice din care fac parte în prezent, împreună cu un alt grup de cercetători din Germania au dezvoltat o nouă metodă de detecție a bacteriilor cu ajutorul SERS (12-18).

După optimizarea metodei de detecție în laborator, echipa și-a propus să găsească modalitatea de a o face mai accesibilă societății, având ca țintă finală implementarea metodologiei în sistemul medical ca alternativă pentru detectarea agenților patogeni. Astfel, în 2017, experimențiștii echipei noastre au dezvoltat un demonstrator care ar putea fi implementat în sistemul medical. Platforma de nano-screening propusă oferă o abordare unică, diferită de alte tehnici medicale utilizate în prezent pentru identificarea agenților patogeni în activitatea clinică de zi cu zi. Aceasta combină spectroscopia ultrasensibilă SERS pentru obținerea amprente moleculare a agenților patogeni, cu platforme microfluidice care ajută la izolarea acestora (19).

Chemometria, cel mai folosit instrument de cheminformatică aplicat în **Capitolul 1. Analiza multivariată**, a fost încorporată anterior cu instrumentația spectroscopică ca standard pentru ușurarea interpretării datelor spectrale prin utilizarea algoritmilor liniari precum Analiza componentelor principale (PCA), Analiza discriminanților liniari (LDA) etc. (20-25).

Analiza componentelor principale (PCA) este o metodă statistică, utilizată pe scară largă în zilele noastre, pentru analiza bazelor de date vaste; identifică variația și scoate în evidență tipare. De asemenea, este utilizată pentru dezvoltarea modelelor de predicție. Una dintre particularitățile sale este reducerea dimensionalității. Astfel, PCA este un instrument potrivit pentru analiza spectrelor vibraționale, în special a spectrelor SERS ale microorganismelor.

O alternativă la PCA este Analiza discriminanților Liniari (LDA), o metodă supravegheată, simplă și robustă. LDA își propune să prezică probele dintr-un set de date ca aparținând unor clase predefinite. Ca și PCA, LDA urmărește reducerea numărului de variabile utilizate în crearea unui model prin proiectarea probelor de interes într-un nou sistem de coordonate astfel încât să maximizeze distanța dintre clase (prin maximizarea distanței dintre valorile medii ale fiecărei clase). În același timp, urmărește minimizarea variabilității în cadrul unei clase (reducerea dispersiei probelor aparținând aceleiași clase). Când PCs calculate anterior pentru PCA sunt utilizate drept variabile în LDA, metoda rezultată se va numi PCA-LDA.

Scopul studiului următor este de a demonstra modul în care analizele de date multivariate pot fi utilizate pentru a discrimina patogenii la nivel de tulpină, evidențiind asemănările și diferențele acestora, inclusiv după ce probele au fost preparate după diferite protocoale. Rezultatele unei astfel de metode de analiză de date multivariate sunt un indicator al potențialului său imens de realizare a unei analize rapide, precise și fiabile, cu potențial promițător în aplicații clinice, precum dezvoltarea unei antibiogramme SERS-PCA utilizată pentru antibioterapie specifică.

Am dezvoltat mai multe modele de discriminare și clasificare utilizând PCA și, respectiv, PCA-LDA. În proiectarea acestor modele, ne-am propus să identificăm caracteristicile spectrale specifice pentru răspunsul SERS în diferite situații, cum ar fi: probe pregătite folosind diferite protocoale (secțiunea „*E. faecalis* samples following different sample preparation protocols”), probe aparținând unuia dintre două clase Gram-pozitive și Gram-negative (secțiunile “GN *Pseudomonas aeruginosa* vs. GP *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*” and “GP *Bacillus cereus* vs. GN *Aeromonas*

hydrophila”), probe provenind dintr-un amestec de două specii (secțiunea “A mix of GP *Bacillus cereus* and GN *Aeromonas hydrophila* samples”), sau care sunt tratate cu antibiotice la care prezintă sensibilitate sau rezistență (secțiunea (“SERS-PCA based alternative resistogram”) și, în final, probe de ADN iradiate ale serovariilor de *Salmonella* (secțiunea “DNA *Salmonella* serovars UV irradiated”). Spectrele SERS ale bacteriilor au fost înregistrate pe *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* și probe de ADN ale serovariilor *Salmonella*.

Pentru modelul de discriminare construit pe probe de *Enterococcus faecalis* urmând trei metode diferite de preparare (în amestec cu AgNPuri sintetizate *a priori* prin rețeta Leopold-Lendl sau Lee Meisel și cu AgNPuri sintetizate *in situ* la peretele lor celular) am constatat că banda SERS 728cm^{-1} a contribuit cel mai mult la diferențiere. Modelul de clasificare obținut are o acuratețe și o sensibilitate de 95% și o precizie și specificitate de 97%.

Pentru discriminarea între probe aparținând claselor Gram-pozitive și Gram-negative am dezvoltat două modele. Pentru modelul de discriminare care conține probe de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* și *Pseudomonas aeruginosa*, am obținut o varianță totală de 75% a primelor 3 PCs, în timp ce modelul de clasificare a avut o acuratețe de 96%. În ceea ce privește baza de date care conține probe de *Aeromonas hydrophila* și *Bacillus cereus*, variația maximă însumată de primele trei PCs este de 87%.

Când am urmărit discriminarea între probe necunoscute dintr-un amestec de două specii, pentru baza de date care conține aceleași probe de *Aeromonas hydrophila* și *Bacillus cereus*, dar într-un mix, am obținut o discriminare de 74% pentru primele trei PCs. Modelul a fost verificat cu probe a căror origine a fost cunoscută („blind test”).

Pe baza datelor care conțin probe de *Aeromonas hydrophila* fără tratament, tratate cu un antibiotic la care prezintă rezistență (carbencilină) și unul la care prezintă sensibilitate (azlocilină), am propus o alternativă la rezistograma clasică, bazată pe SERS-PCA, drept o perspectivă care poate fi utilizată în mediul sanitar, combinând instrumente chiminformatic și metode vibraționale experimentale într-un studiu asupra carbencilinei și al azlocilinei. Varianța maximă obținută pentru modelul de discriminare a fost de 84% pentru primele trei PCs.

Tehnica experimentală Raman oferă informații moleculare specifice, inclusiv legate de structura geometrică și electronică a moleculelor sub formă de spectre de forma unei amprente. Chiar dacă fiecare moleculă are un spectru unic, realizarea unei atribuirii precise a tuturor benzilor poate fi dificilă, în special pentru moleculele de dimensiuni medii și mari. Descrierea caracteristicilor subtile a datelor spectroscopice necesită instrumente teoretice sofisticate și resurse de calcul considerabile (timp și memorie CPU).

Datorită dezvoltării impresionante a tehnologiei hardware și software, calculele de chimie cuantică au fost integrate rapid ca instrument fundamental în sprijinul abordărilor experimentale. Infrastructura de calcul a Universității Babeș-Bolyai permite rularea calculelor de chimie cuantică de nivel înalt pentru sisteme moleculare de dimensiuni mari cu ajutorul clusterului UBB. Totodată, este facilă utilizarea metodelor de calcul ce folosesc Teoria Funcționalei de Densitate de mare acuratețe în vederea atribuirii modurilor vibraționale benzilor Raman experimentale, inclusiv a celor subtile, pentru sisteme moleculare de mari dimensiuni.

Utilizarea excesivă și/sau necorespunzătoare a antibioticelor a dus la crearea de rezistență la antimicrobiene a patogenilor. În consecință, pentru dezvoltarea unor antibiotice noi și mai eficiente


este esențială înțelegerea structurii geometrice și electronice a unor astfel de molecule, mai ales când vine vorba de sintetizarea de noi compuși. O caracterizare completă din punct de vedere structural cu ajutorul spectroscopiei vibraționale oferă informații valoroase pentru investigații ulterioare ale reacțiilor chimice specifice antimicrobian-patogen, cum ar fi mecanismul de legare a unui antibiotic la receptorul specific pentru a avea un efect bactericid.

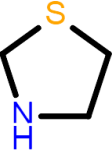
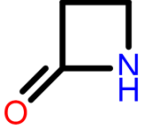
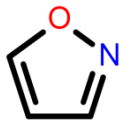
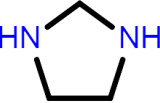
Tehnica experimentală Raman oferă informații specifice structurii moleculare și electronice sub formă de spectre de tip amprentă, unice pentru fiecare moleculă, ceea ce o face potrivită pentru caracterizarea detaliată a antibioticelor din acest punct de vedere. Studiul Raman din **Capitolul 2. Tehnica Raman și Teoria Funcționalei de Densitate** include câte un antibiotic pentru fiecare dintre cele cinci generații de peniciline – benzilpenicilină (BPN), oxacilină (OXN), ampicilină (APN), carbenicilină (CBN) și azlocilină (AZN). Benzile comune din spectrele Raman provin de la inelul penam, componenta comună în structura lor moleculară. Pe de altă parte, diversele lanțuri laterale R legate de miezul penam îi dau răspunsului Raman al fiecărui antibiotic o formă cu trăsături specifice subtile.

Calculule de frecvență folosind chimia cuantică au fost realizate cu pachetul Gaussian (20) pentru toate cele cinci peniciline în vederea explicării răspunsului lor Raman printr-o atribuire completă a benzilor. Spectrele Raman teoretice au fost obținute atât prin aproximații armonice, cât și anarmonice.

Datorită componentelor comune din structura lor moleculară – un inel benzenic, unul tiazolidin și un inel β-lactamic, două grupe metil și două carbonil, o grupă carboxil și o grupă amidă, penicilinele au în structura lor un răspuns specific Raman, banda 1002-1004 cm^{-1} fiind cea mai intensă în toate cele cinci spectre. Cele mai intense benzi ale grupărilor metil este dubletul 1433-1437/1452-1459 cm^{-1} , în timp ce dubletul 870-876/894-895 cm^{-1} este răspunsul cel mai intens al grupării carboxil. Deformarea inelului tiazolidină poate fi observată la 571-579 cm^{-1} , în timp ce răspunsul inelului β-lactamic este cel mai intens la 1156-1158 cm^{-1} și 1158-1175 cm^{-1} . Benzile marker specifice pentru fiecare antibiotic - BPN, OXN, APN, CBC și AZL - sunt prezente în spectrele lor așa cum era de așteptat, dar cele mai multe dintre ele au o intensitate slabă și foarte slabă. Spectrul Raman al OXN iese cel mai tare în evidență, datorită intensității crescute a benzii de la 1606 cm^{-1} (atribuit întinderii CC), precum și 1444 cm^{-1} (îndoire CH_3) și 1471 cm^{-1} (întinderi C=N și CC). Spectrul Raman al APN vine și el cu diferențe vizibile – 780 cm^{-1} (îndoire NH) și 830 cm^{-1} (răsucire NH_2).

Tabel 1 – Benzile Raman marker experimentale (1064 nm) ale penicinelor (comune celor cinci peniciline) și benzile Raman specifice pentru moleculele de BPN, OXN, APN, CBC și AZL, clasificate după grupările chimice.

Chemical group	BPN		OXN		APN		CBC		AZL		benzi comune
 benzene ring	621	629	615	617	617	617	617	617	617		
	839	845	830	834	-	834	-	834	-		
	983	982	993	957	988	957	988	988	988		
	1002	1002	1003	1004	1003	1004	1003	1004	1003		
	1029	1026	1027	1032	1030	1032	1030	1032	1030		
	1582; 1600	1578; 1606	1585; 1602	1582; 1600	1585; 1602	1582; 1600	1585; 1602	1585; 1602	1585; 1602		
CH_3 methyl group	231	960	250	-	240	951;	246	948	241	948;	
	274	1436	279	1433	271	961	280	1436	-	958	
	292	1452;	296	1459	291	1435	-	1457	294	1437	
		1468				1456				1458	
COOH carboxyl group	360	873+895	368	894;	360	873;	361	876;891	360	870;899	
	-	919	522	910	522	910	525	920	-	-	
	807	1245	-	920	802	-	803	-	-	-	
	-		-	-	847	1249	847	-	850	-	
NH	661	656	670	666	666	661	666	661	661		

amide group	1178	-	1178	-	1175	benzi specific
C=O	402	406	409	405	409	
carbonyl group	1638	1649	1693	1666	1660	
	571 602 919 1292	579 616 920 -	- 601 926 -	577 602 920 1297	575 - 913 -	
thiazolidine ring						
	945 - 1775	944 - 1758	- 1156 1764	- 1156 1763	- 1158 1775	
β -lactam ring						
CH ₂ methylene group	468 1419	x	x	x	x	
	x	250 336 492 648 734 793	908 1308 1444 1471 1516 1556	x	x	
isoxazole ring						
NH ₂ amino group	x	x	465 830 1119	1186 1512 1638	x	x
COOH carboxyl group	x	x	x	666 746 1126	1180 1372 1666 1763	x
	x	x	x	x	465 714 958	1125 1239 1397
imidazolidine ring						
NH amide group	x	x	x	x	641 1532	

Reactivitatea antibioticelor a fost descrisă, de asemenea, de Orbitalii Moleculare de Frontieră (FMO) și de parametrii de reactivitate rezultați, precum și de suprafețele de Potențial Electrostatic Molecular (MEPs). Toate calculele au fost efectuate folosind metodele Teoriei Funcționalei de Densitate (DFT).

După cum era de așteptat, pentru toți compușii, cele mai electronegative zone sunt concentrate pe atomii de O din grupările carbonil, în timp ce cele mai electropozitive sunt localizate pe atomii de N. În plus, o altă zonă electronegativă din MEPul OXN este situată pe atomii de O și N ai inelului izoxazol; pentru APN, zonele electronegative sunt situate pe atomul de O din hidroxilul celui de-al doilea carboxil, precum și pe atomul de N al amidei. În MEPul CTR, o a doua zonă electronegativă este situată pe atomul O din inelul β -lactamic.

Luând în considerare atât valorile zonelor electronegative, cât și pe cele electropozitive de pe MEP, dintre compușii selectați – BPN, OXN, APN, CBC, AZL, CFZ, CFP, CRT – cele trei cefalosporine se dovedesc a fi mai buni acceptori și prezintă o reactivitate ridicată comparativ cu penicilinele

selectate, în timp ce în rolul de donatori, CTR, CFZ și CBC cu reactivitate similară față de electronii din jur, urmate de CFP și AZL.

Orbitalii Moleculari de Frontieră (FMO), care includ cel mai înalt orbital molecular ocupat (HOMO) și cel mai jos orbital molecular neocupat (LUMO), oferă informații despre reactivitatea chimică și stabilitatea unei molecule. Figura 1 ilustrează distribuția sarcinilor în FMO a antibioticelor investigate – BPN, OXN, APN, CBC, AZL, CFZ, CFP și CTR, cu valorile negative (roșu) și pozitive (verde) ale orbitalilor. Nivelurile lor de energie și valoarea banzii HOMO-LUMO (HLG) sunt, de asemenea, indicate în fiecare caz.

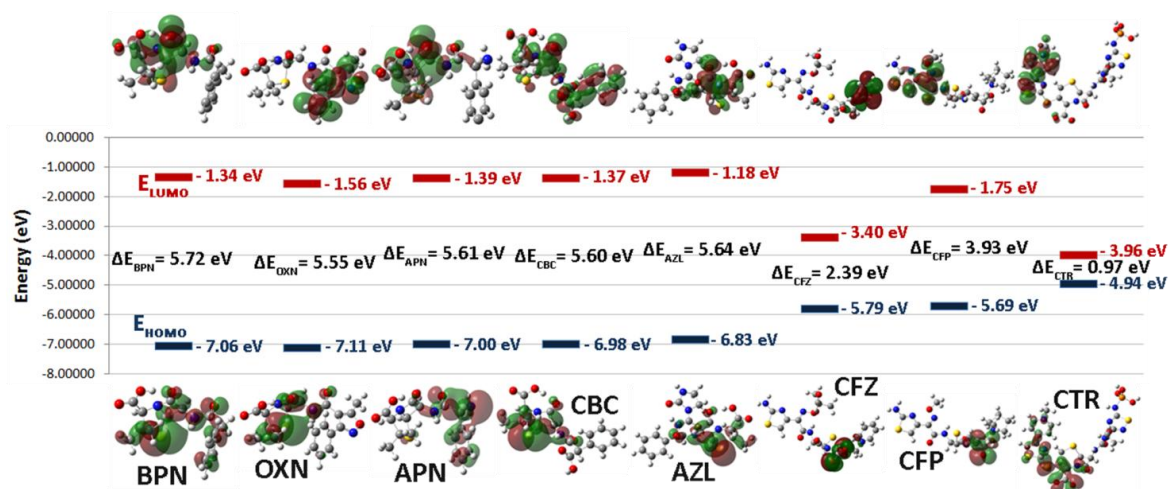


Figura 1 – Diagramele FMO pentru benzilpenicilină (BPN), oxacilină (OXN), ampicilină (APN), carbenicilină (CBC), azlocilină (AZL), ceftazidimă (CFZ), cefepimă (CFP) și ceftarolină (CTR) calculate la nivelul de teorie B3LYP/6-311+G(2d,p). Tipurile de atomi: carbon – gri; azot – albastru; oxigen – roșu; sulf – galben; fosfor – portocaliu; hidrogen – alb.

Împreună cu teoria lui Koopmans (21), care afirmă că prima energie de ionizare a unei molecule este egală cu valoarea negativă a energiei HOMO, mai mulți parametri au fost descriși de-a lungul timpului pentru o mai bună caracterizare a reactivității chimice a unui compus, cum ar fi potențialul de ionizare (I), afinitatea electronică (A), banda HOMO-LUMO (HLG), *global hardness* (η) și *softness* (σ) (22), electronegativitatea (χ) (23) și inversul acesteia, potențialul chimic (μ), și indicele global de electrofilicitate (ω) (24, 25). Toți parametrii menționați anterior sunt calculați atât pentru compușii din clasa penicilinelor - BPN, OXN, APN, CBC și AZL - cât și pentru compușii din clasa cefalosporinelor - CFZ, CFP și CTR. Tabelul 2 rezumă valorile lor calculate.

Tabel 2 – Parametrii de reactivitate obținuți pentru geometriile optimizate ale antibioticelor selectate cu ajutorul calculului DFT folosind nivelul de teorie B3LYP/6-311+G(2d,p). Toate valorile sunt în eV.

Descriptor	Equation	Penicillins					Cephalosporins		
		BPN	OXN	APN	CBC	AZL	CFZ	CFP	CTR
E_{HOMO}		-7.06	-7.11	-7.00	-6.98	-6.83	-5.79	-5.69	-4.94
E_{LUMO}		-1.34	-1.56	-1.39	-1.37	-1.18	-3.40	-1.75	-3.96
I (ionization potential)	$I = -E_{HOMO}$	7.06	7.11	7.00	6.98	6.83	5.79	5.69	4.94
A (electron affinity)	$A = -E_{LUMO}$	1.34	1.56	1.39	1.37	1.18	3.40	1.75	3.96
HLG (HOMO-LUMO gap)	$HGL = E_{HOMO} - E_{LUMO} $	5.72	5.55	5.61	5.60	5.64	2.39	3.93	0.97
η (global hardness)	$\eta = \frac{I - A}{2}$	2.86	2.77	2.80	2.80	2.82	1.19	1.96	0.48

σ (global softness)	$\sigma = \frac{1}{\eta}$	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.83	0.50	2.04
χ (electronegativity)	$\chi = \frac{I + A}{2}$	4.20	4.34	4.20	4.18	4.00	8.82	3.52	20.35
μ (chemical potential)	$\mu = -\frac{I + A}{2}$	-4.20	-4.34	-4.20	-4.18	-4.00	-4.59	-3.72	-4.45
ω (global electrophilicity index)	$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta}$	3.08	3.39	3.14	3.11	2.84	4.59	3.72	4.45

În general, analizând parametrii de reactivitate globală din Tabelul 2, cele opt antibiotice β -lactamice pot fi ordonate de la cel mai probabil la cel mai puțin probabil să prezinte proprietăți bactericide, după cum urmează: dacă sunt luate în considerare valorile ω , CFZ>CTR>CFP>OXN>APN>CBC>BPN>AZL; pentru HGL și σ , CTR>CFZ>CFP>OXN>CBC>APN>AZL>BPN; pentru potențialul de ionizare I, OXN>BPN>APN>CBC>AZL>CFZ>CFP>CTR; în cele din urmă, dacă luăm în considerare electronegativitatea lor χ , ordinea este CTR>CFZ>OXN>BPN>APN>CBC>AZL>CFP. Antibioticul cu cea mai puternică activitate bactericidă ar trebui să aibă cea mai mică HLG și cel mai mare I și ω . Astfel, în clasa penicilinelor, OXN prezintă cea mai puternică activitate bactericidă, dar restul penicilinelor au înregistrat valori apropiate pentru descriptorii de reactivitate. Cefalosporinele CTR și CFZ, pe de altă parte, sunt semnificativ mai reactive decât celelalte β -lactamice testate.

Folosind calculele de frecvență DFT, ne-am propus să dezvăluim asemănările și deosebirile corelate cu structurile chimice pentru cele cinci peniciline - benzilpenicilină, oxacilină, ampicilină, carbenicilină și azlocilină. Am identificat band de la 1002-1004 cm^{-1} ca fiind o bandă Raman specifică tuturor penicilinelor. Pe de altă parte, benzile Raman specifice fiecărui antibiotic au doar intensități subtile. Spectrul Raman al oxacilinei iese în evidență cel mai mult, având benzi specifice la 1606 cm^{-1} , 1444 cm^{-1} și 1471 cm^{-1} . Prin obținerea valorilor pentru Orbitalii Moleculare de Frontieră (FMO) și a suprafețelor de Potențial Electrostatic Molecular (MEP), am identificat oxacilina ca fiind agentul bactericid cu cel mai mare potențial datorită reactivității sale chimice. Carbenicilina, o penicilină de a 4-a generație, este al doilea cel mai bun compus bactericid identificat de aceiași parametrii de reactivitate.

Când se urmărește sinteza unui compus farmaceutic nou, andocarea moleculară poate fi o alternativă mai ieftină, mai accesibilă și rapidă la testele de mare debit bazate pe o tehnologie sofisticată și interdisciplinară, care este adesea disponibilă doar pentru marile companii farmaceutice. Andocarea moleculară este un instrument cheminformatic folosit pentru screeningul virtual al compușilor activi în vederea identificării compușilor cu proprietățile dorite și a eliminării variantelor care nu ar avea efectele scontate.

În **Capitolul 3 - Poate andocarea moleculară să prezică de una singură activitatea bactericidă a antibioticelor?**, scopul studiului a fost de a determina antibioticul cel mai eficient împotriva diferitelor bacterii Gram-pozitive și negative. Antibioticele luate în considerare aparțin celor două clase de beta-lactamice – penicilinele și cefalosporinele. Câte o penicilină din fiecare generație - benzilpenicilină (BPN), oxacilină (OXN), ampicilină (APN), carbenicilină (CBC) și azlocilină (AZN), precum și câte o cefalosporină pentru fiecare a 3-a, a 4-a și a 5-a generație - ceftazidimă (CFZ), cefepima (CFP) și ceftarolina (CTR) au fost selectate pentru studiul *in silico* al relației structură moleculară – mecanism de acțiune.

În urma acestui studiu, cei mai buni conformeri ai fiecărui antibiotic au fost identificați pe baza specificității geometrice, energia de legare și interacțiunea cu reziduurile receptorului. În final am

reușit să identificăm cei mai buni candidați ca agenți bactericizi din punct de vedere al structurii lor conformaționale.

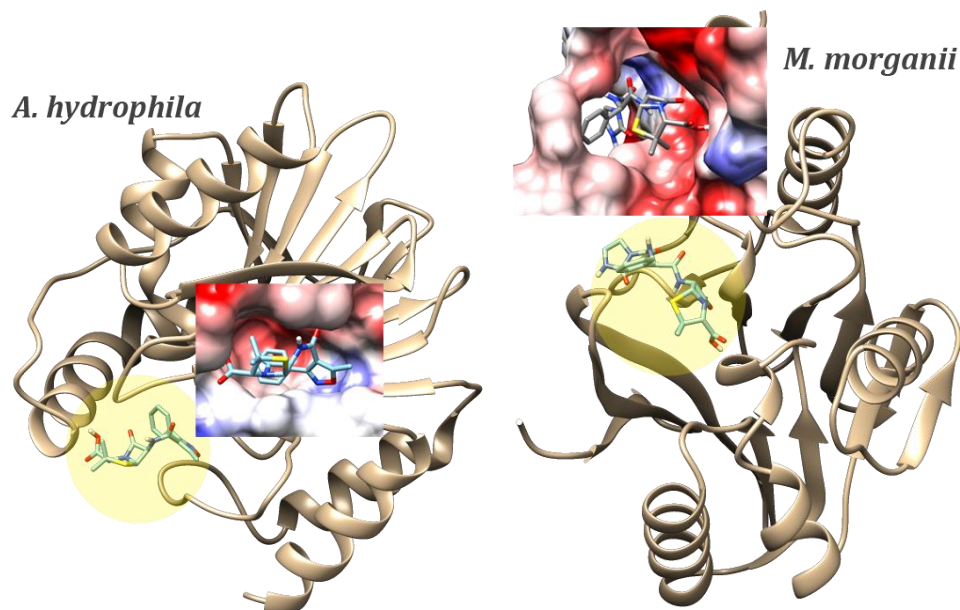


Figura 2 – Poziția situsului de legare a PBPs from GN *A. hydrophila* (PDB id: 1x8i) în complex cu conformerul OXN, care a obținut cea mai mică energie de legare (-8.8 kcal/mol), și *M. morganii* (PDB id: 6l3s) în complex cu conformerul AZL, care a obținut cea mai mică energie de legare (-8.0 kcal/mol). Imaginile mărite indică suprafața electrostatică Coulombică a situsului de legare.

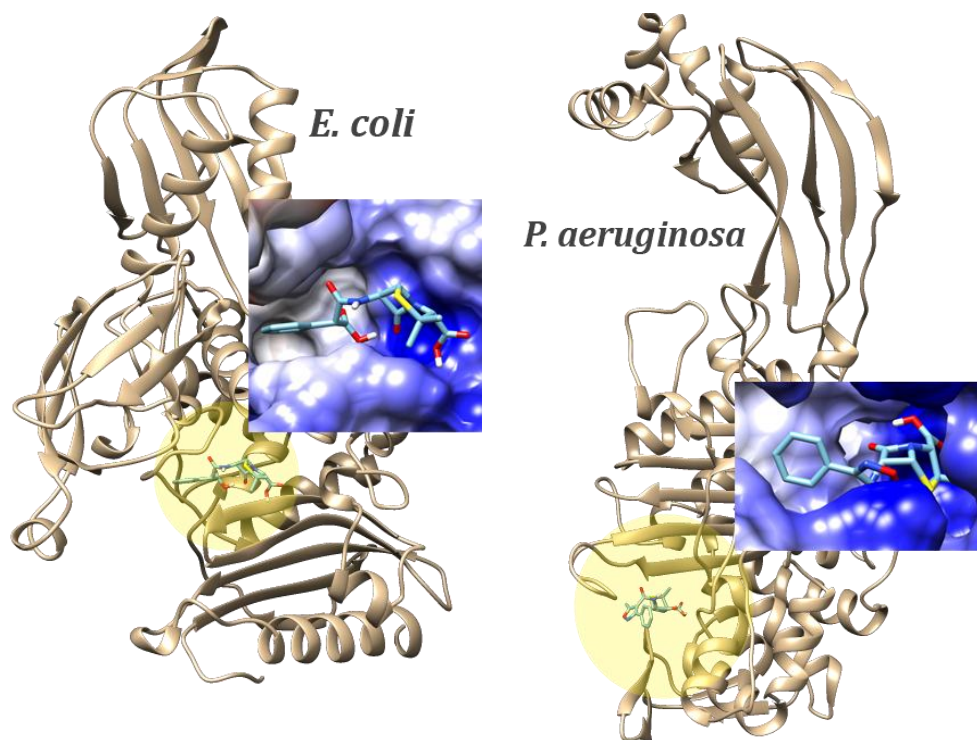


Figura 3 – Poziția situsului de legare a PBPs from GN *E. coli* (PDB id: 2ex6) în complex cu conformerul OXN, care a obținut cea mai mică energie de legare (-8.6 kcal/mol) și *P. aeruginosa* (PDB id: 5df7) în complex cu conformerul OXN, care a obținut cea mai mică energie de legare (-10.3 kcal/mol). Imaginile mărite indică suprafața electrostatică Coulombică a situsului de legare.

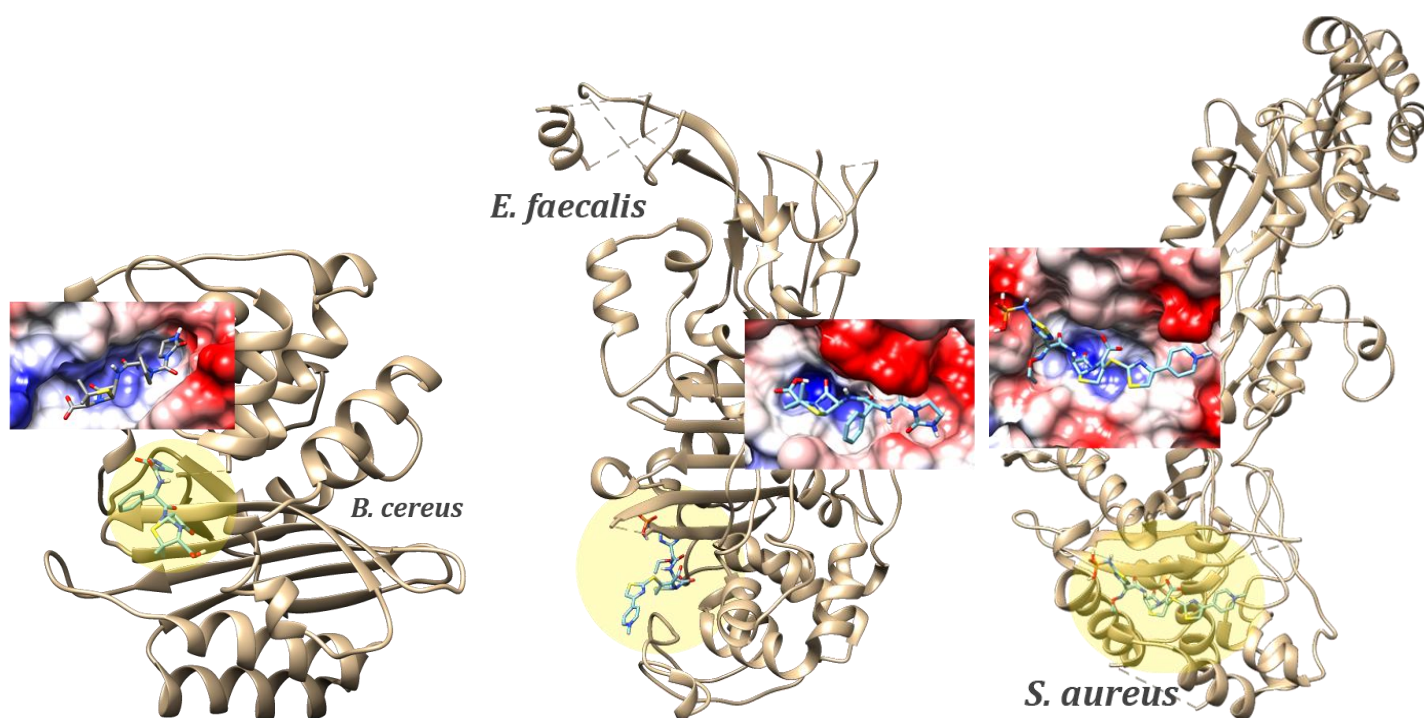


Figura 4 – Poziția situsului de legare a PBP de la GP *B. cereus* (PDB id: 6w33) în complex cu conformerul AZL care a obținut cea mai mică energie de legare (-8.6 kcal/mol) și *E. faecalis* (PDB id: 6mkh) în complex cu conformerul CTR, care a obținut cea mai mică energie de legare (-8.8 kcal/mol) și GP *S. aureus* (PDB id: 6h5o) în complex cu conformerul CTR, care a obținut cea mai mică energie de legare (-8.2 kcal/mol). Imaginile mărite indică suprafața electrostatică Coulombică a situsului de legare.

Testele de difuzie pe disc au fost realizate pentru bacterii Gram-pozitive și Gram-negative în vederea identificării rezultatelor andocării moleculare ca fiind relevante de sine stătătoare pentru prezicerea activității bactericide. Zonele de inhibiție sunt prezentate în Tabelul 4.

Cele mai puternice energii de legare înregistrate de fiecare ligand, precum și valoarea medie pentru conformerii cu cea mai puternică energie din fiecare rulare de cod sunt prezentate în Tabelul 3.

Tabel 3 – Valoarea minimă și medie a energiei de legătură (în kcal/mol) a celui mai bun conformer corespunzător fiecărei rulări a codului pentru peniciline (BPN, OXN, APN, CBC, and AZL) și cefalosporine (CFZ, CFP, CTR) andocat la PBP (id PDB în paranteză) de la *A. hydrophila*, *M. morgani*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *E. faecalis* și *S. aureus*.

Clasă	Patogen	Peniciline					Cefalosporine		
		BPN	OXN	APN	CBC	AZL	CFZ	CFP	CTR
GN	<i>A. hydrophila</i> (1x8i)	-8.0 -7.83±0.21	-8.8 -8.70±0.02	-7.7 -7.51±0.08	-8.3 -8.20±0.10	-8.3 -7.95±0.19	-	-	-
	<i>M. morgani</i> (6l3s)	-7.4 -7.13±0.13	-8.0 -7.81±0.06	-7.3 -7.16±0.07	-7.6 -7.40±0.16	-8.0 -7.86±0.08	-	-	-
	<i>E. coli</i> (2ex6)	-7.8 -7.74±0.05	-8.6 -8.59±0.04	-7.5 -7.44±0.05	-8.2 -8.13±0.05	-8.1 -7.96±0.15	-7.7 -7.70±0.02	-7.6 -7.08±0.44	-8.0 -7.71±0.26
	<i>P. aeruginosa</i> (5df7)	-9.1 -8.22±0.45	-10.3 -9.85±0.46	-8.4 -8.07±0.23	-8.8 -8.63±0.19	-9.6 -9.42±0.06	-9.6 -9.44±0.25	-8.1 -8.05±0.05	-9.1 -8.77±0.17
GP	<i>B. cereus</i> (6w33)	-7.6 -7.26±0.14	-8.5 -8.06±0.13	-7.7 -7.51±0.10	-8.2 -8.09±0.06	-8.6 -8.32±0.12	-	-	-
	<i>E. faecalis</i> (6mkh)	-7.9 -7.61±0.20	-7.8 -7.70±0.03	-7.5 -7.27±0.09	-7.7 -7.50±0.10	-8.6 -8.44±0.18	-8.5 -8.46±0.05	-7.8 -7.80±0.00	-8.8 -8.66±0.11
	<i>S. aureus</i> (6h5o)	-7.5 -7.04±0.38	-7.7 -7.06±0.23	-7.5 -7.15±0.15	-8.0 -7.80±0.10	-7.9 -7.58±0.15	-7.8 -7.50±0.17	-7.5 -7.50±0.00	-8.2 -7.91±0.43

Tabel 4 – Zonele de inhibiție pentru antibioticele selectate pentru patogeni aparținând clasei Gram-negative (GN) - *Aeromonas hydrophila* PAI-45 și PI-88, *Morganella morganii* PI-81, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, cât și clasei Gram-pozitive (GP) - *Bacillus cereus* ESN-09, *Enterococcus lactis* CE-13, *Enterococcus durans* CI-28 (GP), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Micrococcus luteus* DSM 20030. Zonele de inhibiție sunt exprimate în mm iar R înseamnă “rezistent”.

Clasă	Patogen	Peniciline					Cefalosporine		
		BPN	OXN	APN	CBC	AZL	CFZ	CFP	CTR
GN	<i>A. hydrophila</i> PAI-45	R	R	R	R	14.3	-	-	-
	<i>A. hydrophila</i> PI-88	R	R	14.2	20.7	14.5	-	-	-
	<i>M. morganii</i> PI-81	R	R	R	R	R	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	R	R	-	-	-	24.0	28.6	23.0
GP	<i>B. cereus</i> ESN-09	R	R	R	R	R	-	-	-
	<i>E. lactis</i> CE-13	14.7	R	22.7	14.2	18.7	-	-	-
	<i>E. durans</i> CI-28	16.3	R	24.0	16.1	20.1	-	-	-
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	32.7	26.6	-	-	-	16.2	25.5	29.7
	<i>M. luteus</i> DSM 20030	-	-	-	-	-	34.8	43.3	39.6

Rezultatele cheie ale studiului de andocare moleculară au demonstrat că atât un antibiotic de generație nouă (azlocilină) cât și un antibiotic de generație mai veche (oxacilină) sunt eficiente împotriva diferitelor proteine de legare a penicilinei din bacteriile GP și GN. OXN a obținut cele mai puternice energii de legare la *Aeromonas hydrophila* (GN) ($-8,70 \pm 0,02$ kcal/mol) și *Morganella morganii* (GN) ($-7,86 \pm 0,08$ kcal/mol), în timp ce AZL a obținut cele mai puternice energii de legare la *Bacillus cereus* (GP) ($-8,32 \pm 0,12$ kcal/mol) și *Enterococcus faecalis* ($-8,44 \pm 0,18$ kcal/mol). Activitatea lor bactericidă a fost testată și confirmată pe diferite specii GP și GN, folosind metoda difuziei pe disc.

În cele din urmă, în **Partea a II-a**, pe baza unui set de date ce conține amprente spectrale SERS de la trei specii de *Candida*, ne-am propus să dezvoltăm o metodă de diagnoză moleculară a infecțiilor fungice prin combinarea spectroscopiei Raman-amplificată la suprafață, a analizelor multivariate, cum ar fi PCA și LDA-PCA și a metodelor de spectroscopie teoretică de mare precizie. Această metodă reprezintă niște primi pași pentru accesul la o detecție precoce a rezistenței patogene, fiind o alternativă promițătoare mai rapidă, fiabilă, competitivă și rentabilă pentru detecția și tratamentul infecțiilor cauzate de patogeni.

PCA a fost realizată pe o bază de date care conține spectre SERS ale speciilor de *Candida*. Am dezvoltat un model de clasificare care conține trei specii diferite - *Candida albicans*, *Candida glabrata* și *Candida parapsilosis*. Din cauza numărului redus de probe, ne-am folosit de metode computaționale de multiplicare a datelor pentru extinderea bazei de date. Metoda de diagnoză cuprinde un model de discriminare și un model de clasificare. Pentru modelul de clasificare am obținut o acuratețe de 95%. De asemenea, am obținut o precizie de 98%, sensibilitate de 95% și specificitate de 97%.

În plus, am identificat benzile marker SERS responsabile de discriminarea speciilor. Pe lângă asta, am făcut un pas mai departe în determinarea originii acestora. Știm că semnalul SERS provine de la peretele celular fungic. Drept urmare, parte din aceste benzi ar trebui să fie semnal SERS provenit de la unul sau mai multe componente ale peretelui celular cum ar fi - N-acetilglucozamină, β -1,3-glucan, β -1,6-glucan și manoză.

Am obținut, în premieră, spectrele Raman calculate pentru N-acetilglucozamină, β -1,3-glucan, β -1,6-glucan și manoză. Cu ajutorul acestora, am identificat în detaliu modul în care benzile Raman ale

acestor componente ale peretelui celular se corelează cu spectrele SERS ale celor trei specii de *Candida*.

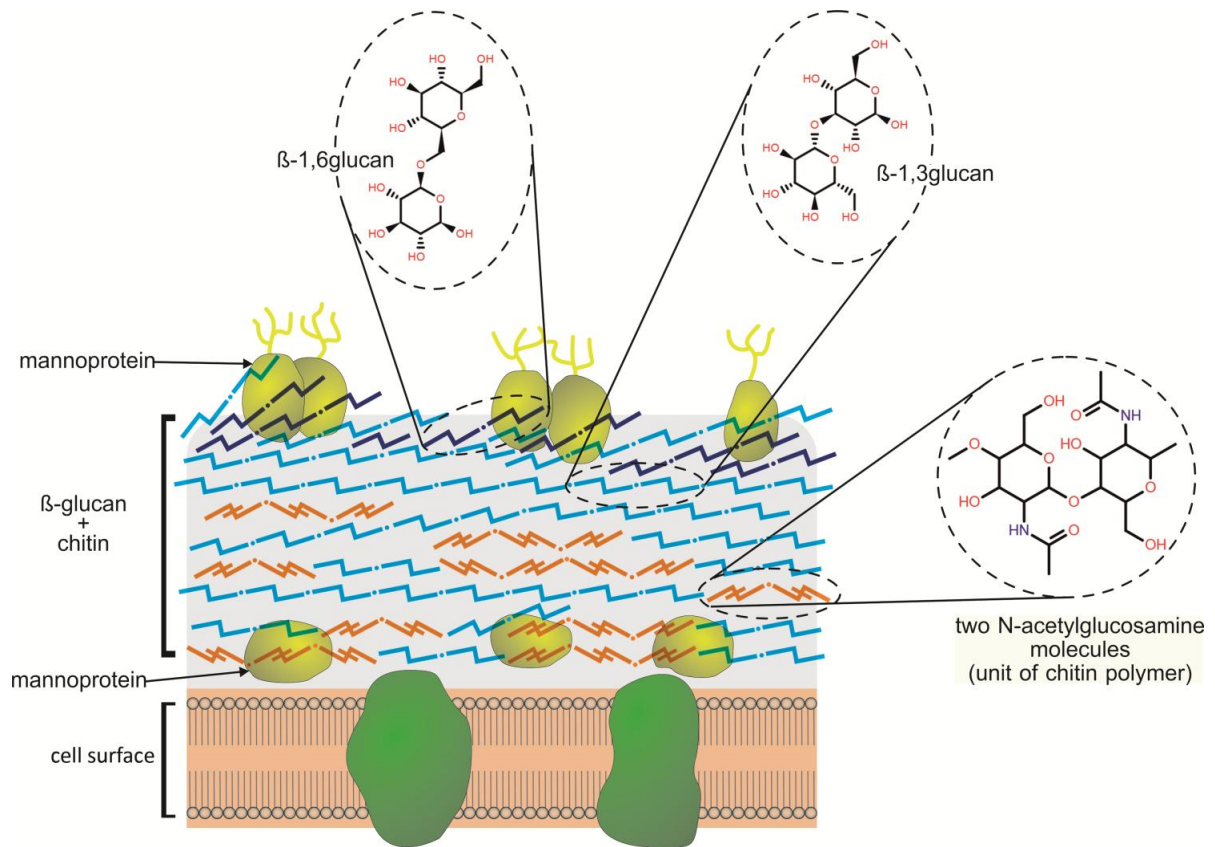


Figura 5 – Structura peretelui celular fungic.

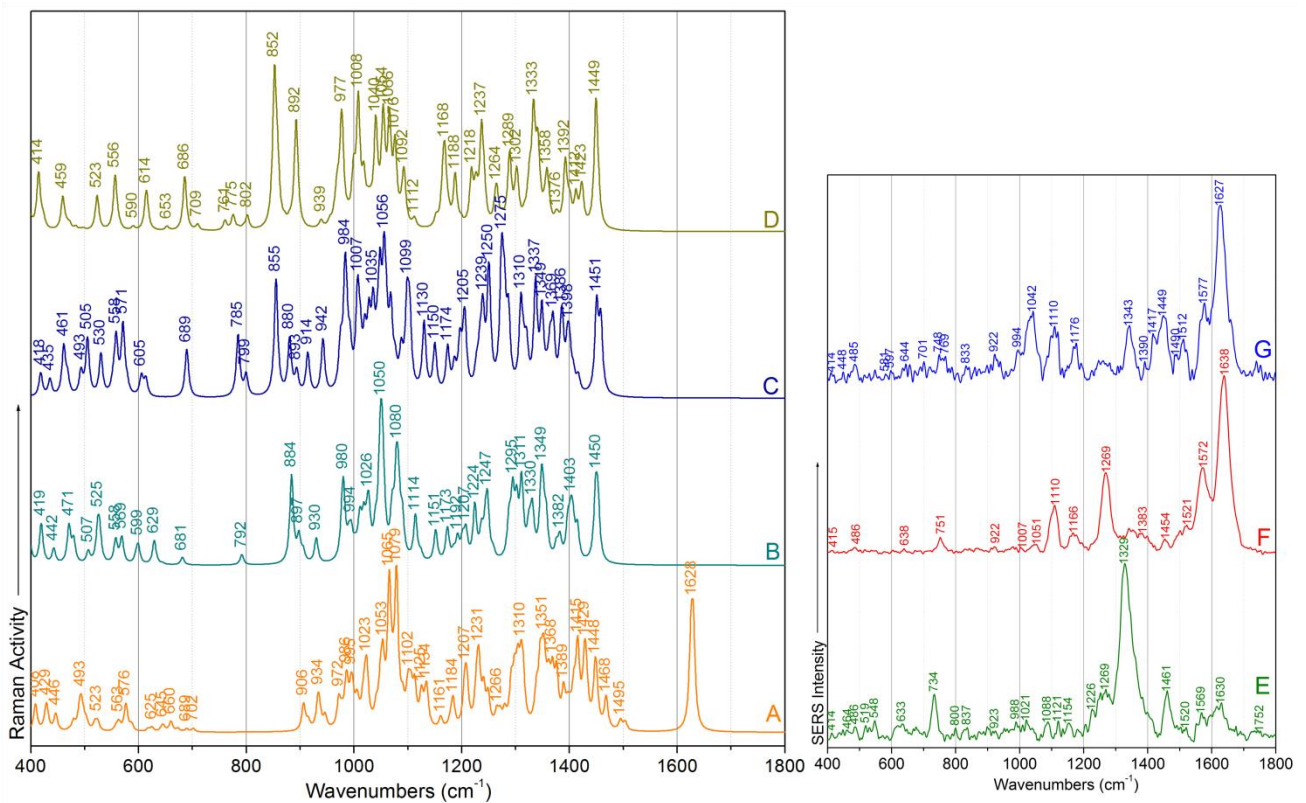


Figura 6 – Spectre Raman calculate pentru N-acetylglucosamine (A), β -1,3-glucan (B), β -1,6-glucan (C) și manoză (D); spectre SERS reprezentative pentru *C. parapsilosis* (E), *C. glabrata* (F) și *C. albicans* (G).

Tabel 5 – Atribuirea de moduri vibraționale celor mai comune benzi SERS ale speciilor de *Candida* comparativ cu corespondentul componentelor peretelui celular fungic, obținute din calcule DFT la nivelul de teorie B3LYP/6-311++G(d,p).

Experimental	Calculated	Molecule	Assignment
414-415	414	mannose	$\delta(\text{OH}) + \delta(\text{CH})$
	418	β -1,6-glucan	$\beta(\text{OCC}) + \delta(\text{OH}) + \delta(\text{CH})$ (in plane deformation of ring)
	419	β -1,3-glucan	$\beta(\text{COC}) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$ (in plane deformation of ring)
485-486	480	N-acetylglucosamine	$\delta(\text{NH}) + \text{ring breathing}$
633-644	646	N-acetylglucosamine	$\delta(\text{NH}) + \rho(\text{CH}_3) + \delta(\text{CH})$
701	709	mannose	$\beta(\text{OCO}) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
	702	N-acetylglucosamine	$\beta(\text{OCO}) + \delta(\text{CH})$
734-751	761	mannose	$\beta(\text{CCC}) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
800-806	802	mannose	$\beta(\text{OCC}) + \delta(\text{OH}) + \delta(\text{CH})$ (in plane deformation of ring)
	800	β -1,6-glucan	$\beta(\text{CCC}) + \delta(\text{OH}) + \delta(\text{CH})$
922-923	939	mannose	$\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CO}) + \delta(\text{CH})$
	942	β -1,6-glucan	$\nu(\text{CO}) + \delta(\text{CH})$
	934	N-acetylglucosamine	$\rho(\text{CH}_2) + \nu(\text{OH})$ (intramolecular HB)
989-1007	990	β -1,3-glucan	$\nu(\text{CO}) + \delta(\text{OH}) + \delta(\text{CH})$
	997	N-acetylglucosamine	$\nu(\text{CO}) + \delta(\text{CH})$
1021-1042	1040	mannose	$\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CO}) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
	1024; 1024	N-acetylglucosamine	$\nu(\text{CO}); \nu(\text{CC}) + \nu(\text{CO}) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
1088	1092	mannose	$\nu(\text{CC}) + \rho(\text{CH}_2) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
	1088	β -1,6-glucan	$\nu(\text{CO}) + \nu(\text{CC}) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
1110	1112	mannose	$\nu(\text{CO}) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
	1114	β -1,3-glucan	$\nu(\text{CC}) + \nu(\text{CO}) + \rho(\text{CH}_2) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
	1112	N-acetylglucosamine	$\nu(\text{CN}) + \nu(\text{CN}) + \delta(\text{NH}) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
1121	1125	N-acetylglucosamine	$\nu(\text{CO}) + \nu(\text{CC}) + \delta(\text{CH})$
1224-1226	1226	mannose	$\tau(\text{CH}_2) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
	1224	β -1,3-glucan	$\tau(\text{CH}_2) + \delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
1262-1269	1265	mannose	$\delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH}) + \tau(\text{CH}_2)$
	1265	N-acetylglucosamine	$\delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
1329-1343	1333	mannose	$\delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
	1337	β -1,6-glucan	$\delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
	1331	β -1,3-glucan	$\delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
1383-1390	1392	mannose	$\delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH}) + \omega(\text{CH}_2)$
	1386	β -1,6-glucan	$\delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
	1382	β -1,3-glucan	$\delta(\text{CH}) + \delta(\text{OH})$
	1389	N-acetylglucosamine	$\delta(\text{CH}) + \omega(\text{CH}_2)$
1449-1461	1449	mannose	$\beta(\text{CH}_2)$
	1450; 1458	β -1,6-glucan	$\beta(\text{CH}_2); \beta(\text{CH}_2)$ between rings
	1448; 1453	β -1,3-glucan	$\beta(\text{CH}_2); \beta(\text{CH}_2)$
	1447	N-acetylglucosamine	$\beta(\text{CH}_2)$
1520-1521	1495; 1504	N-acetylglucosamine	$\nu(\text{CN}) + \delta(\text{NH}) + \delta(\text{NH}); \nu(\text{CN}) + \delta(\text{NH}) + \delta(\text{CH})$
1627-1638	1626; 1630	N-acetylglucosamine	$\nu(\text{C=O}); \nu(\text{C=O}) + \delta(\text{NH})$

ν – stretching; β – bending; δ – out of plane bending; ρ – rocking; ω – asymmetric stretching; τ – twisting; HB – hydrogen bonding

REFERINȚE

1. Oancea S, Stoia M. Rom Biotechn Letters 2010;15(5):5519-29.
2. A. H, al. e. Rom Biotechn Letters. 2013;18(6):8843-54.
3. Lode H. Clinic Microbiol Infection. 2005;11(10):778-87.
4. Girijala RL, Bush RL. Global Journal of Medicine and Public Health. 2017;6(1).
5. A H, S H, J C, al. e. Antimicrob Resist Infect Control. 2013;2(31).
6. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. 2014.
7. RM K, JR E, Jr. RC, al. e. Public Health Rep. 2007;6:122-60.
8. Q L, Hao C, Xu Z. Sensors. 2017;17:627.
9. Chen J, al. e. Laser Phys Letters. 2016;13(10):105601.
10. Y. Z, al. e. Laser Phys Letters. 2016;13(6):065604.
11. K K, al. e. J Physics-Cond Matter, 14(18), 2002, R597-R624. 2002;14(8):R597-R624
12. Zhou H, Yang D, Ivleva NP, Mircescu NE, al. e. Analytical Chemistry. 2014;86(3):1525-33.
13. Zhou H, Yang D, Ivleva NP, Mircescu NE, Schubert S, Niessner R, et al. Label-Free in Situ Discrimination of Live and Dead Bacteria by Surface-Enhanced Raman Scattering. Analytical Chemistry. 2015;87(13):6553-61.
14. Zhou H, Yang D, Mircescu NE, al. e. Microchimica Acta. 2015;183(13):2259-66.
15. Mircescu NE, Zhou H, Leopold N, al. e. Anal Bioanal Chem. 2014;406(13):3051-8.
16. Dina NE, Zhou H, Colniță A, Leopold N, al. e. Analyst. 2017;142:1782-9.
17. Colniță A, Dina NE, Leopold N, Vodnar DC, Bogdan D, Porav SA, et al. Characterization and discrimination of gram-positive bacteria using Raman Spectroscopy with the aid of principle component analysis. Nanomat. 2017;7(9):248.
18. D. Yang HZ, N.E. Dina, C. Haisch. Royal Soc Open Sci. 2018;5(9):180955.
19. DINA NE, MARCONI D, Alia COLNIȚĂ, GHERMAN AMR. Microfluidic portable device for pathogens' rapid SERS detection. Proceedings. 2020;60(1):2.
20. Frisch MJ, Trucks HB, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. Gaussian 09, Revision B.01. Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2010; 2010.
21. Koopmans T. Über die Zuordnung von Wellenfunktionen und Eigenwerten zu den Einzelnen Elektronen Eines Atoms. Physical Review B: Condensed Matter. 1934;1(1-6):104-13.
22. Parr RG, Pearson RG. Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. Journal of American Chemical Society. 1983;105:7512-6.
23. Parr RG, Donnelly RA, Levy M, Palke WE. Electronegativity: The density functional viewpoint. Journal of Chemical Physics. 1978;68(8):3801.
24. Maynard AT, Huang M, Rice WG, Covell DG. Reactivity of the HIV-1 nucleocapsid protein p7 zinc finger domains from the perspective of density functional theory. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1998;95:11578-83.
25. Parr RG, Szentpály Lv, Liu S. Electrophilicity Index. Journal of American Chemical Society. 1999;121:1922-4.

DISEMINAREA REZULTATELOR

Articole pe subiectul tezei:

1. "Cheminformatic study on structural and bactericidal activity of latest generation β -lactams on widespread pathogens", **Ana Maria Raluca GHERMAN**, Nicoleta Elena DINA, Vasile CHIȘ, submitted paper at Pharmaceuticals (IF₂₀₂₁: 6.525; AI₂₀₂₁: 0.879; **Q1**)
2. "Finding specific spectral features for surface-enhanced Raman response of *Enterococcus faecalis* assisted by multivariate analysis when using common silver sols", Laurențiu STĂNCIOIU, **Ana Maria Raluca GHERMAN**, Nicoleta Elena DINA, Romanian Reports in Physics, 2021, 73 (4), 604 (IF₂₀₂₁: 2.085; AI₂₀₂₁: 0.202; **Q3**)
<http://www.rrp.infim.ro/2021/AN73604.pdf>
3. "Fuzzy characterization and classification of bacteria species detected at single-cell level by surface-enhanced Raman scattering", Nicoleta Elena DINA, **Ana Maria Raluca GHERMAN**, Alia COLNIȚĂ, Daniel MARCONI, Costel SÂRBU, Spectrochimica Acta, Part A, 2021, 247, 119149, DOI: 10.1016/j.saa.2020.119149 (IF₂₀₂₁: 4.831; AI₂₀₂₁: 0.491; **Q1**) (5 citations)
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386142520311288>
4. "Identification of Salmonella serovars before and after ultraviolet light irradiation by Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy and Chemometrics", Cristina M. MUNTEAN, Nicoleta Elena DINA, Alexandra TĂBĂRAN, **Ana Maria Raluca GHERMAN**, Alexandra FĂLĂMAȘ, Loredana E. OLAR, Liora M. COLOBĂȚIU, Răzvan ȘTEFAN, Anal. Letters, 2021, 54 (1-2), 150-172, DOI: 10.1080/00032719.2020.1731524 – conference paper (IF₂₀₂₁: 2.267; AI₂₀₂₁: 0.230; **Q3**) (4 citations)
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00032719.2020.1731524>
5. "Yeast cell wall – silver nanoparticles interaction: A synergistic approach between surface enhanced Raman scattering and computational spectroscopy tools", **Ana Maria Raluca GHERMAN**, Nicoleta Elena DINA, Vasile CHIȘ, Andreas Wieser, Christoph HAISCH, Spectrochimica Acta, Part A, 2019, 222, 117223, DOI: 10.1016/j.saa.2019.117223 (IF₂₀₁₉: 3.232; AI₂₀₁₉: 0.410; **Q1**) (8 citations)
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386142519306134>
6. "Label-free detection of bacteria using Surface-Enhanced Raman Scattering and Principal Component Analysis", Ionuț Bogdan COZAR, Alia COLNIȚĂ, Tiberiu SZÖKE-NAGY, **Ana Maria Raluca GHERMAN**, Nicoleta Elena DINA, Analytical Letters, 2019, 52 (1), Special Issue, DOI: 10.1080/00032719.2018.1445747 (IF₂₀₁₉: 1.467; AI₂₀₁₉: 0.202; **Q3**) (5 citation)
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00032719.2018.1445747>
7. "Characterization of clinically relevant fungi via SERS Fingerprinting assisted by novel chemometric models", Nicoleta Elena DINA, **Ana Maria Raluca GHERMAN**, Vasile CHIȘ, Costel SÂRBU, Andreas WIESER, David BAUER, Christoph HAISCH, Analytical Chemistry 2018, 90 (4), 2484-2492, DOI: 10.1021/acs.analchem.7b03124 (IF₂₀₁₈: 6.35; AI₂₀₁₈: 1.348; **Q1**) (23 citations)
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.7b03124>

Σ_{AI} : 2.883

6 (șase) articole în jurnale ISI, dintre care 2 (două) ca prim-autor

1 articol ca prim-autor trimis la un jurnal cu AI: 0.879

citări: 45

Participări la conferințe pe subiectul tezei

Prezentări orale:

1. 17th Scandinavian Symposium on Chemometrics (SSC17), "Inter- and intra-class discrimination based on multivariate analyses applied on bacterial SERS fingerprints", **Ana Maria Raluca GHERMAN**, Nicoleta Elena DINA, 6th-9th September 2021, Aalborg, Denmark
2. 12th International Conference on Processes in Isotopes and Molecules (PIM 2019), "*Principal Component Analysis as a discriminant tool. A case study on microorganisms*", **Ana Maria Raluca GHERMAN**, Vasile CHIȘ, Nicoleta Elena DINA, 25th – 27th September 2019, Cluj-Napoca, Romania
3. Prima Conferință Interdisciplinară pentru Studenți Doctoranzi, Babeș-Bolyai University, "*Accurate Prediction of Raman and NMR Spectra of Biomolecules*", **Ana-Maria-Raluca GHERMAN**, Vasile CHIȘ, 10th – 12th June 2016, Baru Mare, Hunedoara, Romania

Prezentare de poster:

1. 6th International Conference of Analytical and Nanoanalytical Methods for Biomedical and Environmental Sciences (IC-ANMBES 2022), "*Can molecular docking solely predict antibiotics' bactericidal activity?*", **Ana Maria Raluca GHERMAN**, Vasile CHIȘ, Nicoleta Elena DINA, 8th – 10th June 2022, Brașov, Romania – **BES Scholarship for Romanian students**
2. 11th International Conference on Processes in Isotopes and Molecules (PIM 2017), "*The bactericidal activity of some penicillins revealed by a synergistic approach between DFT and Raman Spectroscopy*", **Ana-Maria-Raluca GHERMAN**, Nicoleta Elena DINA, Silvia NEAMȚU, Vasile CHIȘ, 27th – 29th September 2017, Cluj-Napoca, Romania
3. 11th Triennial Congress of the World Association of Theoretical and Computational Chemists (WATOC 2017), "*Raman technique and Density Functional Theory – the 'R' & 'D' in Research and Development of antibiotics*" **Ana-Maria-Raluca GHERMAN**, Nicoleta Elena DINA, Ionuț Bogdan COZAR, Vasile CHIȘ, 27th August – 1st September 2017, München, Germany

6 (șase) participări la conferințe:

- 2 (două) prezentări orale la conferințe internaționale
 - 1 (o) prezentare orală la conferință națională
- 3 (trei) prezentări de poster la conferințe internaționale