

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Пашинської Влади Анатоліївни «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин», подану на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика (фізико-математичні науки)

Дисертаційна робота Пашинської Влади Анатоліївни «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» присвячена визначенню мас-спектрометричних маркерів, що пов'язані з фізичними механізмами процесів за участю біологічно активних речовин на молекулярному рівні.

Актуальність теми дисертації пов'язана з медичними і екологічними проблемами сьогодення, тому що біологічно активні сполуки є складовими аерозольних частинок довкілля, а також ефективними ліками. Тематика, що розробляється Пашинською Владою Анатоліївною є продовженням тих робіт, що були започатковані у відділі молекулярної біофізики Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України професором Юрієм Павловичем Благим, та у нашому відділі фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України під керівництвом професора Валерія Миколайовича Харкянена.

В представленій дисертаційній роботі Пашинської В.А., розвинутий **актуальний** методологічний підхід, що полягає в визначенні мас-спектрометричних маркерів молекулярно-фізичних процесів, в яких задіяні біологічно-активні сполуки, що в поєднанні з іншими методами дає можливість отримати дані щодо міжмолекулярних взаємодій та зрозуміти механізми фізичних процесів, що досліджуються. Цей підхід визначення мас-спектрометричних маркерів біофізичних процесів на молекулярному рівні, на мій погляд, можна вважати **новаторським** та перспективним трендом в застосуванні спектральних методів. Саме такі методи активно використовуються, наприклад, в Інституті органічної хімії та біохімії Чеської Академії Наук у Празі (Чеська Республіка) для розшифровки структур вірусів і бактерій та вивчення їхніх взаємодій, маючи в одному інституті до десятка мас-спектрометрів нового покоління.

Дисертаційна робота Пашинської В.А. є комплексним багаторічним дослідженням, що мало на меті встановити молекулярно-фізичні механізми та

визначити мас-спектрометричні маркери процесів за участю ряду біологічно активних речовин, серед яких були лікарські агенти та органічні компоненти аерозолів з довкілля. Дослідження виконувалась у відділі молекулярної біофізики Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Веркіна НАН України у відповідності до затверджених планів наукової діяльності відділу в період з 2000 до 2022 роки, а також особисто здобувачкою під час наукових відряджень в рамках міжнародних проєктів міжакадемічного співробітництва та в рамках роботи Пашинської в якості запрошеного дослідника в Університеті міста Антверпен (Бельгія) в 2001-2003 рр.

Докторська дисертація Влади Анатоліївни оформлена у вигляді наукової доповіді у відповідності до Вимог до оформлення дисертації, затверджених наказом МОН України № 40 від 12 січня 2017 року. Основні наукові результати дисертації опубліковано в 22 статтях у провідних наукових фахових виданнях. 12 статей, що містять основні наукові результати дисертації, опубліковані в журналах Q1 та Q2, таких як Science, Rapid Communication in Mass Spectrometry, Chemical Physics, Journal of Molecular Structure та інших, тому, відповідно до вимог для докторських дисертацій, передбачених чинним Наказом МОН України №1220 від 23.09.2019р. «Про опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук», дисертаційна робота Пашинської В.А. подана до захисту за сукупністю наукових робіт (у вигляді наукової доповіді). Дисертація має анотацію, вступ, чотири розділи (підрозділами яких є наукові статті здобувачки наукового ступеня) з окремо сформульованими в кінці розділів підсумками, загальні висновки, список використаних джерел, додатки. Обсяг дисертації становить 303 сторінки. Дисертація містить 108 рисунків, 13 схем та 35 таблиць. Список використаних джерел включає 669 посилань. Додаток займає 9 сторінок.

У **вступі** дисертації обґрунтовано актуальність теми дисертації та проаналізовано стан сучасних досліджень з даної тематики, сформульовано мету та задачі досліджень, описано наукове й практичне значення роботи, особистий внесок здобувачки та апробацію результатів дисертації.

До складу **першого розділу дисертації** входять наукові статті, що містять результати досліджень міжмолекулярних взаємодій біологічно активних речовин лікарського призначення (представників груп протималарійних, протиінфекційних препаратів, кардіопротекторного агенту) з потенційними біомолекулами-мішенями та їх компонентами з метою визначення молекулярно-фізичних механізмів дії цих речовин на біосистеми. Модельні системи, що

містили молекули біологічно активних агентів та біомолекули вивчалися із застосуванням експериментальних методів м'якоіонізаційної мас-спектрометрії, а також методів квантово-механічних розрахунків DFT та MP2.

У **другому розділі** роботи містяться наукові публікації, в яких викладено результати досліджень молекулярно-фізичних процесів, що можуть відбуватися при сумісному використанні лікарських речовин різних груп та призводити до зміни їх біологічної активності. В роботах визначені мас-спектрометричні маркери процесів міжмолекулярної конкуренції між протималарійними препаратами артемізинінового ряду та аспірином (або вітаміном С) за зв'язування з мембранними фосфоліпідами, а також формування стабільних нековалентних комплексів між препаратами різних груп в полярному середовищі.

Третій розділ дисертації присвячений дослідженням методами м'якоіонізаційної мас-спектрометрії, а також розрахункам, виконаним полуемпіричним методом AM1, модельних систем, що містили бісчетвертинні амонієві протиінфекційні речовини та молекули (або іони) сольватного оточення. Ці дослідження продемонстрували значну роль міжмолекулярних взаємодій дикатонів бісчетвертинних амонієвих сполук з частинками сольватного оточення в забезпеченні структурної стабільності цих протиінфекційних агентів.

В **четвертому розділі** дисертації наведено наукові статті з результатами досліджень, що проводилися з метою визначення за допомогою методу газової хроматографії/мас-спектрометрії (ГХ/МС) біологічно активних речовин та їхніх міжмолекулярних взаємодій у складі частинок атмосферних аерозолів, що характеризуються значним біологічним впливом. В наукових роботах цього розділу розроблено та апробовано нову методику на базі метода ГХ/МС для визначення основних органічних компонентів аерозольних частинок довкілля – а саме моносахарідних ангідридів, поліолів та інших біологічно активних сполук.

Висновки дисертації містять основні наукові положення та висновки щодо вирішення поставленої в роботі мети для досліджених систем, що містили біологічно активні речовини.

Проаналізувавши дисертацію Пашинської В.А. та наукові статті, що входять до складу роботи, можу зазначити, що дисертаційна робота характеризується єдністю та комплексністю проведених досліджень, що дозволяє з отриманих результатів окреслити напрямки подальшого наукового пошуку в рамках тематики поданої

роботи. Дисертація написана фаховою українською мовою з дотриманням вимог наукового стилю. Дисертація супроводжується рефератом, що містить загальну характеристику роботи та чітко висвітлює основний зміст проведених досліджень та отриманих результатів.

Обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій дисертаційної роботи Пашинської В.А. визначається застосуванням в дослідженнях комплексу надійних, добре апробованих експериментальних мас-спектрометричних методик та теоретичних квантово-механічних розрахункових методів, що дозволило отримати достовірні результати та зробити чіткі та логічні висновки. Надані в роботі рекомендації щодо застосування розвинутих мас-спектрометричних методик та біофізичних знань є обґрунтованими з точки зору отриманих результатів та мають значну практичну цінність.

Новизна, загальнонаціональне та світове значення отриманих результатів

Результати докторської дисертації Пашинської В.А. та, зокрема її наукові публікації, які складають підрозділи роботи, дозволяють підкреслити **новизну** отриманих даних, їх **наукове та практичне значення** для розвитку національної та світової науки. Науковою біофізичною цінністю характеризуються результати щодо встановлення явища формування в системах *in vitro* стабільних нековалентних комплексів ряду досліджених лікарських сполук з потенційними біомолекулами-мішенями, з молекулами, що є супутніми активними речовинами при лікуванні, а також з частинками сольватного оточення. Серед отриманих вперше результатів найбільш важливими і цікавими є наступні:

- Визначено мас-спектрометричні маркери формування стабільних нековалентних комплексів протималярійних препаратів артемізинінового ряду з гемом та запропоновано молекулярно-фізичний механізм, пов'язаний із протималярійною дією цих широковживаних ліків.
- Встановлено явище конкуренції між протималярійними артемізиніновими агентами (дигідроартемізинін, α -артеметер, артезунат) та молекулами аспірину або вітаміну С за нековалентну асоціацію з мембранним фосфоліпідом дипальмітоїлфосфатидилхоліном (DPPC) та встановлено мас-спектрометричні маркери цього процесу.
- Встановлено специфічне комплексоутворення молекули противірусного препарату тилорон із нуклеозидом уридином, що запропоновано в якості молекулярно-фізичного механізму, пов'язаного з противірусною активністю тилорону.

- Розроблено нову методику на базі методу газової хроматографії/мас-спектрометрії (ГХ/МС) для визначення біологічно активних моносахаридних ангідридів у складі частинок атмосферних аерозолів. Застосування методу ГХ/МС для дослідження аерозольних зразків, що були зібрані в різних регіонах світу, дозволили вперше ідентифікувати раніше не визначені речовини в складі аерозольних частинок, а саме 2-метилтреїол та 2-метилеритритол, що було опубліковано в журналі Science (ця стаття має більше 1600 цитувань).

Важливо, що розроблена ГХ/МС методика визначення біологічно активних речовин в складі аерозолів, може бути використана в надзвичайно актуальних як для України, так і для всього світу дослідженнях стану довкілля в умовах активного ведення бойових дій в нашій країні.

Повнота викладу результатів в наукових публікаціях

Результати докторської дисертації Пашинської В.А. представлено в 22 статтях за темою дисертації у провідних фахових наукових виданнях: з них більшість - 16 статей опубліковано в виданнях, що проіндексовані у базах даних Web of Science Core Collection та Scopus, включаючи, журнали, віднесені до першого і другого квартилів (Q1 і Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal & Country Rank – 12 статей, до третього квартилю (Q3) – 4 статті. Результати дисертаційних досліджень здобувачки також апробовано на численних міжнародних конференціях, а список публікацій, в яких висвітлено результати роботи, включає 23 тези доповідей на міжнародних наукових заходах. Особистий внесок здобувачки в опубліковані зі співавторами наукові праці за темою дисертаційної роботи вбачається таким, що свідчить про наукову зрілість Пашинської В.А. та її здатність самостійно формувати завдання наукових досліджень, самостійно та в складі наукової команди (включаючи міжнаціональні наукові команди) отримувати наукові результати сучасними фізичними методами (як експериментальними так і розрахунковими), аналізувати отримані дані та формулювати наукові висновки та положення, що публікуються у вигляді наукових статей в авторитетних наукових національних та міжнародних виданнях.

Відсутність (наявність) академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації

Дисертація «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин», як кваліфікаційна наукова праця, оформлена для наукової доповіді, підготовлена здобувачкою самостійно. Дисертація містить наукові статті в якості розділів дисертації. Використані в

дисертації та в наукових публікаціях ідеї та результати досліджень інших науковців мають відповідні посилання. Уважне вивчення дисертації та статей здобувачки дозволяють стверджувати, що дослідження були проведені надійними методами мас-спектрометрії на сучасному обладнанні за чітко описаними відтворюваними методиками. В наукових публікаціях наводяться оригінальні експериментальні мас-спектри, що незалежно можуть бути проаналізовані читачем. Також дисертанткою використовувались добре апробовані методи квантово-механічних розрахунків та широковживане програмне забезпечення «Gaussian». Зроблені в роботі висновки добре узгоджуються з існуючими літературними даними. Все вищезазначене вказує на відсутність ознак фабрикації або фальсифікації в проведених дослідженнях та на відповідність дисертації вимогам академічної доброчесності.

Зауваження, дискусійні питання та рекомендації стосовно положень докторської дисертації

Високо оцінюючи новизну, наукове та практичне значення отриманих в рамках докторської дисертації Пашинської В.А. результатів, хотілося б надати наступні зауваження та рекомендації, які виникли при аналізі дисертації та публікацій:

1. Оскільки в дисертаційній роботі для вивчення нековалентних комплексів кардіопротекторного агенту флокалін з вибраними амінокислотами було застосовано комплекс методів, що поєднував експериментальний метод мас-спектрометрії та розрахунковий метод DFT, це дозволило не тільки експериментально підтвердити формування комплексів, а й визначити їх структурно-енергетичні характеристики. Виникає питання чому такий комплекс методів не був застосований для вивчення взаємодії ряду інших біологічно активних речовин з біомолекулами та їх компонентами. Зокрема, чому після реєстрації в експерименті формування нековалентних комплексів протималарійних препаратів з гемом не було зроблено розрахунків енергетичних та структурних параметрів таких комплексів?
2. Рекомендовано продовжити дослідження та вивчити методом мас-спектрометрії або іншими релевантними спектральними методами, наприклад ІЧ та Раман спектроскопією, міжмолекулярну взаємодію визначених біологічно активних аерозольних компонентів з мембранними фосфоліпідами з метою оцінки біофізичних аспектів взаємодії цих речовин з мембранними структурами дихальних шляхів людини.
3. Важливою та актуальною рекомендацією щодо подальших досліджень є застосування мас-спектрометричного методу та розробка методики на

основі цього методу для якісного та кількісного визначення біологічно активних сполук, включаючи метали та вуглецеві частинки, і оцінки їх активності в складі аерозолей, що утворюються в довкіллі в умовах активних бойових дій в Україні.

Надані зауваження та рекомендації не впливають на загальну високу оцінку докторської дисертації Пашинської В.А.

Таким чином, за обсягом та якістю проведених досліджень, за ступенем актуальності обраної теми, новизною та обґрунтованістю наукових положень та висновків, за достовірністю отриманих наукових результатів та повнотою їх висвітлення в наукових публікаціях дисертаційна робота «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» повністю відповідає всім вимогам пп. 7 та 9 Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 р. № 1197, щодо докторських дисертацій, а її автор Пашинська Влада Анатоліївна заслуговує на присудження їй наукового ступеня доктора фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 біофізика (фізико-математичні науки).

Головний науковий співробітник
відділу фізики біологічних систем
Інституту фізики НАН України,
доктор фіз.-мат наук, професор

Г.І. Довбешко

Підпис Г.І. Довбешко засвідчую

Дата 22 квітня 2024 року

