

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА  
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

**ПАШИНСЬКА ВЛАДА АНАТОЛІЇВНА**

УДК 577.32+543.51

**МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНІ МАРКЕРИ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ФІЗИЧНІ  
МЕХАНІЗМИ ДІЇ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН**

03.00.02 – біофізика

Реферат дисертації на здобуття ступеня доктора фізико-математичних наук

Харків – 2023

Дисертацією є кваліфікаційна наукова праця, оформлена для наукової доповіді.

Робота виконана в Фізико-технічному інституті низьких температур ім. Б.І. Веркіна Національної академії наук України.

Офіційні опоненти: доктор фізико-математичних наук, професор,  
**ДОВБЕШКО Галина Іванівна**,  
Інститут фізики НАН України,  
головний науковий співробітник  
відділу фізики біологічних систем

доктор фізико-математичних наук, старший дослідник,  
**ДОРОШЕНКО Ірина Юріївна**,  
Київський національний університет імені Тараса  
Шевченка, асистент кафедри фізики функціональних  
матеріалів фізичного факультету

доктор фізико-математичних наук, професор,  
**ШЕСТОПАЛОВА Ганна Вікторівна**  
Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова  
НАН України,  
завідувач відділу біологічної фізики

Захист відбудеться « 8 » травня 2024 р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.051.13 Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, ауд. 7-4) із використанням засобів відеозв'язку в режимі реального часу за покликанням: <https://us02web.zoom.us/j/7293704002?pwd=YVRxY1hGeW1PL1JMV216LzBiR204dz09&omn=84668915828>, Ідентифікатор конференції: 729 370 4002, Код доступу: Studia2024

З дисертацією можна ознайомитись на офіційному веб-сайті за покликанням [https://rbecs.karazin.ua/?page\\_id=2172&lang=ua](https://rbecs.karazin.ua/?page_id=2172&lang=ua) та у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради



Володимир БЕРЕЕСТ

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

### Обґрунтування вибору теми дослідження

Однією з найактуальніших проблем сучасної молекулярної біофізики та пов'язаних з нею наукових галузей є проблема встановлення молекулярно-фізичних механізмів, що визначають функціональну дію біологічно активних речовин, включаючи речовини лікарського призначення та/або антропогенні й біогенні компоненти довкілля, на біологічні системи різного рівня організації. Базовими молекулярно-фізичними процесами, що мають значний вплив на різноманітні біологічні явища, є міжмолекулярні фізичні взаємодії біомолекул між собою та з біологічно активними лігандами. Необхідність вивчення міжмолекулярних взаємодій зумовлена як запитамі фундаментальної науки, так і потребами прикладних галузей, оскільки встановлення закономірностей взаємодії лікарських агентів із біомолекулами-мішенями дає підґрунтя для спрямованого пошуку нових ефективних ліків, а знання про міжмолекулярні взаємодії біологічно активних компонентів довкілля є важливими для прогнозування впливу цих агентів на здоров'я людей та на процеси в біосфері. Незважаючи на вже досягнуті успіхи в визначенні фізичних основ багатьох важливих біологічних процесів, дослідження молекулярно-фізичних механізмів дії біологічно активних агентів не втрачають актуальності, бо від їхніх результатів очікується нагальний практичний відгук на такі сучасні глобальні виклики, як: формування антибіотикорезистентності; виникнення епідемій та пандемій, викликаних раніше невідомими збудниками хвороб; висока смертність та погіршення якості життя людей, пов'язані з давно відомими захворюваннями, що ще неподолані; а також кліматичні зміни та стрімке погіршення стану довкілля, зумовлене антропогенною діяльністю.

Необхідність вельми швидкого реагування на нові виклики сучасності потребує розвитку та осучаснення методології та методичної бази наукових досліджень природничого напрямку. У даній роботі розвинуто один із перспективних методологічних підходів до встановлення механізмів біологічно значущих процесів, спрямований на пошук за допомогою фізичних методів маркерів (індикаторів) фізичних процесів за участю біологічно активних сполук на молекулярному рівні. Підвищення ефективності біофізичних досліджень, значною мірою може бути досягнуто за рахунок удосконалення методичної бази, яка сьогодні мусить поєднувати експериментальні та теоретичні методи досліджень. Серед потужних експериментальних фізичних методів особливе місце посідають сучасні м'якоіонізаційні мас-спектрометричні методи. Накопичення значного експериментального досвіду дозволяє сьогодні використовувати найсучаснішу

мас-спектрометричну техніку в біомедичних дослідженнях для ідентифікації маркерів патологічних процесів в організмі людини та для вивчення процесів молекулярного розпізнавання і взаємодії лікарських сполук із біомолекулами-мішенями, а також визначати індикатори біологічно важливих процесів, що відбуваються в довкіллі. Водночас, використання сучасних методів квантово-механічних розрахунків для встановлення структурно-енергетичних характеристик супрамолекулярних комплексів біомолекул із лігандами, також дає потужний інструмент у вирішенні завдань встановлення молекулярних механізмів біологічно важливих процесів та вказує на перспективність використання саме комбінованого експериментально-теоретичного підходу в біофізичних дослідженнях.

Усе вищезазначене свідчить про актуальність теми даної дисертаційної роботи, яка спрямована на вирішення біофізичної проблеми встановлення молекулярно-фізичних механізмів біологічно значущих процесів за участю біологічно активних речовин. При цьому нагальним методичним аспектом дисертаційної роботи став розвиток мас-спектрометричних методик як потужного інструменту вирішення зазначеної біофізичної проблеми шляхом визначення мас-спектрометричних маркерів процесів міжмолекулярної взаємодії біологічно активних молекул із потенційними біомолекулами-мішенями та молекулами оточуючого середовища. Під мас-спектрометричними маркерами (подібно до спектроскопічних маркерів, що також вивчаються в сучасних біофізичних дослідженнях) у дисертаційній роботі розуміють характеристичні лінії/піки в мас-спектрі (з урахуванням співвідношення інтенсивності цих ліній та можливої динамічної зміни параметрів мас-спектру), що служать індикаторами молекулярно-фізичних процесів у системах, або характеризують склад та/або стан систем, що досліджуються.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планами наукової діяльності відділу молекулярної біофізики Фізико-технічного інституту низьких температур (ФТІНТ) ім. Б.І. Веркіна НАН України в рамках наступних відомчих тематичних програм Національної академії наук України: “Дослідження взаємодії біоактивних металокомплексів та хромофорів з біомолекулами та вуглецевими нанотрубками” (номер державної реєстрації 0102U003100, 2002-2006 рр.); “Дослідження міжмолекулярних взаємодій та конформаційних переходів в комплексах біологічно активних речовин з нуклеїновими кислотами різного рівня структурної організації та їх компонентами” (0103U000312, 2003-2005 рр.); “Дослідження взаємодії між біополімерами, біологічно активними речовинами та вуглецевими нанотрубками

як складовими біосенсорів” (0106U002560, 2006-2010 рр.); “Дослідження структури і визначення енергетичних характеристик нанобіогібридів, сформованих біополімерами та їх компонентами з вуглецевими нанотрубками, хромофорами та іонами металів” (0110U007895, 2011-2013 рр.); “Біофізичні властивості складних нанобіоструктур, сформованих вуглецевими нанотрубками, біополімерами та біоактивними лігандами” (0114U001070, 2014-2016 рр.); “Нанобіоструктури вуглецевих нанотрубок, оксиду графену з біомолекулами: створення, дослідження фізичних властивостей та можливості їх практичного застосування” (0117U002287, 2017-2019 рр.); «Створення та дослідження фізичних властивостей наногібридів біологічних молекул з 1-D, 2-D та 3-D наноматеріалами» (0120U100157, 2020-2022 рр.);

та в рамках міжнародних проєктів: Спільні українсько-угорські дослідницькі проєкти, що виконувалися в рамках Протоколу про наукове співробітництво між Угорською академією наук і Національною академією наук України - «Мас-спектрометричне та теоретичне дослідження структурної організації комплексів органічних полімерів з іонами та наночастинками» (2010 – 2012 рр.); «Мас-спектрометричне дослідження та комп’ютерне моделювання модуляції активності фармакологічних сполук на рівні їх супрамолекулярних комплексів» (2013 – 2015 рр.); «Розкриття молекулярних механізмів взаємодії фармакологічних сполук з їх молекулярними мішенями у біонаноструктурах засобами мас-спектрометрії та комп’ютерного моделювання» (2016 – 2018 рр.); «Молекулярні основи функціонування агентів для доставки ліків: розвиток мас-спектрометричного підходу» (2019 – 2021 рр.); а також в рамках роботи Пашинської В.А. в якості запрошеного дослідника (за рекомендацією дирекції ФТІНТ ім. Б.І. Веркіна НАН України) в Університеті міста Антверпен (Бельгія) в період з 01.10.2001 по 30.09.2003 р. за грантової підтримки «Belgium Office for Scientific, Technical and Cultural Affairs».

### **Мета і завдання дослідження**

*Метою роботи* є визначення молекулярно-фізичних механізмів та мас-спектрометричних маркерів біологічно значущих процесів за участю біологічно активних речовин (представників груп протималарійних, протибактеріальних, противірусних та кардіопротекторних ліків, а також полярних органічних сполук із довкілля), які базуються на міжмолекулярних взаємодіях цих біологічно активних агентів із потенційними біомолекулами-мішенями та з компонентами оточуючого середовища.

Для досягнення поставленої мети в роботі вирішувалися наступні **завдання**:

1. Провести систематичне дослідження міжмолекулярних взаємодій представників лікарських речовин різних груп (протималярійних артемізинінових ліків, протиінфекційних мембранотропних агентів, противірусного препарату тилорон, антибіотика циклосерин та кардіопротекторного агенту флокалін) з їхніми потенційними молекулами-мішенями шляхом пошуку та визначення методами м'якоіонізаційної мас-спектрометрії маркерів формування стабільних нековалентних комплексів цих ліків із біомолекулами та їхніми компонентами в системах *in vitro*.
2. Встановити структурно-енергетичні характеристики ідентифікованих у мас-спектрометричних експериментах нековалентних асоціатів молекул зазначених лікарських речовин із біомолекулами та іншими агентами за результатами квантово-механічних розрахунків.
3. Запропонувати молекулярно-фізичні механізми біологічної дії досліджуваних лікарських агентів, спираючись на аналіз даних мас-спектрометрії та квантово-механічних розрахунків.
4. Визначити молекулярно-фізичні механізми ймовірної зміни активності протималярійних агентів артемізинінового ряду та протиінфекційних бісчетвертинних амонієвих сполук при одночасному застосуванні з представниками протизапальних або антиоксидантних агентів шляхом встановлення мас-спектрометричних маркерів конкурентних процесів міжмолекулярної взаємодії цих лікарських агентів різних груп.
5. Ідентифікувати мас-спектрометричні маркери структурної стабільності протиінфекційних бісчетвертинних амонієвих агентів в умовах сольватного оточення методами мас-спектрометрії з іонізацією електророзпиленням (ІЕР) та матрично-активованою лазерною десорбцією/іонізацією (МАЛДІ) та проаналізувати вплив гідратації на структурні параметри декаметоксину за даними квантово-механічних розрахунків.
6. Запропонувати методику для швидкого скринінгу нових потенційних лікарських сполук серед четвертинних амонієвих агентів та інших речовин, функціональна дія яких пов'язана з мембранотропним ефектом, базуючись на оптимізації методики на основі мас-спектрометрії з ІЕР.
7. Розробити та апробувати методику на основі газової хроматографії/мас-спектрометрії (ГХ/МС) для визначення біологічно активних органічних речовин (левоглюкозан, сахариди антропогенного та біогенного походження, та ін.) у складі нековалентних частинок атмосферних аерозолів.

8. Шляхом аналізу отриманих експериментальних даних ГХ/МС досліджень зразків атмосферних аерозолів встановити присутність ряду біологічно активних органічних сполук та їхні міжмолекулярні взаємодії в аерозольних частинках з метою прогнозування їхнього впливу на молекулярно-фізичні процеси в довкіллі та на здоров'я людей і тварин.

**Об'єкт дослідження** – міжмолекулярні фізичні взаємодії молекул біологічно активних речовин із біомолекулами та молекулами або іонами оточуючого середовища, що зумовлюють молекулярно-фізичні механізми біологічної дії цих речовин.

**Предмет дослідження** – мас-спектрометричні маркери біологічно значущих молекулярно-фізичних процесів за участю біологічно активних речовин лікарського призначення (представників різних груп протиінфекційних і кардіопротекторних ліків) та органічних сполук, що є біологічно важливими компонентами довкілля.

### **Методи дослідження**

Об'єктивність та обґрунтованість висновків, що отримані в ході виконання дисертаційної роботи, зумовлені використанням комплексного підходу в дослідженнях, що поєднував спектр експериментальних методик на базі фізичного методу мас-спектрометрії з теоретичними методами квантово-механічних розрахунків.

Основними експериментальними методами, що використовувались та оптимізовувались у роботі для визначення маркерів молекулярно-фізичних процесів за участю біологічно активних сполук, були методики мас-спектрометрії з м'якими методами іонізації, а саме: з іонізацією електророзпиленням (ІЕР), з матрично-активованою лазерною десорбцією/іонізацією (МАЛДІ); з бомбардуванням швидкими атомами (БША); а також метод тандемної мас-спектрометрії з дисоціацією, індукованою зіткненнями (ДІЗ). У дисертаційній роботі активно застосовувався метод, що поєднує газову хроматографію і мас-спектрометрію (ГХ/МС) з іонною пасткою, на базі якого вдалося розробити нову методику ідентифікації мас-спектрометричних маркерів ряду важливих органічних компонентів атмосферних аерозолів та молекулярно-фізичних процесів за їхньою участю. Для пояснення результатів, отриманих експериментальним шляхом, та встановлення структурно-енергетичних характеристик нековалентних комплексів біологічно активних агентів із біомолекулами, між собою, а також із компонентами оточуючого середовища, у роботі використовувалися наступні методи квантово-механічних розрахунків: *ab initio* метод теорії функціонала щільності DFT

(DFT/B3LYP/6-31<sup>++</sup>G\*\*, B3LYP/aug-cc-pVDZ); *ab initio* метод теорії збурень Меллера-Плессета другого порядку MP2 (MP2/6-31<sup>++</sup>G\*\*); напівемпіричний метод AM1 (Austin Model 1); метод РСМ (polarizable continuum model, модель континууму, що поляризується).

### Наукова новизна отриманих результатів

Основні наукові результати, які отримані в рамках дисертаційної роботи, є оригінальними і новими. У дисертації було вирішено важливу проблему молекулярної біофізики для обраних біологічно активних речовин різних груп, а саме: визначено молекулярно-фізичні механізми, що пов'язані з функціональною активністю ряду лікарських сполук – представників груп протималарійних ліків, протибактеріальних та противірусних препаратів, кардіопротекторних агентів та ряду органічних компонентів частинок атмосферних аерозолів шляхом встановлення мас-спектрометричних маркерів біологічно важливих фізичних процесів за їх участю.

Новизна основних результатів роботи полягає в наступному:

- Уперше шляхом визначення мас-спектрометричних маркерів формування в умовах *in vitro* стабільних нековалентних комплексів молекул протималарійних агентів артемізинінового ряду з їхньою потенційною молекулярною мішенню в клітинах – Fe(III)-гемом – запропоновано молекулярно-фізичний механізм, пов'язаний із протималарійною дією цих широкоживаних препаратів. Проаналізовано залежність «структура-активність» для досліджених похідних артемізиніну.
- У рамках встановлення молекулярних механізмів показаної в ряді клінічних досліджень протипухлинної активності препаратів артемізинінового ряду, вперше експериментально доведено формування стабільних нековалентних комплексів артемізиніну та дигідроартемізиніну з азотистими основами нуклеїнових кислот: аденіном, цитозином та метилтиміном у полярному середовищі. Формування таких нековалентних асоціатів між артемізиніновими агентами та азотистими основами в складі нуклеїнових кислот розглядається як ймовірний фактор пригнічення функціональної активності ДНК та РНК пухлинних клітин, пов'язаний із протипухлинною дією цих агентів.
- Уперше, завдяки застосуванню комплексного підходу, що поєднує експериментальний метод мас-спектрометрії з ІЕР та розрахунковий метод DFT, *in vitro* встановлено явище міжмолекулярної конкуренції між протималарійними артемізиніновими агентами та молекулами препаратів, що належать до класу



органічних кислот: протизапальним засобом аспірин або антиоксидантним агентом вітамін С, за нековалентне зв'язування з мембранними фосфоліпідами. Також доведено формування стабільних парних асоціатів між молекулами цих лікарських агентів різних груп у полярному середовищі. Базуючись на отриманих результатах, уперше запропоновані молекулярно-фізичні механізми ймовірної зміни функціональної активності досліджених лікарських агентів при їхньому одночасному застосуванні.

- Оптимізовано методику мас-спектрометричного експерименту з ІЕР задля покращення можливостей реєстрації мас-спектрометричних маркерів мембранотропної активності протиінфекційних бісчетвертинних амонієвих агентів. Уперше рекомендовано використовувати оптимізовану ІЕР методику для ефективного швидкого скринінгу бісчетвертинних амонієвих сполук із потенційною протибактеріальною активністю, яка зумовлена їхнім мембранотропним ефектом.
- Уперше в системах *in vitro* експериментально визначені міжмолекулярні конкурентні процеси нековалентного комплексоутворення за участю протиінфекційних бісчетвертинних амонієвих агентів, протизапального препарату аспірин та молекул мембранного фосфоліпіду дипальмітоїлфосфатидилхолін, які запропоновані в якості молекулярних механізмів зміни активності цих ліків при одночасному введенні.
- В експериментах методом мас-спектрометрії з ІЕР уперше встановлено специфічне комплексоутворення молекули противірусного агенту тилорон із нуклеозидом уридином у полярному середовищі, що запропоновано в якості молекулярно-фізичного механізму, пов'язаного з противірусною активністю тилорону та вказує саме на РНК (у склад яких входить уридин) як найбільш ймовірні біомолекули-мішені біологічної дії тилорону серед нуклеїнових кислот.
- Уперше ідентифіковано мас-спектрометричні маркери формування *in vitro* супрамолекулярних комплексів антибіотика циклосерин із його ймовірною молекулою-мішенню в складі клітинної стінки бактерій – N-ацетил-D-глюкозаміном (NAG). Утворення таких нековалентних комплексів між молекулами циклосерину та NAG-компонентами пептидоглікану клітинної стінки розглядається в якості молекулярно-фізичної складової процесу пригнічення формування клітинної стінки бактерій, пов'язаного з протиінфекційною дією препарату.

- Уперше визначено мас-спектрометричні маркери (референтні піки в мас-спектрах) винайденого в Україні кардіопротекторного агенту флокалін. Базуючись на результатах комплексного експериментально-теоретичного дослідження, запропоновано молекулярно-фізичний механізм взаємодії флокаліну з АТФ-чутливим калієвим мембранним каналом, що включає формування нековалентних комплексів молекул препарату з амінокислотними залишками лізину та треоніну в складі регуляторних субодиниць цього мембранного каналу.
- Уперше визначено мас-спектрометричні маркери для ідентифікації в біологічних та технологічних зразках двох біогенних мембранотропних рамноліпідів, що спродуковані бактеріями штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 та характеризуються протиінфекційною активністю. *In vitro* встановлено, що в результаті міжмолекулярної взаємодії молекул цих рамноліпідів та дипальмітоїлфосфатидилхоліну формуються стабільні нековалентні комплекси, які можуть впливати на функціональну активність мембранних фосfolіпідів бактеріальних клітин, визначаючи антимикробну дію цих агентів.
- Розроблено та валідовано методику на основі методу ГХ/МС для визначення полярних біологічно активних речовин (органічної сполуки левоглюкозан та ряду інших моносахаридних ангідридів) у складі нековалентних частинок атмосферних аерозолів, які завдяки їхній міжмолекулярній взаємодії з молекулами води та іншими органічними сполуками відіграють значну роль у біологічно важливих молекулярно-фізичних процесах у довкіллі.
- Застосування ГХ/МС методики дозволило вперше виявити в складі частинок атмосферних аерозолів органічні сполуки 2-метилтреїтол та 2-метилеритритол, що належать до класу поліолів та, завдячуючи їхній активній гідратації та взаємодії з іншими полярними компонентами довкілля, вносять значний вклад у формування нековалентних частинок біологічно активних вторинних органічних атмосферних аерозолів.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Отримані в дисертаційній роботі результати вносять вагомий вклад як в фундаментальні знання про фізичні основи процесів у біосистемах, так і в прикладні наукові напрями, які пов'язані зі здоров'ям людей та станом довкілля.

Визначені в роботі молекулярно-фізичні механізми, що пов'язані з біологічною дією представників ряду груп лікарських речовин (протималарійних ліків, протибактеріальних та противірусних агентів та ін.), відкривають

перспективи для спрямованого пошуку нових лікарських агентів серед сполук, споріднених за молекулярною структурою до досліджених ліків. Методологія цього пошуку може ґрунтуватися на отриманих у роботі даних щодо структурно-енергетичних характеристик нековалентних комплексів, що формують досліджені лікарські агенти з біомолекулами-мішенями. Якщо біологічна дія лікарських сполук пов'язана з формуванням нековалентних асоціатів із біомолекулами або їхніми компонентами, то більш потенційно ефективними серед споріднених за структурою сполук можна вважати агенти, що формують більш стабільні комплекси з молекулами-мішенями та мають у складі функціональні групи, що забезпечують більш активну взаємодію з функціональними групами цих біомолекул. Застосований у роботі комбінований експериментально-теоретичний підхід на базі поєднання мас-спектрометрії та квантово-механічних розрахунків, а також оптимізована ІЕР методика рекомендуються для практичного використання в рамках скринінгу потенційних лікарських агентів, що належать до класів біологічно активних сполук, функціональна дія яких пов'язана з формуванням нековалентних комплексів з біомолекулами.

Суттєве практичне значення для медичної практики можуть мати отримані в роботі дані щодо молекулярно-фізичних механізмів ймовірної зміни активності ряду протиінфекційних ліків при одночасному застосуванні з протизапальними або вітамінними агентами, що належать до класу органічних кислот (аспірин та вітамін С) та часто використовуються як додаткові лікарські речовини при лікуванні інфекційних захворювань. При цьому визначені в роботі мас-спектрометричні маркери такої взаємно-модифікуючої дії лікарських сполук різних груп дають підстави рекомендувати оптимізовану методику мас-спектрометрії з ІЕР як практичний експрес-метод для попереднього *in vitro* тестування сумісності лікарських агентів для одночасного введення.

Розроблена в роботі ГХ/МС методика визначення біологічно активних органічних речовин та їхніх взаємодій у складі частинок атмосферних аерозолів вже в рамках цієї роботи довела свою практичну цінність. ГХ/МС методика була успішно застосована в масштабних міжнародних біосферних експериментах LBA-CLAIRE (Cooperative Large-Scale Biosphere-Atmosphere Experiment in Amazonia Airbone Regional Experiment) та LBA-SMOCC (Large-Scale Biosphere Atmosphere Experiment in Amazonia – Smoke Aerosols, Clouds, Rainfall, and Climate) з дослідження зразків атмосферних аерозолів задля встановлення впливу молекулярно-фізичних атмосферних процесів за участю органічних сполук антропогенного та біогенного походження на стан довкілля, здоров'я людей,

кліматичні зміни. Важливо, що в рамках цих досліджень уперше вдалося виявити в складі частинок атмосферних аерозолів органічні сполуки класу поліолів, що раніше не були ідентифіковані, та визначити їхній вплив на біологічно значущі процеси в довкіллі.

### **Особистий внесок здобувача**

Основні наукові результати дисертації опубліковано в 22 статтях [1-22] у провідних наукових фахових виданнях: у віднесених до першого і другого квартилів (Q1 і Q2) – 12 статей, до третього квартилю (Q3) – 4 статті відповідно до класифікації SCImago Journal & Country Rank; у наукових періодичних виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України – 5 статей та у закордонних наукових фахових виданнях – 1 стаття. 2 статті [2, 6] опубліковано без співавторів. Результати також представлено у 23 публікаціях [23-45], що видані за матеріалами наукових конференцій, із них 3 [23, 35, 45] – без співавторів.

В опублікованих зі співавторами наукових працях за темою дисертаційної роботи особистий внесок здобувача полягає в наступному:

- у роботах [3, 11, 13, 14, 24, 25, 27, 31, 32, 34, 39, 41] – визначення основної ідеї та завдань дослідження, планування експерименту, безпосереднє отримання експериментальних даних методом мас-спектрометрії, аналіз та узагальнення отриманих результатів, їхнє обговорення зі співавторами (включаючи комунікацію із закордонними співавторами), написання статті (або тез наукової доповіді) та редагування тексту згідно із зауваженнями співавторів та рецензентів, для доповідей – особиста підготовка та представлення усної/стендової доповіді на науковій конференції;
- у роботах [8, 9, 10, 26, 29, 30, 37] – визначення основної ідеї та завдань дослідження, планування експерименту та розрахунків, безпосереднє отримання експериментальних даних та участь в отриманні розрахункових даних, аналіз та узагальнення отриманих результатів та їхнє обговорення зі співавторами (включаючи комунікацію із закордонними співавторами), написання статті (або тез наукової доповіді) та редагування тексту згідно із зауваженнями співавторів та рецензентів, для доповідей – особиста підготовка та представлення усної/стендової доповіді на науковій конференції;
- у роботах [4, 15] – визначення основної ідеї та завдань роботи спільно зі співавторами, планування розрахунків, участь в отриманні розрахункових даних, їхня інтерпретація, аналіз та узагальнення результатів спільно із співавторами,

написання статті та редагування тексту згідно із зауваженнями співавторів та рецензентів;

- у роботах [1, 16, 42] – визначення основних завдань дослідження спільно зі співавторами, безпосереднє отримання експериментальних даних методом мас-спектрометрії з ІЕР, інтерпретація та аналіз отриманих даних спільно зі співавторами, участь у написанні статті (або тез доповіді) спільно з співавторами;
- у роботах [19, 20, 21, 22, 44] – участь у визначенні основних завдань дослідження та в розробці ГХ/МС експериментальної методики спільно зі співавторами, безпосереднє отримання частини експериментальних результатів роботи, зокрема методом ГХ/МС, їхня інтерпретація та аналіз спільно зі співавторами, участь у написанні статті (або тез наукової доповіді), підготовка стендової доповіді та представлення на науковій конференції;
- у роботах [5, 17, 18, 36, 38, 40, 43] – участь у формуванні основної ідеї та завдань дослідження, участь в отриманні експериментальних мас-спектрометричних та розрахункових даних, в аналізі та узагальненні результатів, участь у написанні статті (або тез доповідей) спільно зі співавторами, підготовка стендової доповіді та представлення на науковій конференції;
- у роботах [7, 12, 28, 33] – участь у визначенні основної ідеї та завдань дослідження спільно зі співавторами, особисте планування мас-спектрометричного експерименту та отримання експериментальних результатів методом мас-спектрометрії, їхня інтерпретація та підготовка до публікації, участь в аналізі та узагальненні результатів дослідження спільно зі співавторами, участь у написанні статті (або тез наукової доповіді) спільно зі співавторами.

Частина результатів спільних публікацій [12, 18 (статті), 33 (тези доповіді)], що стосується сукупної дії бісчетвертинних амонієвих сполук та ацетилсаліцилової кислоти (або дигідробензойної кислоти) на модельні ліпідні мембрани, яка отримана співавторами з Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України методом диференціальної скануючої калориметрії, була використана в дисертаційній роботі Ващенко О.В. «Індивідуальні та спільні взаємодії компонентів лікарських препаратів з модельними ліпідними мембранами» [68]. У своїй дисертаційній роботі здобувач Пашинська В.А. вносить на захист положення, які базуються на інших результатах цих спільних робіт, отриманих здобувачем методом мас-спектрометрії. Ці положення стосуються

запропонованого молекулярно-фізичного механізму (що базується на нековалентному конкурентному комплексоутворенні) зміни активності протиінфекційних бісчетвертинних амонієвих сполук при одночасному застосуванні з іншими препаратами, що належать до органічних кислот, зокрема і з протизапальним агентом аспірин. Отримані здобувачем мас-спектрометричні дані на молекулярному рівні щодо конкурентного формування нековалентних асоціатів досліджених лікарських агентів різних груп між собою та з молекулами мембранних фосфоліпідів дозволяють пояснити ефекти, що спостерігалися колегами-співавторами на модельних ліпідних мембранах, тобто на надмолекулярному рівні, що описано в спільних наукових публікаціях [12, 33].

Окремо слід зазначити, що вимірювання методом мас-спектрометрії в дослідженнях, що проводились у рамках міжнародних проєктів [1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 19–22, 24–30, 32–34, 39, 41–45], виконувалися Пашинською В.А. особисто під час закордонних відряджень в Інститут органічної хімії Дослідницького Центру природничих наук Угорської академії наук (Угорщина) та під час роботи в якості запрошеного дослідника в Університеті м. Антверпен (Бельгія).

### **Апробація результатів дисертації**

Результати роботи були представлені на багатьох міжнародних і вітчизняних наукових конференціях, у тому числі: 20-th Informal Meeting on Mass Spectrometry (Primiero, Italy, 12-14 May, 2002); 21-st Informal Meeting on Mass Spectrometry (Antwerp, Belgium, 11-15 May, 2003); EURESCO conferences: Molecules of Biological Interest in the Gas Phase. (Exeter, United Kingdom, 13-18 April 2004); 23-rd Informal Meeting on Mass Spectrometry (Primiero, Italy, 15-19 May 2005); 24-th Informal Meeting on Mass Spectrometry (Uston, Poland, 14-18 May 2006); IV з'їзд Українського біофізичного товариства (Донецьк, Україна, 19-21 грудня 2006); 25-th Informal Meeting on Mass Spectrometry (Nyiregyhaza-Sosto, Hungary, 6-10 May 2007); 26-th Informal Meeting on Mass Spectrometry (Fiera di Primiero, Italy, 4 -8 May 2008); 27-th Informal Meeting on Mass Spectrometry (Retz, Austria, 3-6 May, 2009. Retz, 2009); V з'їзд Українського біофізичного товариства (Луцьк, 22-25 червня 2011); 2-nd Intern. Conf. "Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects" (Kyiv, Ukraine, 6-9 October 2011); 30-th Informal meeting on mass spectrometry (Olomouc, Czech Republic, 29 April-3 May 2012); 3-rd International Conference Nanobiophysics: Fundamental and applied Aspects (Kharkov, Ukraine, October 7-10, 2013); 33-rd Informal Meeting on Mass Spectrometry ( Szczyrk, Poland, 10-13 May, 2015); 34-th Informal Meeting on Mass Spectrometry (Fiera di Primera, Italy, 15-18 May, 2016); 5-th International

Conference Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects (Kharkiv, Ukraine, October 2-5, 2017); 36-th Informal Meeting on Mass Spectrometry (Koszeg, Hungary, 6-9 May, 2018); 37-th Informal Meeting on Mass Spectrometry (Fiera di Primiero, Italy, 5-8 May 2019); XV-th International Conference on Molecular Spectroscopy: “From molecules to molecular materials, biological molecular systems and nanostructures (Wroclaw-Wojanow, Poland, September 15-19, 2019); 6-th International Conference Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects (Kyiv, Ukraine, October 1-4, 2019); VIII з'їзд Українського біофізичного товариства (Київ-Луцьк, 12-15 листопада 2019); 7-th International Conference Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects (Kharkiv, Ukraine, October 4-8, 2021).

### **Публікації**

Основні результати дисертації опубліковано у 45 роботах, у тому числі в 22 статтях у провідних фахових наукових виданнях: з них 16 статей опубліковано у виданнях, що проіндексовані у базах даних Web of Science Core Collection та Scopus (з них 12 робіт - у виданнях, що віднесені до перших двох кuartилів (Q1/Q2), а 4 - у виданнях, що віднесені до третього кuartилу (Q3) за класифікацією SCImago Journal and Country Rank); 5 статей – у наукових періодичних виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України; 1 стаття – у закордонному фаховому науковому виданні. 23 роботи видані за матеріалами наукових конференцій.

### **Структура і обсяг дисертації**

Дисертацією є кваліфікаційна наукова праця, оформлена для наукової доповіді, тобто розділами дисертації є сукупність публікацій здобувача за науковою тематикою роботи. Дисертація складається зі Вступу, чотирьох Розділів, підрозділами яких є наукові публікації здобувача (включаючи публікації у виданнях, віднесених до перших двох кuartилів Q1/Q2 та до третього кuartилу Q3), Висновків, Переліку використаних джерел та Додатку. Обсяг дисертації становить 303 сторінки. Дисертація містить 108 рисунків, 13 схем та 35 таблиць. Список використаних джерел включає 669 посилань. Додаток займає 9 сторінок.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

У **вступі** дисертації обґрунтовано актуальність наукового напрямку роботи, коротко проаналізовано стан проблеми, вирішенню якої присвячена дисертація, сформульовано мету та завдання досліджень, показано зв'язок роботи з науковими програмами, темами, проєктами, висвітлені наукове й практичне значення роботи, особистий внесок здобувача та апробація результатів дисертації.

У першому розділі «Міжмолекулярні взаємодії лікарських агентів із потенційними біомолекулами-мішенями: визначення мас-спектрометричних маркерів та молекулярно-фізичних механізмів, пов'язаних із біологічною дією лікарських речовин» викладено результати *in vitro* досліджень систем, до складу яких входили представники лікарських речовин різних груп та їхні потенційні біомолекули-мішені. Модельні системи вивчалися із застосуванням комплексного методичного підходу, що поєднував експериментальний метод м'якоіонізаційної мас-спектрометрії та методи квантово-механічних розрахунків DFT та MP2.

У рамках вивчення молекулярних механізмів функціональної дії широковживаних

протималярійних агентів артемізинінового ряду та хініну в роботі визначені мас-спектрометричні маркери (тобто характеристичні мас-спектральні лінії/піки), що свідчать про формування *in vitro* стабільних нековалентних комплексів молекул протималярійних препаратів хінін, артемізинін, дигідроартемізинін,  $\alpha$ -артеметер,  $\beta$ -артеметер та  $\beta$ -артеестер з їхньою потенційною молекулярною мішенню в харчових вакуолях малярійного плазмодію – Fe(III)-гемом (рис.1).

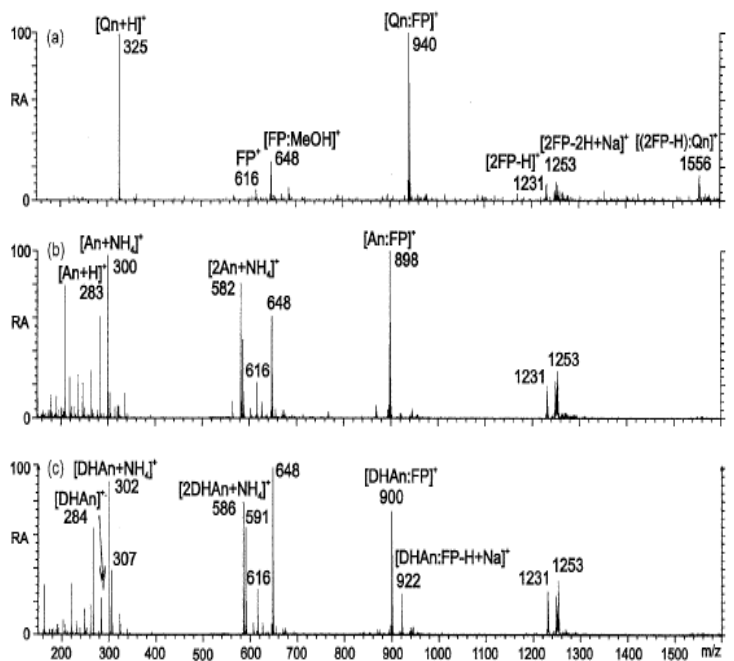


Рис.1. ІЕР мас-спектри двокомпонентних модельних систем: а) хінін-гем (молярне співвідношення 1:2); б) артемізинін-гем (1:2); в) дигідроартемізинін-гем (1:2).

Таке нековалентне комплексоутворення запропоновано в якості молекулярно-фізичного механізму, пов'язаного з протималярійною дією артемізинінових препаратів на еритроцитарній стадії розвитку збудника малярії в організмі інфікованого. Завдяки використанню потужного методу тандемної мас-спектрометрії з ДІЗ експериментально оцінено енергетичні характеристики нековалентних комплексів протималярійних агентів із гемом та показано, що нековалентний асоціат хініну з Fe(III)-гемом є практично вдвічі стабільнішим, ніж комплекси артемізиніну та його похідних із гемом (табл.1).



Відносна інтенсивність піків іонів-продуктів в спектрах низько-енергетичної ДІЗ досліджених комплексів протималярійний агент-гем.

Комплекс	RA (відносна інтенсивність) піку іона-продукта, %
	FP <sup>+</sup> , m/z 616
[Qn•FP] <sup>+</sup>	2.78 ± 0.22 (N=5)
[An•FP] <sup>+</sup>	5.6 ± 0.25 (N=8)
[DHAn•FP] <sup>+</sup>	5.86 ± 0.35 (N=4)
[αAm•FP] <sup>+</sup>	5.13 ± 0.26 (N=4)
[βAm•FP] <sup>+</sup>	4.98 ± 0.44 (N=4)
[AE•FP] <sup>+</sup>	5.33 ± 0.31 (N=3)
	[FP – H + Na] <sup>+</sup> , m/z 638
[DHAn•FP – H + Na] <sup>+</sup>	1.93 ± 0.16 (N=3)

N – число вимірювань.

Встановлено, що дигідроартемізинін (який вважається активним метаболітом агентів артемізинінового ряду *in vivo*) єдиний із досліджених лікарських агентів формує комплекс із гемом, в якому протон заміщений на іон Na<sup>+</sup>, причому енергетична стабільність такого комплексу є значною і близькою до стабільності комплексу хінін-гем (табл.1). Отримані дані свідчать, що здатність препаратів артемізинінового ряду формувати нековалентні комплекси з гемом є порівняною з такою для традиційного протималярійного препарату хінін, причому тільки для дигідроартемізиніну в утворених комплексах спостерігалися іон-молекулярні реакції за участю іона Na<sup>+</sup>, які моделюють ймовірні молекулярні процеси за участю артемізинінових агентів в фізіологічних умовах.

У подальших дослідженнях, присвячених встановленню молекулярно-фізичних механізмів показаної в ряді клінічних досліджень протипухлинної активності артемізиніну та його похідних, методом мас-спектрометрії з ІЕР вивчено міжмолекулярну взаємодію агентів артемізинінового ряду з компонентами потенційних біомолекул-мішеней – азотистими основами нуклеїнових кислот. За результатами дослідження вперше визначені мас-спектрометричні маркери формування стабільних нековалентних комплексів молекул артемізиніну та дигідроартемізиніну з аденіном (Ade), цитозином (Cyt) та метилтиміном (mThy) в полярному розчиннику. Встановлено зв'язок «структура-відносна стабільність» для досліджених нековалентних комплексів, які утворюються за рахунок міжмолекулярних сил Ван-дер-Ваальса та водневих зв'язків між полярними функціональними групами взаємодіючих молекул. Формування нековалентних асоціатів між артемізиніновими агентами та азотистими основами нуклеїнових

кислот, яке може впливати на функціональну активність ДНК та РНК пухлинних клітин, запропоновано в якості молекулярно-фізичного механізму протипухлинної активності препаратів артемізинінового ряду.

На наступному етапі роботи методом мас-спектрометрії з ІЕР визначено мас-спектрометричні маркери пов'язаного з протиінфекційною активністю процесу формування нековалентних комплексів дикатіону бісчетвертинного амонієвого агенту декаметоксин ( $\text{Cat}^{2+}$ ) з молекулами мембранного фосфоліпиду дипальмітоїлфосфатидилхолін (М) в полярному розчиннику (рис.2).

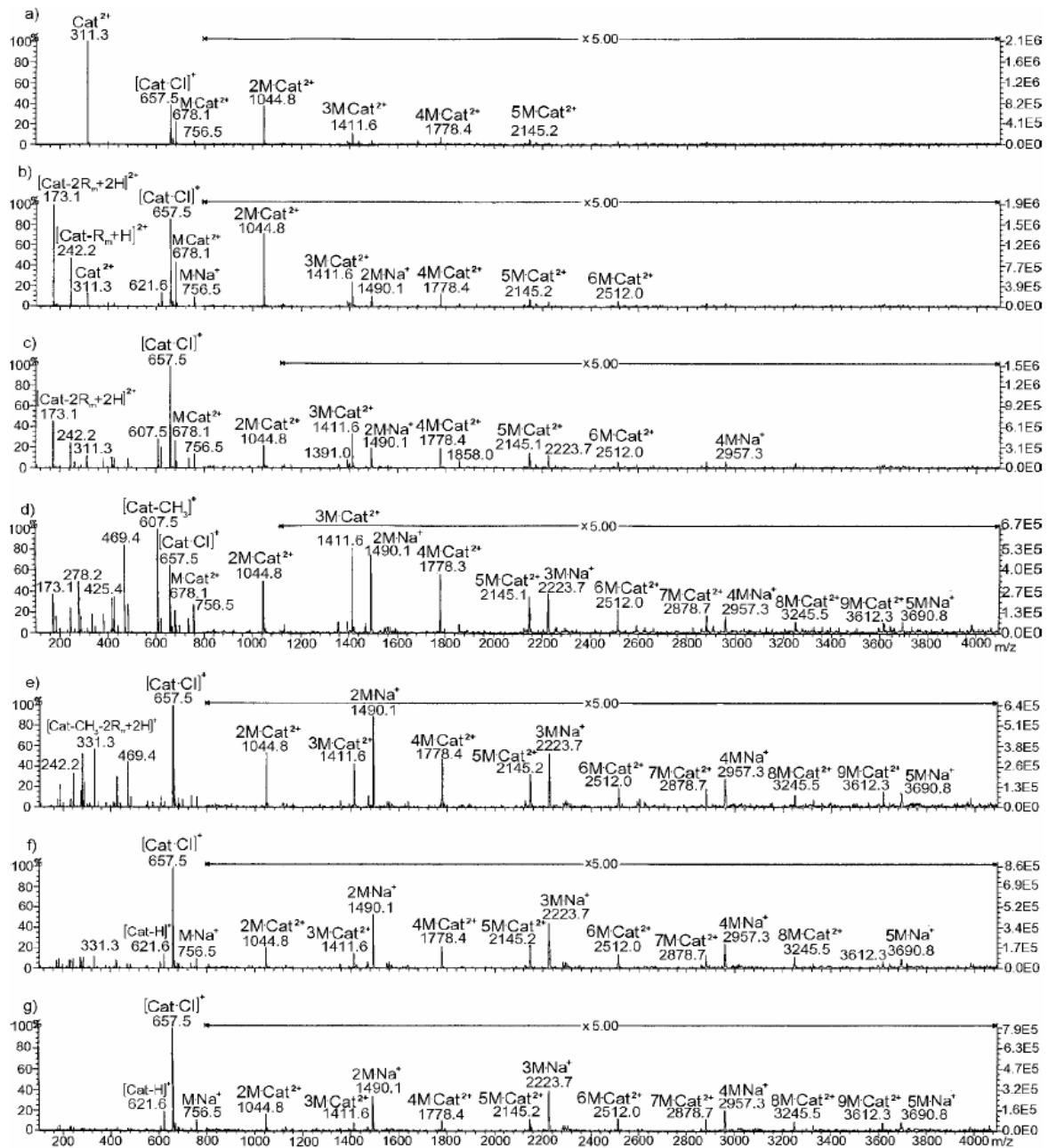


Рис.2. ІЕР мас-спектри суміші декаметоксин - дипальмітоїлфосфатидилхолін в MeOH (молярне співвідношення 1:10) при різних значеннях CV: (а) 50V, (b) 75V, (c) 100V, (d) 125V, (e) 150V, (f) 175V, (g) 200V.

Такі комплекси моделюють взаємодію декаметоксину з фосфоліпідними компонентами біологічних мембран. Молекулярний склад та стабільність комплексів дикатіону декаметоксину з цим фосфоліпідом Cat•nM (n=1÷9) проаналізовано за результатами експериментів методом тандемної мас-спектрометрії з ДІЗ. З метою розвитку експериментально-методичної бази біофізичних досліджень оптимізовано методику мас-спектрометрії з ІЕР для вивчення міжмолекулярних взаємодій мембранотропних агентів. Зокрема, визначено оптимальні параметри електричного потенціалу на конусному електроді (cone voltage, CV) в джерелі іонів мас-спектрометра: інтервал значень – між 100 та 125 V задля можливості реєстрації в спектрах піків, що відповідають якнайбільшим комплексам дикатіону декаметоксину з великорозмірними кластерами дипальмітоїлфосфатидилхоліну, які моделюють фосфоліпідні кластери біологічних мембран (рис.2). Оптимізовану методику мас-спектрометрії з ІЕР запропоновано у якості методики швидкого скринінгу бісчетвертинних амонієвих сполук із потенційною протиінфекційною активністю, яка зумовлена їхнім мембранотропним ефектом, що спричиняє дестабілізуючу дію на мембранні структури клітин бактерій.

У рамках вивчення міжмолекулярної взаємодії бісчетвертинних амонієвих агентів із білковими компонентами біомембран уперше за результатами модельного дослідження з застосуванням теоретичних розрахункових методів та експериментального методу мас-спектрометрії з МАЛДІ визначено, що така взаємодія повинна відбуватися в умовах конкуренції між функціональними групами амінокислот активних центрів мембранних протеїнів та аніоном Cl<sup>-</sup> бісчетвертинної амонієвої солі за зв'язування дикатіону протиінфекційного агента. Зокрема, у ході розрахунків методами DFT/B3LYP/6-31<sup>++</sup>G\*\* та MP2/6-31<sup>++</sup>G\*\* доведено, що міжмолекулярна взаємодія іону тетраметіламонію (TMA<sup>+</sup>, моделює бісчетвертинні амонієві агенти) з 2,5- дигідроксибензойною кислотою (DHB, чий функціональні групи моделюють функціональні групи амінокислот аспарат, глутамат, триптофан, тирозин, гістидин, фенілаланін) відбувається за умов конкуренції з протиіоном Cl<sup>-</sup>. Розрахована за формулою (1) енергія взаємодії (IE) TMA<sup>+</sup> з аніоном [DHB - H]<sup>-</sup> є близькою, але меншою за абсолютною величиною у порівнянні з енергією взаємодії TMA<sup>+</sup> з Cl<sup>-</sup> у вакуумному наближенні (табл. 2).

$$IE = E_{\text{compl}} - E_{(\text{TMA}^+)} - E_{(\text{Cl}^-/\text{DHB}^-)} \quad (1)$$

Значення енергії взаємодії  $\text{TMA}^+$  з нейтральною молекулою ДНВ є також від'ємним, але приблизно в 10 разів меншим за абсолютною величиною, ніж значення енергії взаємодії з депротонованою ДНВ, оскільки комплекс із молекулою ДНВ стабілізовано слабким водневим зв'язком  $\text{TMA}^+$  з гідроксильною групою ДНВ, на відміну від іонного зв'язку в комплексі  $\text{TMA}^+$  з  $[\text{ДНВ} - \text{H}]^-$  (табл.2).

Таблиця 2.

Енергія взаємодії (ІЕ, kJ/mol) в нековалентних комплексах  $\text{TMA}^+$  з  $\text{Cl}^-$  та ДНВ (в нейтральній та аніонній формі) за результатами розрахунків різними методами в вакуумному наближенні.

Complex	ІЕ (kJ/mol)	
	DFT/B3LYP/6-31++G**	MP2/6-31++G**
$\text{TMA}^+:\text{Cl}^-$	-385.33	-378.86
$\text{TMA}^+:\text{ДНВ}^0$	-36.51	-43.61
$\text{TMA}^+:[\text{ДНВ}-\text{H}]^-$	-349.51	-351.66

Завдяки застосуванню методу РСМ, що дозволяє оцінити вплив оточення на стабільність досліджених комплексів, встановлено, що в полярному розчиннику енергії взаємодії  $\text{TMA}^+$  з аніонами  $[\text{ДНВ} - \text{H}]^-$  та  $\text{Cl}^-$  мають позитивні значення, що вказує на нестабільність комплексів у цих умовах (табл. 3). При цьому значення ІЕ комплексу  $\text{TMA}^+$  з нейтральною молекулою ДНВ у водному оточенні є від'ємним, що доводить стабільність такого комплексу, який, як показують розрахунки, стабілізується завдяки «катион-π» міжмолекулярній взаємодії в полярному середовищі. Отримані розрахункові дані дозволили пояснити результати дослідження методом мас-спектрометрії з МАЛДІ, в якому встановлено превалювання в мас-спектрах піків комплексів дикатіону декаметоксину з ДНВ над піком комплексу дикатіону з  $\text{Cl}^-$ .

Таблиця 3.

Енергія взаємодії (ІЕ, kJ/mol) в нековалентних комплексах  $\text{TMA}^+$  з ДНВ (в нейтральній та аніонній формі) та  $\text{Cl}^-$  в водному оточенні за результатами РСМ розрахунків.

Complex	ІЕ (kJ/mol)
	MP2/6-31++G** РСМ
$\text{TMA}^+:\text{Cl}^-$	+11.55
$\text{TMA}^+:\text{ДНВ}^0(\text{geometry } 1)$	-3.24
$\text{TMA}^+:\text{ДНВ}^0(\text{geometry } 2)$	-4.27
$\text{TMA}^+:[\text{ДНВ}-\text{H}]^-$	+4.34

У дослідженнях інших мембранотропних протиінфекційних агентів вперше методом мас-спектрометрії з ІЕР визначено мас-спектрометричні маркери (молекулярні референтні піки), двох біогенних мембранотропних рамноліпідів, що спродуковані бактеріями штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 та характеризуються протибактеріальною активністю. При вивченні *in vitro* систем, що включали ці рамноліпіди та дипальмітоїлфосфатидилхолін, встановлено, що в результаті міжмолекулярної взаємодії в розчині формуються стабільні нековалентні комплекси між молекулами мембранного фосфоліпиду та рамноліпідних біосурфактантів. Формування таких комплексів, що можуть впливати на функціональну активність бактеріальних мембран, запропоновано в якості молекулярного механізму протибактеріальної дії досліджених рамноліпідів.

З метою встановлення молекулярно-фізичних механізмів противірусної дії лікарської речовини тилорон (Til) методом мас-спектрометрії з ІЕР вивчено міжмолекулярну взаємодію цього противірусного агента з компонентами його потенційних молекул-мішеней – нуклеозидами (аденозин - Ado, уридин - Urd та тимідин - Thd) в модельних бінарних системах (Til + Ado або Thd, або Urd) та трьохкомпонентній системі (Til+Urd+Ado) в полярному розчиннику. Встановлено, що тилорон формує стабільні нековалентні комплекси тільки з уридином (про що свідчить наявність в спектрах мас-спектрометричного піку нековалентного комплексу Urd з Til та відсутність піків комплексів Til з іншими нуклеозидами) (рис.3). Така селективність комплексоутворення Til з Urd дозволяє розглядати саме РНК (у склад яких входить нуклеозид Urd) як найбільш ймовірні біомолекули-мішені противірусної дії Til серед нуклеїнових кислот та вказує на уридин як потенційний центр специфічного зв'язування тилорону з молекулами РНК.

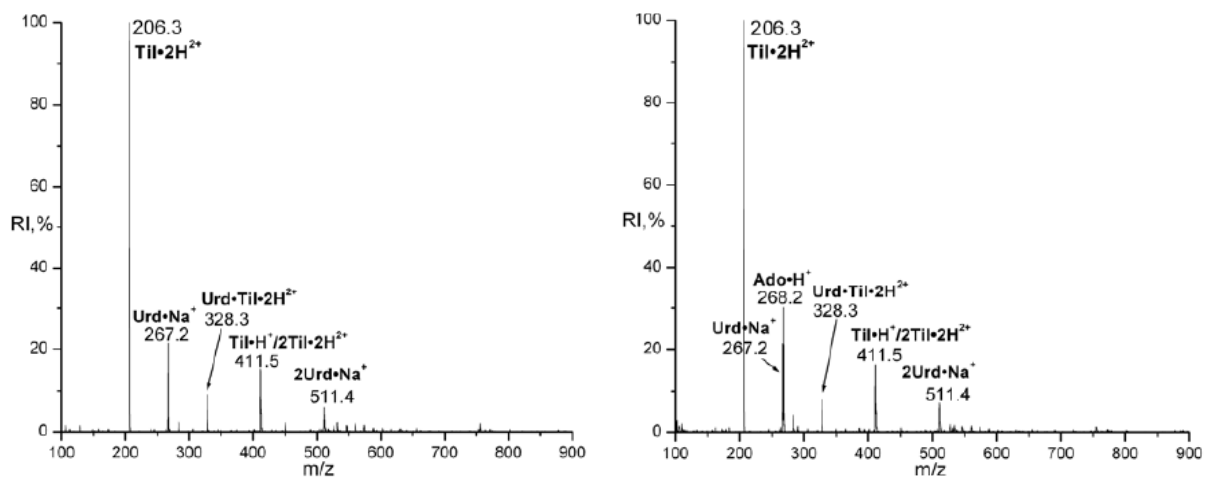


Рис.3. а) ІЕР мас-спектр модельної системи (Til+Urd) (молярне співвідношення 1:10) в метанолі; б) ІЕР мас-спектр модельної системи (Til+Urd+Ado) (молярне співвідношення 1:10:10) в MeOH.

У рамках вивчення молекулярно-фізичних механізмів дії агентів, що є представниками кардіопротекторної групи ліків, уперше за результатами експериментів методом мас-спектрометрії з ІЕР визначено мас-спектрометричні маркери винайденого в Україні кардіопротекторного агента флокаліну (Fl), що є фторвмісним аналогом пінациділу (активатору АТФ-чутливого калієвого мембранного каналу). *Ab initio* методом B3LYP/aug-cc-pVDZ встановлено структуру найбільш стабільного таутомеру Fl у вакуумному наближенні та розраховано розподіл електростатичного потенціалу на поверхні молекули флокаліну (рис.4), що є важливим для визначення характеру міжмолекулярних взаємодій Fl з біомолекулами-мішенями.

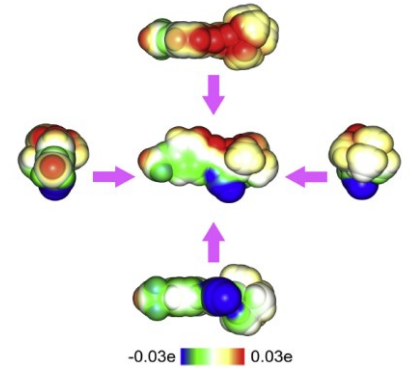


Рис.4. Електростатичний потенціал на поверхні молекули флокаліну. Потенціал розраховано на фіксованій відстані в 2.5 Å від атомів.

Використовуючи експериментально-теоретичний комбінований підхід, уперше вивчено міжмолекулярні взаємодії флокаліну зі складовими потенційної молекули-мішені препарату - амінокислотами лізин (Lys), треонін (Thr) та гліцин (Gly). Доведено формування стабільних нековалентних комплексів Fl з Lys та Thr в полярному оточенні завдяки реєстрації мас-спектрометричних маркерів таких комплексів (рис.5), при цьому піки кластерів Fl з Gly в мас-спектрі модельної системи не фіксувалися.

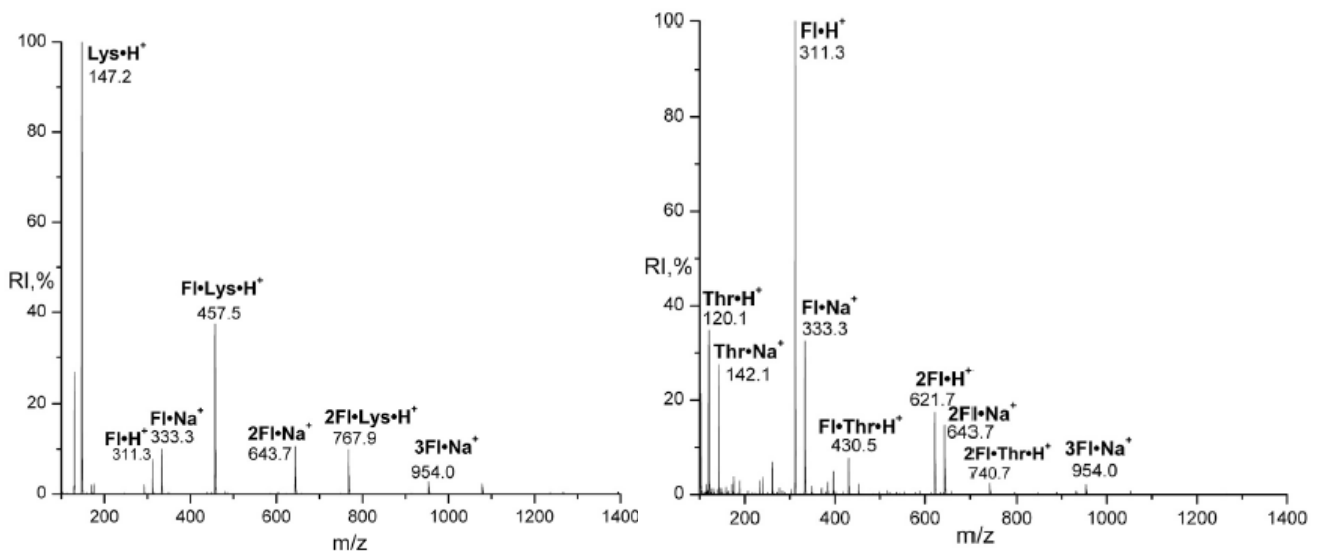


Рис.5. ІЕР мас-спектри модельних систем а) Fl+Lys (молярне співвідношення 1:1), б) Fl+Thr (молярне співвідношення 1:1).

Структурні та енергетичні параметри протонованих нековалентних комплексів Fl•Lys•H<sup>+</sup> та Fl•Thr•H<sup>+</sup>, сигнали яких зареєстровані в мас-спектрах,

розраховано методом B3LYP/aug-cc-pVDZ та встановлено, що енергія взаємодії в таких комплексах має від'ємні значення як у вакуумному наближенні, так і в полярному середовищі (за даними розрахунків методом PCM), що підтверджує стабільність таких міжмолекулярних асоціатів у різних середовищах (табл. 4 та 5). Найбільш стабільні комплекси Fl з Lys•H<sup>+</sup> та Fl з Thr•H<sup>+</sup> (рис. 6) стабілізовані завдяки взаємодіям електростатичної природи між протонованими аміногрупами амінокислот Lys або Thr та атомом N нітрильної групи флокаліну (що характеризується частковим негативним зарядом, рис.5). Формування нековалентних комплексів між Fl та Lys або Thr запропоновано в якості молекулярного механізму взаємодії флокаліну з АТФ-чутливим калієвим мембранним каналом, що пов'язано з кардіопротекторною активністю препарату. При цьому домени регуляторних субодиниць цього мембранного каналу, збагачені саме на залишки лізину та треоніну, розглядаються як потенційні місця зв'язування флокаліну з біомолекулою-мішенню.

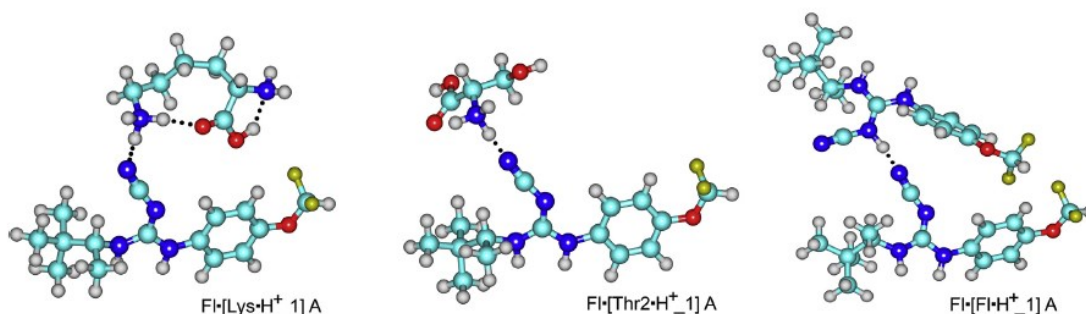


Рис.6. Структури найбільш стабільних протонованих комплексів флокалін-лізін, флокалін-треонін та димеру флокаліну.

Таблиця 4.

Енергія взаємодії (IE, kcal/mol) та відносна стабільність ( $\Delta E$ , kcal/mol) протонованих комплексів флокалін-лізін, флокалін-треонін та флокалін-флокалін, визначена за результатами B3LYP/aug-cc-pVDZ розрахунків.

Комплекс	IE <sup>a</sup>	$\Delta E^b$	Комплекс	IE <sup>a</sup>	$\Delta E^b$
Flokalin-Lysine			Flokalin-Threonine		
Fl•[Lys•H <sup>+</sup> _1] A	-28.7	0.0	Fl•[Thr2•H <sup>+</sup> _1] A	-33.6	0.0
Fl•[Lys2•H <sup>+</sup> _1] A	-36.9	5.9	Fl•[Thr2•H <sup>+</sup> _1] B	-31.4	2.2
Fl•[Lys2•H <sup>+</sup> _1] B	-35.7	7.1	Fl•[Thr•H <sup>+</sup> _1] A	-28.2	5.4
Fl•[Lys2•H <sup>+</sup> _1] C	-28.1	14.7	[Fl•H <sup>+</sup> _1]•Thr2 A	-12.4	15.8
Fl•[Lys2•H <sup>+</sup> _2] A	-34.5	11.0	[Fl•H <sup>+</sup> _1]•Thr2 B	-11.5	16.9
Fl•[Lys2•H <sup>+</sup> _2] B	-28.7	16.8			
Fl•[Lys2•H <sup>+</sup> _2] C	-13.9	31.6	Flokalin-Flokalin		
[Fl•H <sup>+</sup> _1]•Lys2 A	-16.1	25.1	Fl•[Fl•H <sup>+</sup> _1] A	-28.7	

<sup>a</sup>Розраховано як різниця повної енергії комплексу та суми повних енергій мономерів.

<sup>6</sup>Розраховано відносно найнижчого значення енергії комплексу Fl•[Lys•H<sup>+</sup>\_1] A або Fl•[Thr2•H<sup>+</sup>\_1] A для комплексів флокалін-лізин та флокалін-треонін, відповідно.

Таблиця 5.

Енергія взаємодії (IE, kcal/mol) та відносна стабільність (ΔE, kcal/mol) протонованих комплексів флокалін-лізин та флокалін-треонін у воді/метанолі, визначені за результатами розрахунків методом B3LYP(6-31G(d,p))/aug-cc-pVDZ.

Комплекс	IE	ΔE	Комплекс	IE	ΔE
Flokalin-Lysine			Flokalin-Threonine		
Fl•[Lys•H <sup>+</sup> _1] A	-7.8/-8.2	0.0/0.0	Fl•[Thr2•H <sup>+</sup> _1] A	-8.4/-7.5	0.0/0.0
Fl•[Lys2•H <sup>+</sup> _1] A	-9.4/-9.8	1.5/1.7	Fl•[Thr2•H <sup>+</sup> _1] B	-7.1/-6.1	1.3/1.4
Fl•[Lys2•H <sup>+</sup> _1] B	-9.3/-9.8	1.4/1.7			

Представлені в цьому розділі результати досліджень щодо формування стабільних нековалентних комплексів ряду досліджених лікарських агентів з потенційними біомолекулами-мішенями або їхніми компонентами підтверджують значну роль фізичних міжмолекулярних взаємодій у реалізації біологічної (зокрема й лікувальної) активності цих ліків.

У другому розділі дисертаційної роботи «**Мас-спектрометричні маркери молекулярно-фізичних процесів, що здатні змінювати дію біологічно активних агентів: встановлення молекулярних механізмів модифікації активності лікарських речовин різних груп при одночасному застосуванні**» представлено результати досліджень, які мали на меті визначення молекулярно-фізичних процесів, що відбуваються за участю ліків різних груп і біомолекул та можуть призводити до зміни біологічної активності цих лікарських агентів при сумісному введенні. Цей напрямок досліджень є актуальним у зв'язку з поширенням у сучасній медичній практиці схем лікування із застосуванням комплексу лікарських засобів. Методичний підхід, який поєднує експериментальний метод мас-спектрометрії з ІЕР та теоретичний метод квантово-механічних розрахунків DFT, що довів свою ефективність на попередніх етапах роботи, було застосовано до вивчення модельних систем, що містили молекули ряду протималарійних або протибактеріальних ліків та молекули протизапальних або вітамінних агентів (аспірин або вітамін С), які часто застосовуються разом при лікуванні інфекційних захворювань.



У рамках проведених досліджень вперше визначено мас-спектрометричні маркери процесу конкуренції, що відбувається між молекулами протималарійних агентів артемізинінового ряду (дигідроартемізинін,  $\alpha$ -артеметер, артезунат) та аспірину (ASP), за нековалентну асоціацію з мембранним фосfolіпідом дипальмітоїлфосфатидилхоліном (DPPC) у полярному середовищі. Ця конкуренція підтверджується присутністю в ІЕР мас-спектрах дво- та трикомпонентних модельних систем (що склалися з лікарських агентів різних груп, молекул DPPC та розчинника) піків стабільних нековалентних комплексів артемізинінових агентів з DPPC та ASP з DPPC (рис. 7). Важливо, що в мас-спектрах також ідентифіковано піки комплексів похідних артемізиніну з ASP, які є мас-спектрометричними маркерами ще одного можливого сценарію міжмолекулярних взаємодій, модифікуючих біоактивність лікарських агентів (рис. 7).

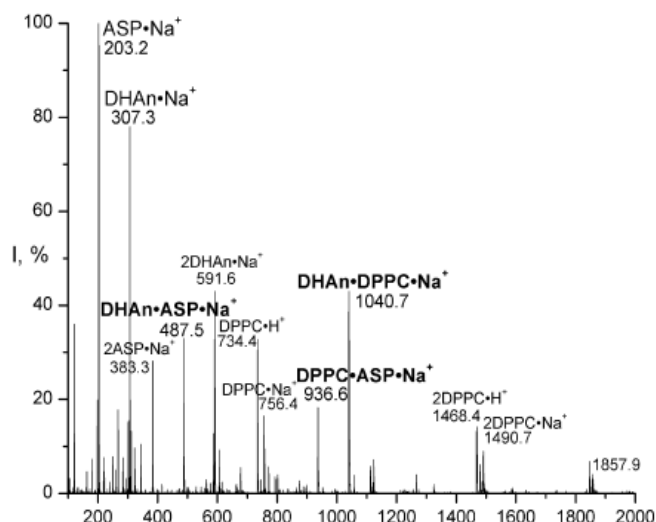


Рис.7. ІЕР мас-спектр модельної системи DHAn:ASP:DPPC (молярне співвідношення 1:1:10).

Результати розрахунків структурно-енергетичних характеристик комплексів дигідроартемізиніну (DHAn) з ASP та/або з фосфатидилхоліном (PCn, моделює полярну головку DPPC) підтвердили встановлену в експерименті міжмолекулярну конкуренцію між фосfolіпідом та ASP за зв'язування з протималарійним агентом (табл.6). У визначеній найбільш стабільній структурі комплексу DHAn•PCn у вакуумному наближенні (рис.8) енергія взаємодії дорівнює  $-55.6$  kJ/mol та є близькою до значення енергії взаємодії в кластері ASP•DHAn ( $IE = -56.2$  kJ/mol). За даними розрахунків найбільш енергетично вигідним виявився комплекс ASP•PCn ( $IE = -107.9$  kJ/mol), який стабілізується трьома парами водневих зв'язків на відміну від двох пар водневих зв'язків в попередньо зазначених комплексах (рис.8).

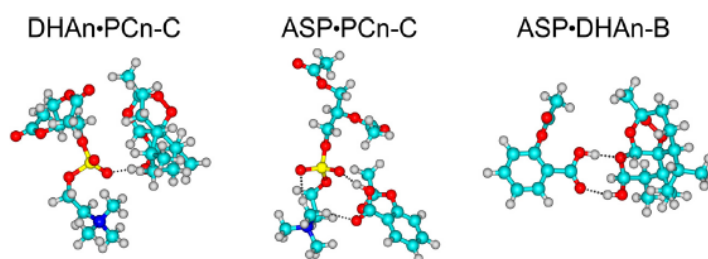


Рис.8. Розраховані методом B3LYP/aug-cc-pVDZ структури найбільш стабільних комплексів DHAn•PCn, ASP•PCn, ASP•DHAn у вакуумному наближенні.

Таблиця 6.

Енергія взаємодії (IE, kJ/mol) в комплексах DHAn•PCn, ASP•PCn, ASP•DHAn у вакуумному наближенні, визначена методом B3LYP/aug-cc-pVDZ, та в метанолі і воді методом PCM.

Комплекс	IE, DFT B3LYP/aug-cc-VDZ		
	Вакуумне наближення	PCM, метанол	PCM, вода
DHAn•PCn-A	-28.8	-11.6	-11.1
DHAn•PCn-B	-35.0	-7.5	-7.0
DHAn•PCn-C	-55.6	-32.2	-31.7
ASP•PCn-A	-59.9	-41.1	-40.5
ASP•PCn-B	-95.5	-55.6	-54.6
ASP•PCn-C	-107.9	-64.6	-63.5
ASP•DHAn-A	-20.5	-10.6	-10.5
ASP•DHAn-A	-56.2	-39.4	-38.8

У подальших дослідженнях уперше експериментально доведено можливість конкурентного формування стабільних нековалентних комплексів молекул артемізинінових агентів (артемізинін, дигідроартемізинін,  $\alpha$ -артеметер,  $\beta$ -артеестер) та аскорбінової кислоти (вітамін С, ASC) з молекулою DPPC та між собою в системах *in vitro* (рис.9). Квантово-механічні розрахунки структурно-енергетичних характеристик комплексів DHAn з ASC та з PCn, підтвердили високу стабільність таких нековалентних асоціатів.

Найбільш енергетично стабільний нековалентний кластер ASC•DHAn у вакуумному наближенні (рис.10) характеризується енергією зв'язку  $IE = -50.3$  kJ/mol, яка є близькою за значенням до енергії зв'язку в комплексі DHAn•PCn ( $IE = -52.6$  kJ/mol), що підтверджує міжмолекулярну конкуренцію між вітаміном С та фосфоліпідом за комплексоутворення з DHAn (подібно до ситуації з аспірином).

Комплекс ASC•PCn (рис.10) має найбільшу за абсолютною величиною енергію зв'язку ( $IE = -83.0$  kJ/mol) серед вищезазначених комплексів. Розрахунки методом PCM показали, що відносна стабільність цих нековалентних асоціатів у вакуумному наближенні є подібною до їх відносної стабільності в полярних розчинниках – у воді та в метанолі.

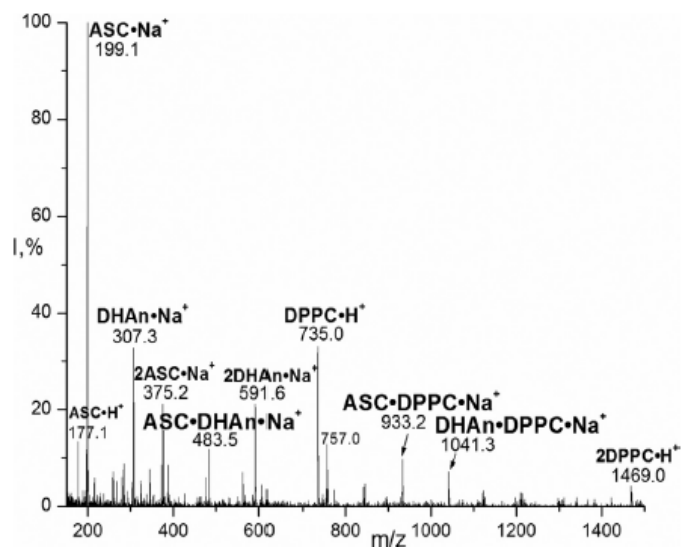


Рис.9. ІЕР мас-спектр модельної системи DHAn:ASC:DPPC (1:1:5).

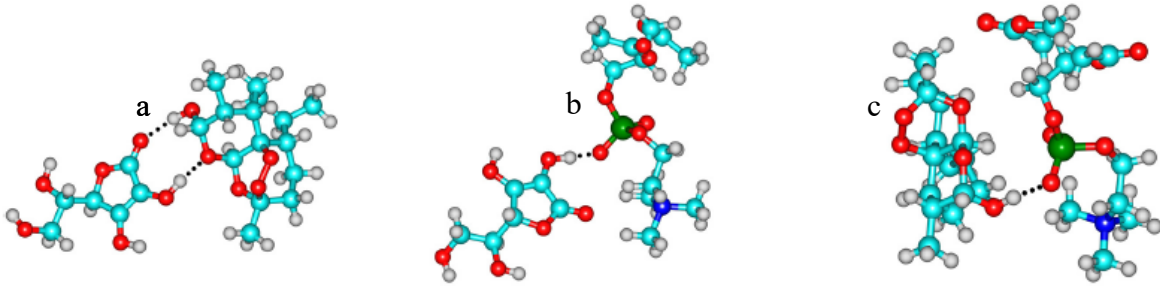


Рис.10. Розраховані методом DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ структури найбільш стабільних комплексів: a - ASC•DHAn, b – ASC•PCn, c - DHAn•PCn у вакуумному наближенні.

Встановлене явище міжмолекулярної конкуренції між протималарійними агентами артемізинінового ряду та аспірином (або вітаміном С) за нековалентне зв'язування з мембранним фосфоліпідом, а також формування стабільних парних міжмолекулярних асоціатів між молекулами препаратів різних груп уперше запропоновано в якості молекулярно-фізичних механізмів ймовірної модифікації (зміни) біологічної активності цих лікарських агентів (вже на стадії проникнення ліків через мембранні структури клітин) при їх одночасному застосуванні в медичній практиці.

У рамках вивчення молекулярних механізмів потенційної модифікації аспірином активності протиінфекційних амонієвих агентів вперше визначені мас-спектрометричні маркери формування стабільних нековалентних комплексів дикатіонів декаметоксину (див. спектр на рис. 11), етонію та тіонію з молекулами ASP та процесу конкуренції лікарських сполук різних груп за зв'язування з DPPC в полярному середовищі.

Ці міжмолекулярні конкурентні процеси комплексоутворення запропоновано розглядати як молекулярно-фізичні механізми зміни активності бісчетвертинних амонієвих сполук та аспірина при одночасному введенні.

На наступному етапі дисертаційних досліджень вперше ідентифіковано мас-

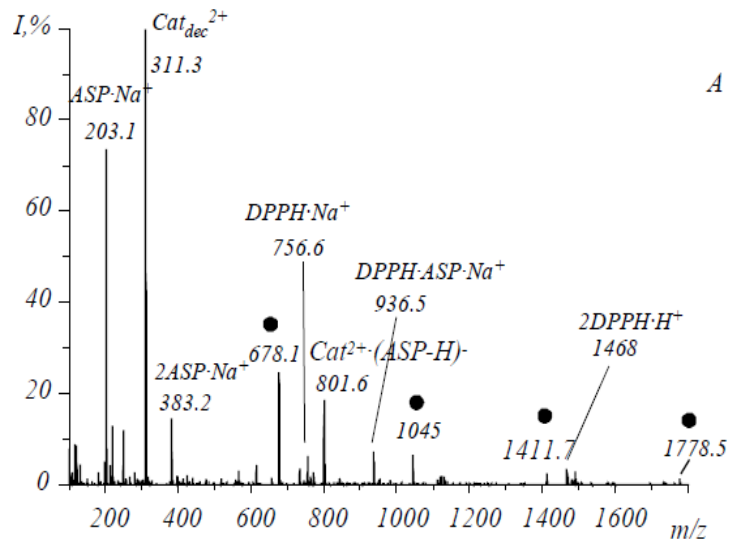


Рис.11. ІЕР мас-спектр трикомпонентної модельної системи DEC:ASP:DPPC (молярне співвідношення 1:1:10) в MeOH: Cat<sup>2+</sup>– дикатіон декаметоксину. Набір піків, що відповідають нековалентним комплексам [Cat<sup>n</sup>DPPC]<sup>2+</sup> з (n=1÷4) позначено на спектрах (•).

спектрометричні маркери міжмолекулярних кластерів антибіотика циклосерин із потенційною молекулою-мішенню в клітинній стінці бактерій – N-ацетил-D-глюкозаміном (NAG), що формуються в умовах розчину. Таке нековалентне комплексоутворення між молекулами протитуберкульозного агенту та NAG-компонентами пептидоглікану клітинної стінки бактерій розглядається як молекулярно-фізична складова процесу пригнічення біосинтезу клітинної стінки, пов'язаного з протибактеріальною дією циклосерину. У подальших експериментах виявлено формування стабільних нековалентних комплексів молекул циклосерину та аспірину в системі *in vitro*, що запропоновано як молекулярно-фізичний механізм ймовірної модифікації активності цих лікарських засобів різних груп при їх одночасному застосуванні в лікувальній практиці.

**Розділ 3 дисертації «Біологічно активні агенти в умовах гідратного або іншого сольватного оточення: молекулярно-структурна стабільність лікарських сполук та взаємодія з молекулами та іонами сольватного оточення за даними м'якоіонізаційної мас-спектрометрії та модельних розрахунків»** присвячений комплексним дослідженням методами м'якоіонізаційної мас-спектрометрії з ІЕР та МАЛДІ, а також розрахунковими методами модельних систем, що містили бісчетвертинні амонієві протиінфекційні сполуки та молекули (або іони) сольватного оточення, зокрема води, або спиртів (етанол чи метанол), або дигідроксибензойної кислоти (ДНВ). Ці дослідження є важливими, оскільки структурна стабільність біологічно активних агентів (лікарських агентів, компонентів довілля, тощо) та їх міжмолекулярні взаємодії з компонентами сольватного оточення є важливими для механізмів реалізації їхньої біологічної дії, яка відбувається у фізіологічних умовах або в навколишньому середовищі.

У роботі вперше визначено структурно-енергетичні характеристики гідратного комплексу дикатіону бісчетвертинного амонієвого агенту декаметоксин з 36 молекулами води, що моделюють першу гідратну оболонку дикатіону, за результатами розрахунків напівемпіричним методом АМ1. Доведено, що структура дикатіону декаметоксину в гідратному оточенні близька до найбільш енергетично вигідної структури цього дикатіону в вакуумному наближенні та відповідає витягнутій конформації центрального вуглеводневого ланцюга між четвертинними азотами (табл.7). Така структура дикатіону зумовлена силами електростатичного відштовхування, що діють як у відсутності розчинника, так і в гідратному оточенні між делокалізованими позитивними зарядами четвертинних азотних груп. Розрахована повна енергія міжмолекулярної взаємодії в гідратному комплексі дикатіону декаметоксину з 36 молекулами води становить -1361.4 kJ/mol,

включаючи енергію взаємодії між дикатионом та молекулами води, що дорівнює - 553.1 kJ/mol. Встановлено, що взаємодія гідратного оточення з дикатионом декаметоксину визначається делокалізацією позитивного заряду в дикатионі: найбільш гідратованими є вуглеводневі групи, які найближчі до четвертинних азотів та характеризуються найбільшою щільністю делокалізованого позитивного заряду.

Таблиця 7.

Структурні параметри дикатиона декаметоксина в ізольованому стані та в комплексі з 36 молекулами води.

Параметр	Дикатион декаметоксину в вакуумному наближенні	Гідратований дикатион декаметоксину
Відстань між четвертинними азотами $r_{N-N}$ , Å	13.87	13.51
Середня довжина зв'язку -C-C- в вуглеводневому ланцюжку, Å	1.518	1.515
Середній кут між атомами вуглецю в ланцюжку, град	110.47	110.37

У рамках експериментальних досліджень молекулярно-фізичних характеристик бісчетвертинних амонієвих речовин уперше описано динамічну поведінку мас-спектрометричних маркерів структурної стабільності декаметоксину в умовах сольватного оточення в залежності від електричного потенціалу на конусному електроді (CV) в джерелі іонів при ІЕР (рис.12). Визначено, що в діапазоні значення CV від 0 до 50 V у спектрах присутні обидва мас-спектрометричні маркери структурної стабільності цього бісчетвертинного агенту: піки інтактного дикатиону  $Cat^{2+}$  та комплексу дикатиону з протиіоном хлору  $Cat^{2+}\cdot Cl^-$ . З ростом CV в ІЕР мас-спектрах з'являються піки фрагментів розпаду дикатиону, при цьому відносна інтенсивність самого піку  $Cat^{2+}$  знижується, поки сигнал від  $Cat^{2+}$  зовсім не зникає при CV=90 V (рис.12). Важливо, що мас-спектрометричні маркери фрагментації іону  $Cat^{2+}\cdot Cl^-$  в діапазоні CV до 90 V не спостерігаються. Така поведінка мас-спектрометричних маркерів структурної стабільності декаметоксину підтверджує, що комплекс дикатиону декаметоксину з протиіоном є стабільнішим за інтактний дикатион в умовах мас-спектрометричного експерименту, що пояснюється набуттям більшої кінетичної енергії іоном  $Cat^{2+}$  у порівнянні з іоном комплексу  $Cat^{2+}\cdot Cl^-$  та пов'язаною з цим більшою енергією зіткнення дикатиону з молекулами висушуючого газу в мас-спектрометрі.

Результати дослідження показують, що найбільш м'які умови іонізації, за яких у спектрах ідентифікується найбільше мас-спектрометричних маркерів збереження структурної стабільності дикатіонів бісчетвертинних амонієвих сполук та найменше маркерів їх фрагментації, спостерігаються в експериментах з ІЕР при низьких значеннях потенціалу на конусному електроді.

Завдяки дослідженню розчинів бісчетвертинного амонієвого протиінфекційного агента етоній методом мас-спектрометрії з ІЕР встановлено, що спектральна картина (особливості розподілу мас-спектрометричних маркерів структурної стабільності та процесів фрагментації дикатіона

етонію), як це спостерігалось й для декаметоксину, переважно визначається значеннями потенціалу на конусному електроді джерела іонів. З ростом значення CV характер мас-спектрів етонію свідчить про інтенсифікацію процесу фрагментації дикатіону. При цьому мас-спектрометричний маркер стабільності інтактного дикатіону етонію  $\text{Cat}^{2+}$  присутній в ІЕР спектрах у діапазоні CV від 10 до 50 V, пік кластеру  $\text{Cat}^{2+}\cdot\text{Cl}^-$  наявний у спектрах в інтервалі CV від 20 до 80 V. Поведінка маркерів структурної стабільності етонію в мас-спектрах свідчить про цікаве явище збереження двозарядового стану фрагментів дикатіону етонію (з найменшою серед досліджених бісчетвертинних амонієвих сполук відстанню в 4Å між четвертинними азотами) при розпаді дикатіону в умовах ІЕР. Про це свідчить наявність (і навіть превалювання) в спектрах при CV від 20 до 40 V двозарядних іонів фрагментів етонію. Проведені за емпіричною формулою (2) розрахунки значень середньої внутрішньої енергії, що набувають іони-прекурсори етонію при

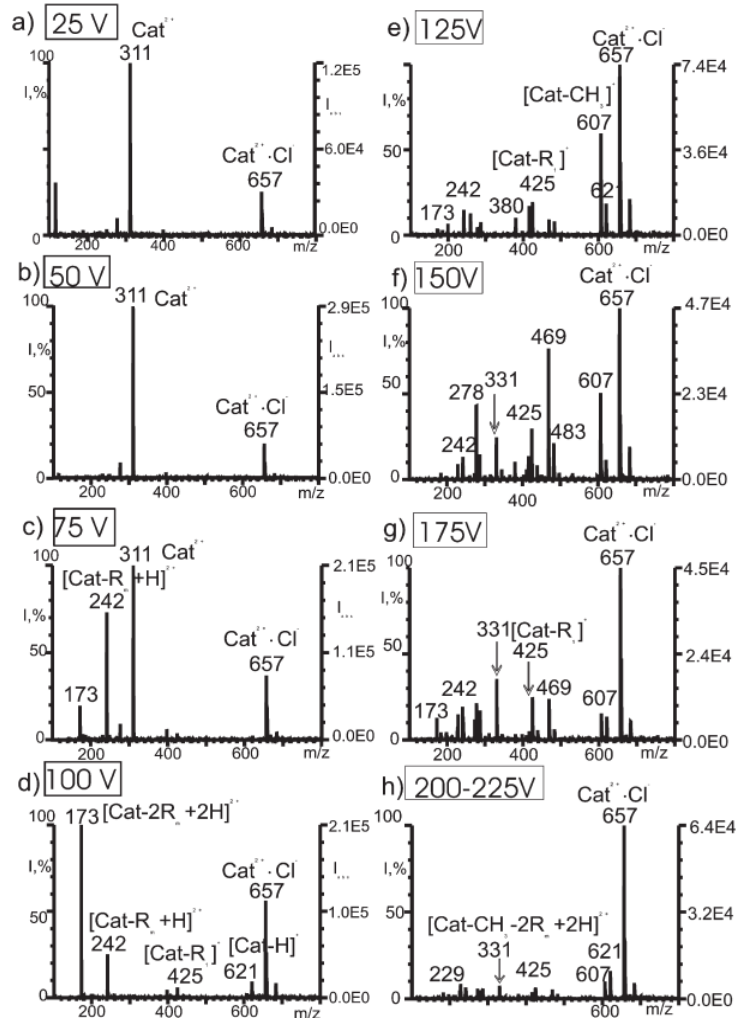


Рис.12. ІЕР спектри 0.5  $\mu\text{M}$  розчину декаметоксину в етанолі в залежності від потенціалу на конусному електроді (CV).

різних значеннях CV та температури в джерелі іонів мас-спектрометру (табл. 8 та рис. 13), дозволили встановити наступне. Явище збереження двозарядових фрагментів етонію пояснюється недостатністю енергії електростатичного відштовхування для фрагментації дикатіону з розділенням заряду в умовах ІЕР при низьких значеннях CV через делокалізацію позитивного заряду дикатіону.

$$\langle E_{\text{int}} \rangle = [405 \times 10^{-6} - 480 \times 10^{-9}(\text{DOF})](CV)T + E_{\text{them}}(T), \quad (2)$$

де (CV) – це значення потенціалу на конусному електроді джерела іонів, T – температура джерела іонів в Кельвінах, DOF – кількість ступенів свободи (яка визначається як  $3N-6$ , де N – кількість атомів в іоні), та  $E_{\text{them}}(T)$  – середня внутрішня енергія при 0 значенні CV, що є залежною від температури джерела іонів та визначалася за розрахунками *MassKinetics software*.

Таблиця 8.

Середня внутрішня енергія  $\langle E_{\text{int}} \rangle$  іону  $\text{Cat}^{2+}$  етонію та декаметоксину при різних значеннях CV та різних температурах в джерелі іонів.

CV, V	Середня внутрішня енергія, $\langle E_{\text{int}} \rangle$ , eV			
	Етоній		Декаметоксин	
	T=300K	T=393K	T=300K	T=393K
10	2.7	4.1	2.8	4.3
20	4.3	6.2	4.2	6.1
50	9.0	12.5	8.4	11.7
100	16.8	23.0	15.4	21.1

У ході подальших досліджень встановлено, що мас-спектрометричні маркери структурної стабільності етонію, отримані методом МАЛДІ із застосуванням матриці 2,5-дигідроксибензойної кислоти (ДНВ), значно відрізняються від таких, які було визначено методом мас-спектрометрії з ІЕР, що зумовлено відмінністю умов іонізації та міжмолекулярною взаємодією дикатіону етонію з аніоном ДНВ.

В МАЛДІ спектрі етонію відсутні піки інтактного дикатіону  $\text{Cat}^{2+}$  та піку комплексу  $\text{Cat}^{2+}\cdot\text{Cl}^-$ , при цьому визначальними характеристичними піками в спектрі є піки квазімолекулярних іонів  $[\text{Cat}-\text{H}]^+$ ,  $[\text{Cat}-\text{CH}_3]^+$  та ряду іонів фрагментів (рис.14). Визначені особливості мас-спектрів етонію є корисними для ідентифікації інших бісчетвертинних амонієвих сполук методом мас-спектрометрії з МАЛДІ. Проведені мас-спектрометричні експерименти дозволили також пояснити ефект пригнічення сигналів матриці в мас-спектрах четвертинних амонієвих агентів, що отримані методом МАЛДІ в режимі позитивних іонів із застосуванням матриці, яка належить до органічних кислот. При дослідженнях модельної системи, що складалася з гідроксиду амонію в ДНВ, та систем, що містили протиінфекційні препарати декаметоксин та етоній, розчинені в матриці ДНВ, встановлено факт конкуренції аніонів ( $\text{OH}^-$  або  $\text{Cl}^-$ ) четвертинних сполук та кислотного аніону  $[\text{ДНВ}-\text{H}]^-$  за зв'язування з четвертинним амонієвим катіоном. Показано, що утворення стабільних комплексів амонієвих катіонів з органічним кислотним аніоном превалює в умовах мас-спектрометричного експерименту, що зумовлює ефект пригнічення сигналів самої матриці в МАЛДІ мас-спектрах цих сполук. Формування стабільних комплексів, зокрема дикатіону декаметоксину з органічним аніоном  $[\text{ДНВ}-\text{H}]^-$  як складової сольватного оточення, доведене в МАЛДІ експерименті, може також пояснювати модифікуючий ефект біологічно активних речовин, що належать до класу органічних кислот на мембранотропну активність цього бісчетвертинного амонієвого агенту.

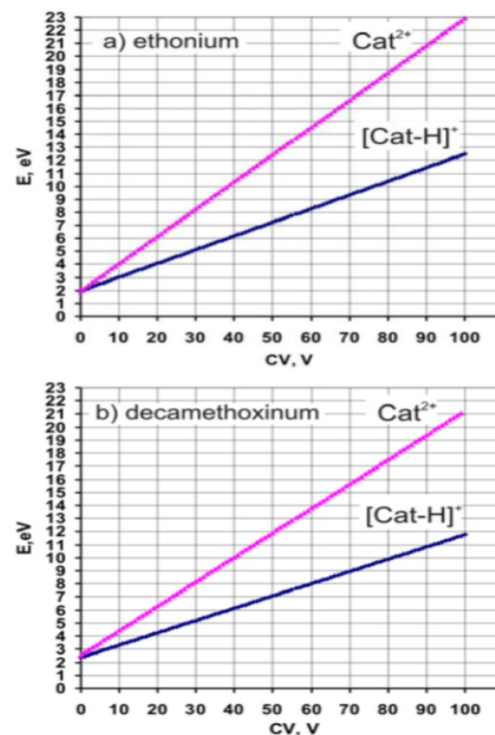


Рис.13. Залежність середньої внутрішньої енергії  $\langle E_{\text{int}} \rangle$  від величини CV для двозарядового  $\text{Cat}^{2+}$  та однозарядового  $[\text{Cat}-\text{H}]^+$  іонів етонію (а) та декаметоксину (б) при температурі джерела іонів 393 К (+120°C).

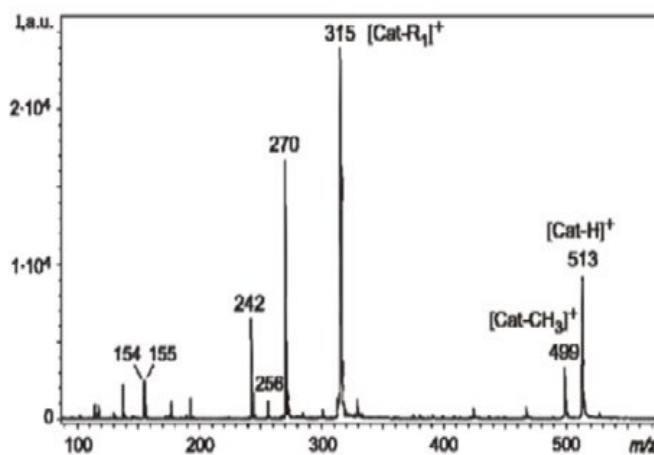


Рис. 14. МАЛДІ мас-спектр етонію в матриці 2,5-дигідроксибензойної



Результати цього розділу дисертації вказують на важливість аналізу умов збереження структурної стабільності біологічно активних агентів, та урахування їхньої взаємодії з компонентами сольватного оточення, для прогнозування функціональної активності та встановлення молекулярних механізмів біологічної дії цих агентів.

В розділі 4 «**Мас-спектрометричні маркери органічних компонентів частинок атмосферних аерозолів та молекулярних процесів за їхньою участю**» викладено результати досліджень, що проводилися з метою визначення за допомогою методу мас-спектрометрії біологічно активних речовин та їхніх міжмолекулярних взаємодій у складі частинок атмосферних аерозолів, що впливають на стан довкілля, здоров'я людей, а також відіграють значну роль у біосферних процесах. Летючі органічні сполуки біогенного та антропогенного походження, потрапляючи до атмосфери, можуть вступати як у хімічні, так і в молекулярно-фізичні процеси, зокрема нековалентні взаємодії з іншими компонентами атмосфери, і як окремо, так і вже в складі сформованих асоціатів вторинних органічних аерозолів впливати на живі організми. Умови ГХ/МС експерименту якнайкраще підходять для вивчення та моделювання молекулярно-фізичних процесів за участю біологічно активних речовин, що відбуваються в атмосфері. Тому важливою складовою дисертації стала розробка та застосування методики на базі методу ГХ/МС для вивчення молекулярного складу та міжмолекулярних взаємодій у нековалентних асоціатах атмосферних аерозолів.

За результатами проведених досліджень розроблено та валідовано ГХ/МС методику для визначення в атмосферних аерозолях органічної сполуки левоглюкозан та ряду споріднених моносахаридних ангідридів, що вважаються важливими атмосферними продуктами горіння біомаси. Ця методика базується на екстракції левоглюкозану та споріднених сполук із кварцових волоконних фільтрів (які використовуються для збирання частинок атмосферних аерозолів) за допомогою суміші дихлорметану з метанолом (80:20) та подальшому триметилсилілюванню (TMS). Отриманий екстракт досліджувався методом мас-спектрометрії, зокрема вивчено поведінку піку з  $m/z$  217, визначеного в якості мас-спектрометричного маркера левоглюкозану та інших моносахаридних ангідридів (рис.15). Для кількісного аналізу вмісту левоглюкозану в аерозолях застосовано підхід внутрішнього стандартного калібрування з використанням спорідненої за структурою сполуки метил- $\beta$ -L-арабінопіранозид.

Розроблена ГХ/МС методика була успішно апробована в дослідженні урбаністичних аерозолів  $PM_{10}$  (з розміром частинок менше 10 мкм), в різні сезони (зимовий та літній). В цих дослідженнях встановлено, що протягом холодного сезону в частинках аерозолів превалювали ангідриди полісахаридів (левоглюкозан та ін.) (рис.16), які розглядаються як індикатори активного спалювання біомаси (деревини) при опаленні (антропогенний вплив на довкілля). У теплом сезоні в складі частинок аерозолів превалювали інші сахариди, які мають біогенне рослинне походження (глюкоза, фруктоза, цукроза та ін.) (рис.16). Описано роль полярних молекул визначених сахаридів як центрів нуклеації для конденсації води в атмосфері завдяки активній гідратації та міжмолекулярним взаємодіям з іншими компонентами сольватного оточення.

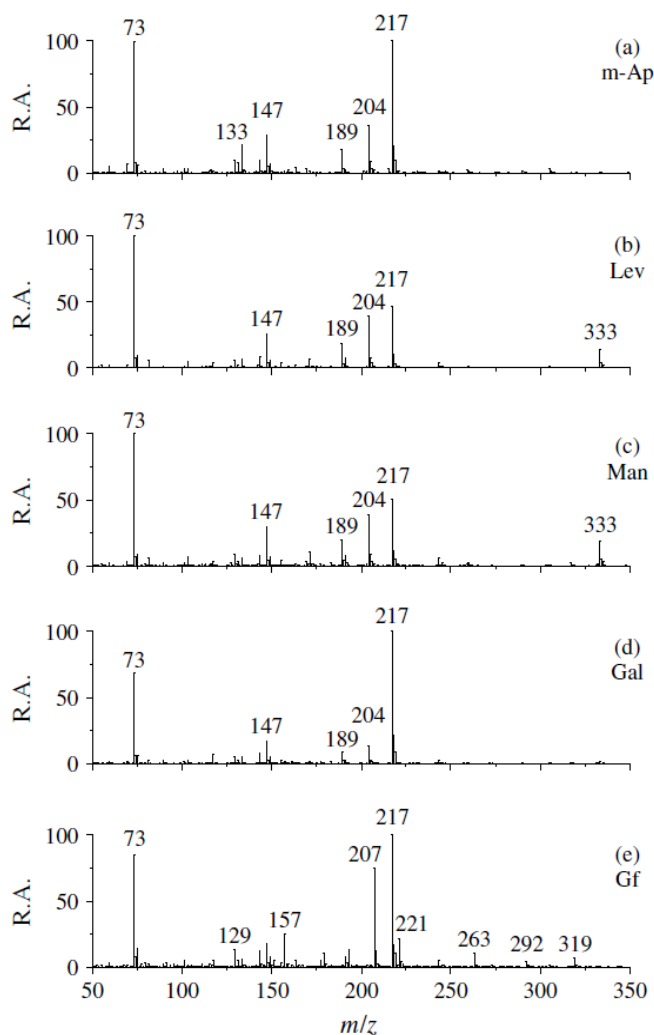


Рис. 15. Мас-спектри, що отримані для TMS похідних (а) метил- $\beta$ -L-арабінопіранозиду – внутрішній стандарт, (б) левоглюкозана, (с) маннозана, (д) галактозана, (е) 1,6-ангідро- $\beta$ -D-глюкофуранози.

Описано роль полярних молекул визначених сахаридів як центрів нуклеації для конденсації води в атмосфері завдяки активній гідратації та міжмолекулярним взаємодіям з іншими компонентами сольватного оточення.

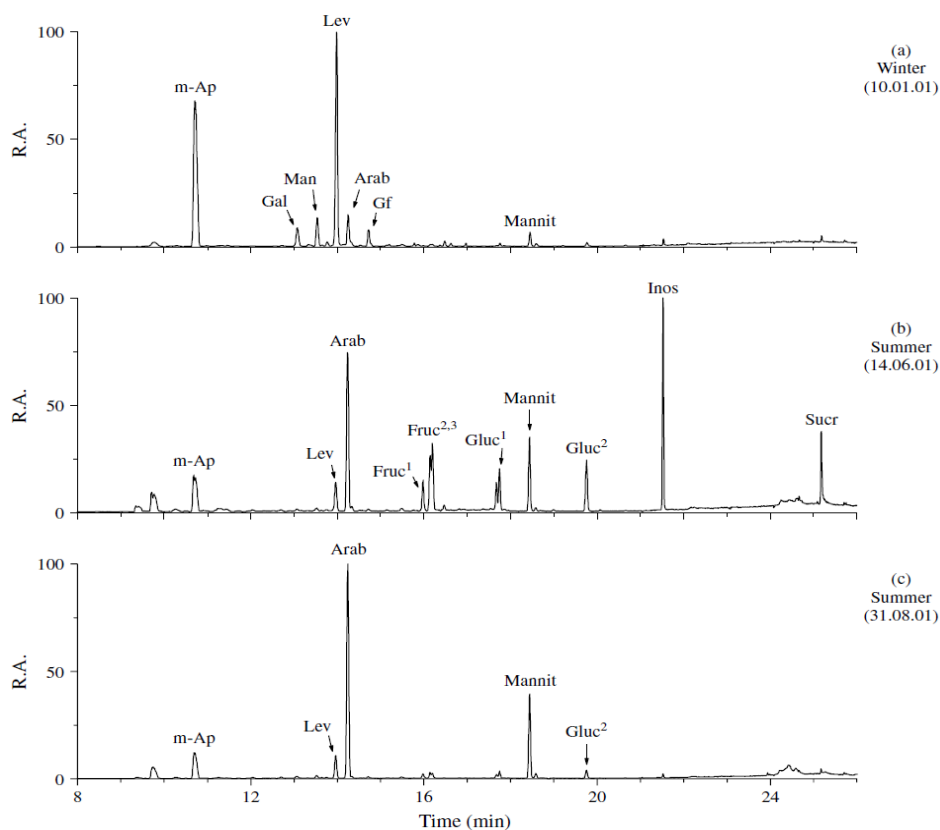


Рис. 16. Іонні хроматограми (пік  $m/z$  217, ДІЗ амплітуда 1.2 V), отримані для зразків урбаністичних аерозолів м. Гент (Бельгія).

У подальших дослідженнях із застосуванням методу ГХ/МС завдяки детальному аналізу хромато-мас-спектрів зразків аерозолів, зібраних у районах тропічних лісів Амазонії (Бразилія), в складі природних аерозолів вдалося ідентифікувати компоненти, що раніше не визначалися – полярні органічні сполуки 2-метилтреїтол та 2-метилеритритол, які є діастереоізомерами 2-метилтетролу. Ці поліоли, що мають ізопреновий скелет, склали значну кількість серед органічних складових досліджених зразків аерозолів (рис.17). Уперше запропоновано молекулярний механізм утворення цих поліолів у ході процесів фотоокислення ізопрену, що ініціюються радикалом ОН. Винайдені 2-метилтетроли мають низький тиск насиченої пари та є гігроскопічними речовинами, що дозволяє їм конденсуватися на вже існуючих аерозольних частинках та вносити значний вклад у формування біологічно активних вторинних органічних аерозолів із біогенних джерел.

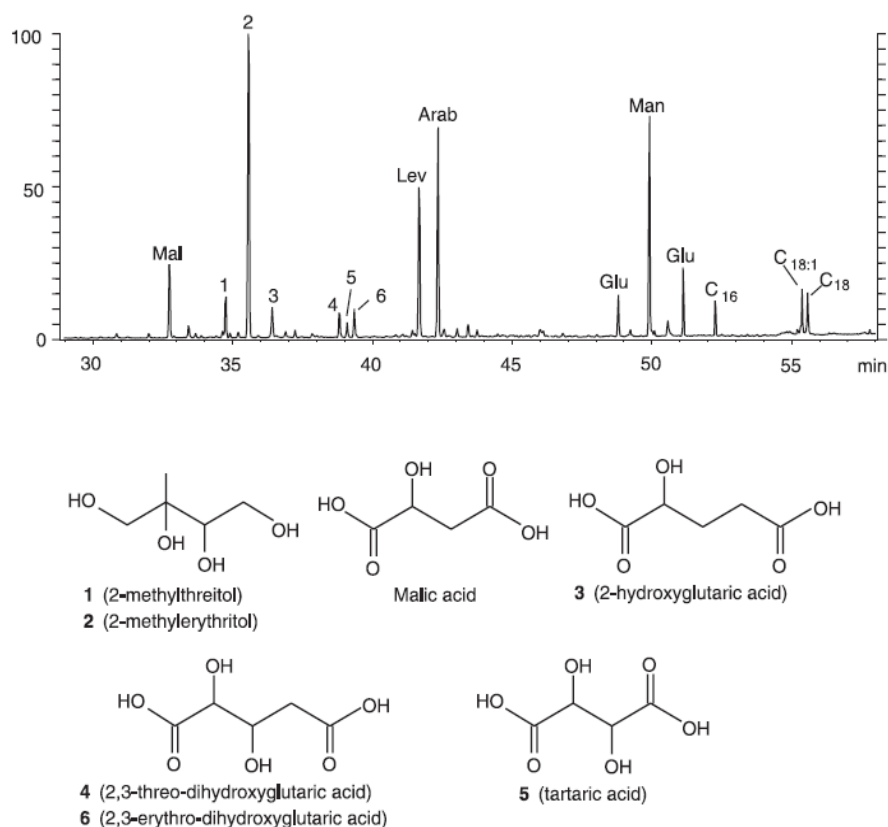


Рис. 17. ГХ/МС хроматограма повного іонного току для триметилсілулованих похідних екстракту зразків атмосферних аерозолів, зібраних в міжнародному дослідженні LBA-CLAIRE 2001.

ГХ/МС методика була також успішно застосована в рамках масштабного міжнародного біосферного експерименту LBA-SMOCC для досліджень зразків атмосферних аерозолів, зібраних у Рондонії (Бразилія) з метою детального вивчення варіативності молекулярного складу субмікронних аерозольних частинок у залежності від біологічно значущих біосферних процесів, зокрема горіння біомаси. Завдяки аналізу мас-спектрометричних маркерів органічних речовин в хромато-мас-спектрах вдалося ідентифікувати до 11% водорозчинних органічних сполук у зразках аерозолів, що досліджувалися. Визначено, що основними серед ідентифікованих біологічно активних органічних компонентів мікро та наночастинок аерозолів є карбонові кислоти та полігидроксиловані сполуки, що містять складові як пірогенного, так і біогенного походження. Сполуки пірогенного походження включали ангідросахариди, ароматичні кислоти та альдегіди, тоді як біогенні сполуки склалися з сахарів, цукрових спиртів, 2-метилтетролів та яблучної кислоти. Важливо, що міжмолекулярна взаємодія цих полярних органічних сполук із водою та іншими водорозчинними атмосферними компонентами сприяє формуванню в атмосфері вторинних органічних аерозолів, які характеризуються біологічною активністю.

Розроблена ГХ/МС методика для вивчення органічних полярних біологічно активних молекул та їх нековалентних комплексів у складі частинок атмосферних аерозолів має значні перспективи подальшого практичного використання для пошуку молекулярних маркерів біологічно та кліматично важливих молекулярно-фізичних процесів у довкіллі з метою прогнозування впливу атмосферних аерозолів на рослинність, здоров'я людей і тварин та стан біосфери в цілому.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено актуальну проблему молекулярної біофізики для досліджених біологічно активних речовин (представників ряду груп ліків, а також низки органічних сполук із довкілля), що полягає у визначенні молекулярно-фізичних механізмів біологічно значущих процесів за участю цих речовин шляхом аналізу мас-спектрометричних маркерів цих біологічно активних сполук та їхніх міжмолекулярних нековалентних комплексів із біомолекулами та з компонентами оточуючого середовища.

На основі отриманих результатів зроблено наступні головні висновки:

1. Уперше в модельних системах *in vitro* визначені мас-спектрометричні маркери формування стабільних нековалентних комплексів молекул протималарійних препаратів артемізинінового ряду та хініну з їхньою потенційною молекулярною мішенню – Fe(III)-гемом. Експериментально оцінена стабільність таких комплексів та знайдено, що дигідроартемізинін (активний метаболіт артемізинінових похідних *in vivo*) єдиний з досліджених агентів формує високостабільний комплекс із гемом, в якому протон заміщений на іон  $\text{Na}^+$ . Нековалентне комплексоутворення препаратів артемізинінового ряду з гемом запропоновано в якості молекулярно-фізичного механізму, пов'язаного з протималарійною активністю цих ліків.
2. Уперше експериментально показано формування в полярному середовищі стабільних нековалентних асоціатів молекул артемізиніну та дигідроартемізиніну з азотистими основами нуклеїнових кислот (аденіном, цитозином та метилтиміном) за рахунок водневих зв'язків та сил Ван-дер-Ваальса. Утворення таких асоціатів, які можуть обмежувати функціональну активність ДНК та РНК пухлинних клітин, запропоновано в якості молекулярно-фізичної основи показаної в клінічних дослідженнях протипухлинної дії артемізинінових препаратів.
3. У рамках вивчення *in vitro* міжмолекулярної взаємодії протівірусного агенту тилорон із нуклеозидами (аденозином, уридином, та тимідином) вперше

встановлено вибіркоче комплексоутворення тилорону з уридином, що пропонується в якості молекулярно-фізичного механізму, який визначає противірусну активність агенту. Отримані результати вказують на РНК як найбільш ймовірну біомолекулу-мішень противірусної дії тилорону, а уридин розглядається як потенційний центр зв'язування препарату з РНК.

4. Уперше експериментально показано утворення в розчині стабільних нековалентних комплексів молекул антибіотика циклосерин із потенційною біомолекулою-мішенню – N-ацетил-D-глюкозаміном, що запропоновано розглядати в якості молекулярно-фізичної складової процесу пригнічення формування клітинної стінки бактерій, пов'язаного з протибактеріальною дією препарату.
5. Уперше в рамках *in vitro* вивчення молекулярно-фізичних механізмів дії винайденого в Україні кардіопротекторного агенту флокалін (що є активатором АТФ-чутливих калієвих мембранних каналів) експериментально визначено селективне формування нековалентних комплексів флокаліну з протонуваними амінокислотами лізин та треонін. Стабільність комплексів за даними квантово-механічних розрахунків забезпечується переважно електростатичними взаємодіями між протонуваними аміногрупами цих амінокислот та азотом нітрильної групи флокаліну. Нековалентне комплексоутворення між флокаліном та залишками лізину та треоніну в складі регуляторних субодиниць (рецепторів сульфонілсечовини) АТФ-чутливих калієвих мембранних каналів пропонується в якості молекулярно-фізичного механізму, що визначає дію лікарського агенту на ці канали.
6. Базуючись на результатах комплексного експериментально-теоретичного дослідження, виявлено явище міжмолекулярної конкуренції між протималарійними препаратами артемізинінового ряду та лікарськими агентами аспірин і вітамін С за нековалентне зв'язування з мембранними фосфоліпідами (на прикладі дипальмітоїлфосфатидилхоліну). Також показано формування стабільних парних асоціатів між молекулами цих препаратів різних груп у модельних системах *in vitro*. Визначені конкурентні процеси нековалентного комплексоутворення вперше запропоновано в якості молекулярно-фізичних механізмів ймовірної модифікації функціональної активності артемізинінових агентів при їхньому одночасному застосуванні з аспірином (або вітаміном С) вже на стадії проникнення ліків через клітинні мембрани.
7. Уперше експериментально показано формування стабільних асоціатів дикатіонів протиінфекційних бісчетвертинних амонієвих сполук (декаметоксин, етоній та

тіоній) із молекулами аспірину та конкуренцію лікарських сполук різних груп за зв'язування з дипальмітоїлфосфатидилхоліном у полярному середовищі. Виявлено, що нековалентні комплекси з аспірином *in vitro* формує також антибіотик циклосерин. Встановлені міжмолекулярні процеси комплексоутворення запропоновано розглядати як молекулярні механізми ймовірної зміни активності досліджених протиінфекційних ліків та аспірину при одночасному використанні.

8. Уперше ідентифіковано мас-спектрометричні маркери молекулярно-структурної стабільності протиінфекційних агентів декаметоксин та етоній в умовах мас-спектрометричного експерименту з ІЕР та МАЛДІ. Показана роль взаємодії з іонами сольватного оточення для збереження структурної стабільності дикатіонів цих сполук та їхньої функціональної активності.
9. Уперше розрахунковим методом визначено структуру гідратного комплексу дикатіону декаметоксину з 36 молекулами води, що моделює першу гідратну оболонку дикатіону цієї лікарської речовини. Встановлено, що структура дикатіону в гідратному оточенні близька до його найбільш енергетично вигідної структури у вакуумному наближенні та відповідає витягнутій конформації вуглеводневого ланцюга між четвертинними азотами декаметоксину.
10. Оптимізовано методику мас-спектрометрії з ІЕР задля ефективної реєстрації мас-спектрометричних маркерів формування високомолекулярних нековалентних комплексів протиінфекційних бісчвертинних амонієвих сполук та рамноліпідів з мембранними фосфоліпідами. Цю методику рекомендовано для практичного використання з метою скринінгу нових потенційних лікарських сполук серед четвертинних амонієвих агентів та інших речовин, протибактеріальна дія яких пов'язана з мембранотропним ефектом.
11. Уперше розроблено та апробовано методику на основі методу ГХ/МС для визначення в частинках атмосферних аерозолів органічної сполуки левоглюкозан та ряду інших моносахаридних ангідридів, які завдяки їхнім міжмолекулярним взаємодіям із водою та іншими полярними молекулами відіграють важливу роль у молекулярно-фізичних процесах в довкіллі. При розробці методики визначено мас-спектрометричний маркер (характеристичний пік) левоглюкозану та споріднених сполук.
12. Застосування ГХ/МС методики для досліджень зразків атмосферних аерозолів, зібраних у рамках масштабних міжнародних біосферних експериментів LBA-CLAIRE та LBA-SMOCC, дозволило комплексно проаналізувати особливості молекулярного складу та міжмолекулярні взаємодії

водорозчинних органічних компонентів аерозолів та вперше ідентифікувати в складі аерозольних частинок органічні полярні сполуки 2-метилтреїол та 2-метилеритритол. Показана роль цих поліолів як центрів агрегації молекул води та формування частинок вторинних органічних аерозолів, які значно впливають на біосферні процеси та здоров'я людей.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні наукові результати дисертації опубліковано в 22 статтях у провідних фахових наукових виданнях [1-22]: включаючи видання, що віднесені до першого і другого квартилів (Q1 і Q2) - 12 статей, до третього квартилю (Q3) - 4 статті відповідно до класифікації SCImago Journal & Country Rank; у наукових періодичних виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України - 5 статей; та у закордонних фахових наукових виданнях - 1 стаття. Результати також представлено в наукових працях, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації на міжнародних наукових конференціях [23-45].

### Статті, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

1. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Van den Heuvel H., Claeys M. Characterization of noncovalent complexes of antimalarial agents of the artemisinin type and Fe(III)-heme by electrospray ionization mass spectrometry and collisional activation tandem mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2004. Vol. 15. P. 1181-1190. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2004.04.030> [Q1]
2. Pashynska V. A. Mass spectrometric study of intermolecular interactions between the artemisinin-type agents and nucleobases. *Біофізичний вісник.* 2009. Т. 22(1). С. 20-28.
3. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Van den Heuvel H., Cuyckens F., Claeys M. Study of non-covalent complexes formation between the bisquaternary ammonium antimicrobial agent decamethoxinum and membrane phospholipids by electrospray ionization and collision-induced dissociation mass spectrometry. *Вісник харківського національного університету ім. Каразіна №637. Біофізичний вісник.* 2004. Т. 1-2 (14). С. 123-130.
4. Pashynska V., Kosevich M., Stepanian S., Adamowicz L. Noncovalent complexes of tetramethylammonium with chlorine anion and 2,5-dihydroxybenzoic acid as models of the interaction of quaternary ammonium biologically active compounds with their molecular targets. A theoretical study. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* . 2007. Vol. 815. P.55-62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2007.03.019> [Q2]
5. Pashynska V., Boryak O., Kosevich M., Stepanian S., Adamowicz L. Competition between counterions and active protein sites to bind bisquaternary ammonium groups. A combined mass spectrometry and quantum chemistry model study. *Eur. Phys. J. D.* 2010. Vol. 58. P.287-296. DOI: <https://doi.org/10.1140/epjd/e2010-00125-5> [Q2]
6. Pashynska V. A. Mass spectrometric study of rhamnolipid biosurfactants and their interactions with cell membrane phospholipids. *Biopolymers and Cell.* 2009. Vol. 25, N 6. P. 504-508. DOI: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.0007FE> [Q3]
7. Pashynska V. A., Zholobak N. M., Kosevich M. V., Gomory A., Holubiev P. K., Marynin A. I. Study of intermolecular interactions of antiviral agent tilorone with RNA and nucleosides. *Біофізичний вісник.* 2018. Т. 39(1). С. 15-26. DOI: <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2018-39-02>
8. Pashynska V., Stepanian S., Gomory A., Vekey K., Adamowicz L. New cardioprotective agent flokalin and its supramolecular complexes with target amino acids: An integrated mass-spectrometry and quantum-chemical study. *J. Mol. Struc.* 2017. Vol. 1146. P. 441-449. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.06.007> [Q3]



9. Pashynska V., Stepanian S., Gomory A., Vekey K., Adamowicz L. Competing intermolecular interactions of artemisinin-type agents and aspirin with membrane phospholipids: Combined model mass spectrometry and quantum-chemical study. *Chem. Phys.* 2015. Vol. 455. P. 81-87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2015.04.014> [Q2]
10. Pashynska V., Stepanian S., Gömöry Á., Adamowicz L. What are molecular effects of co-administering vitamin C with artemisinin-type antimalarials? A model mass spectrometry and quantum chemical study. *J. Mol. Struct.* 2021. Vol. 1232. P. 130039. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130039> [Q2]
11. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Gomory A., Vekey K. Model mass spectrometric study of competitive interactions of antimicrobial bisquaternary ammonium drugs and aspirin with membrane phospholipids. *Biopolymers and Cell.* 2013. Vol. 29(2). P. 157-162. DOI: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000814> [Q3]
12. Kasian N. A., Pashynska V. A., Vashchenko O. V., Krasnikova A. O., Gomory A., Kosevich M. V., Lisetski L. N. Probing of the combined effect of bisquaternary ammonium antimicrobial agents and acetylsalicylic acid on model phospholipid membranes: differential scanning calorimetry and mass spectrometry studies. *Molecular BioSystems.* 2014. Vol.10. P. 3155-3162. DOI: [10.1039/c4mb00420e](https://doi.org/10.1039/c4mb00420e) [Q1]
13. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Gomory A. Mass spectrometry study of noncovalent complexes formation of antibiotic cycloserine with N-acetyl-D-glucosamine and ascorbic acid. *Біофізичний вісник.* 2020. Vol. 43. P. 103-110. DOI: <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2020-43-11>
14. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Van den Heuvel H., Claeys M. The effect of cone voltage on electrospray mass spectra of the bisquaternary ammonium salt decamethoxinum. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2006. Vol. 20(5). P. 755-763. [Q1]
15. Паши́нская В. А., Ко́севич М. В., Степа́нъян С. Г. Квантовомеханическое исследование структуры гидратированного бисчетвертичного аммониевого соединения декаметоксина. *Вісн. Харк. Ун-ту N 49. Біофізичний вісник.* 2000. Т. 2(7). С. 29-34.
16. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Gomory A., Vekey K., Claeys M., Chagovets V. V., Pokrovskiy V. A. Variable Electrospray Ionization and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectra of the Bisquaternary Ammonium Salt Ethonium. *Mass Spectrometry & Purification Techniques.* 2015. Vol. 1:103. P. 1-9. DOI: [10.4172/2469-9861.1000103](https://doi.org/10.4172/2469-9861.1000103)
17. Kosevich M. V., Boryak O. A., Chagovets V. V., Pashynska V. A., Orlov V. V., Stepanian S. G., Shelkovsky V. S. "Wet chemistry" and crystallochemistry reasons for acidic matrix suppression by quaternary ammonium salts under matrix-assisted laser desorption/ionization conditions. *Rapid Commun. Mass Spectr.* 2007. Vol. 21(11). P. 1813-1819. DOI: <https://doi.org/10.1002/rcm.3020> [Q1]
18. Vashchenko O. V., Pashynska V. A., Kosevich M. V., Panikarskaya V. D., Lisetski L. N. Modulation of bisquaternary ammonium agents affect on model biomembranes by complex formation with an organic anion. *Biopolymers and Cell.* 2010. Vol. 26, N 6. P. 472-477. DOI: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000176> [Q3]
19. Pashynska V., Vermeulen R., Vas G., Maenhaut W., Claeys M. Development of a gas chromatography/ion trap mass spectrometry method for determination of levoglucosan and saccharidic compounds in atmospheric aerosols. Application to urban aerosols. *J. Mass Spectrom.* 2002. Vol. 37. P.1249-1257. DOI: <https://doi.org/10.1002/jms.391> [Q1]
20. Claeys M., Graham B., Vas G., Wang W., Vermeulen R., Pashynska V., Cafmeyer J., Guyon P., Andreae M., Artaxo P., Maenhaut W. Formation of secondary organic aerosols through photooxidation of isoprene. *Science.* 2004. Vol. 303. P. 1173-1176. DOI: [10.1126/science.1092805](https://doi.org/10.1126/science.1092805) [Q1]
21. Decesari S., Fuzzi S., Facchini M.C., Mircea M., Emblico L., Cavalli F., Maenhaut W., Chi X., Schkolnik G., Falkovich A., Rudich Y., Claeys M., Pashynska V., Vas G., Kourchev I., Vermeulen R., Hoffer A., Andreae M.O., Tagliavini E., Moretti F., Artaxo P. Characterization of the organic composition of aerosols from Rondônia, Brazil, during the LBA-SMOCC 2002 experiment and its

representation through model compounds. *Atmos. Chem. Phys.* 2006. Vol. 6. P. 375-402. DOI: <https://doi.org/10.5194/acp-6-375-2006> [Q1]

22. Claeys M., Kourtshev I., Pashynska V., Vas G., Vermeylen R., Wang W., Cafmeyer J., Chi X., Artaxo P., Andreao M.O., Maenhaut W. Polar organic marker compounds in atmospheric aerosols during the LBA-SMOCC 2002 biomass burning experiment in Rondônia, Brasil: sources and source processes, time series, diel variations and size distributions. *Atmos. Chem. Phys.* 2010. Vol.10. P. 9319-9331. DOI: <https://doi.org/10.5194/acp-10-9319-2010> [Q1]

### Тези наукових доповідей

23. Pashynska V. A. Mass spectrometric markers of modulation effects on molecular level under drugs co-administering: development of mass spectrometry approach to nanobiocomplexes study. *7-th International Conference Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects: Conference Program and Book of Abstracts*, Kharkiv, Ukraine, October 4-8, 2021. Kharkiv, 2021. P. 75.
24. Pashynska V., Stepanian S., Kosevich M., Gomory A. Nanobiocomplexes of ascorbic acid with antimalarial or antituberculosis drugs molecules: study of molecular mechanisms of the drugs activity modulation. *6-th International Conference Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects: Book of Abstracts*, Kyiv, Ukraine, October 1-4, 2019. Kyiv, 2019. P. 69.
25. Pashynska V., Kosevich M., Gomory A. Mass spectrometry study of nanobiocomplexes formation between antibiotic cycloserine and N-acetylglucosamine. *XV-th International Conference on Molecular Spectroscopy: "From molecules to molecular materials, biological molecular systems and nanostructures"*: Programme. Abstracts. List of authors, Wroclaw-Wojanow, Poland, September 15-19, 2019. Wroclaw-Wojanow, 2019. P. 128.
26. Pashynska V., Stepanian S., Kosevich M., Gomory A., Vekey K. Model mass spectrometry and quantum chemical study of antimalarial artemisinin-type agents interactions with ascorbic acid and membrane phospholipids. *37-th Informal Meeting on Mass Spectrometry: Book of abstracts and program*, Fiera di Primiero, Italy, 5-8 May 2019. Fiera di Primiero, 2019. P. 96-97.
27. Pashynska V., Kosevich M., Gomory A., Vekey K. Mechanistic study of noncovalent complexes of antiviral and antibacterial agents with targeting biomolecules by electrospray ionization mass spectrometry. *36-th Informal Meeting on Mass Spectrometry: Book of abstracts and program*, Koszeg, Hungary, 6-9 May, 2018. Koszeg, 2018. P. 75.
28. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Gomory A., Vekey K., Zholobak N. M. Mechanistic study of nanobiocomplexes of antiviral agent tilorone with nucleosides by electrospray ionization mass spectrometry. *5-th International Conference Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects: Book of Abstracts*, Kharkiv, Ukraine, October 2-5, 2017. Kharkiv, 2017. P. 90.
29. Pashynska V., Kosevich M., Stepanian S., Gomory A., Vekey K. Mechanistic model study of intermolecular interactions of cardioprotector flokalin and amino acids by electrospray ionization mass spectrometry and quantum chemical calculations. *34-th Informal Meeting on Mass Spectrometry: Book of Abstracts*, Fiera di Primiera, Italy, 15-18 May, 2016. Fiera di Primiera, 2016. P. 130.
30. Pashynska V., Stepanian S., Kosevich M., Gomory A., Vekey K. Combined model mass spectrometric and quantum chemical study of arthemisinin-type agents and aspirin interactions with membrane phospholipids. *33-rd Informal Meeting on Mass Spectrometry: Book of Abstracts*, Szczyrk, Poland, 10-13 May, 2015. Szczyrk, 2015. P. 76.
31. Пашинська В. А., Косевич М. В., Гоморі А. Мас-спектрометричне дослідження формування нековалентних комплексів антибіотика циклосерина з N-ацетил-D-глюкозаміном та аскорбіновою кислотою. *VIII з'їзд Українського біофізичного товариства: Матеріали VIII з'їзду Українського біофізичного товариства*, Київ-Луцьк, 12-15 листопада 2019. Київ, 2019. Стор.27.
32. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Gomory A., Vekey K. Mass spectrometry based approach in the study of nanobiocomplexes of chemotherapeutical drugs with the targeting biological molecules. *3-rd International Conference Nanobiophysics: Fundamental and applied Aspects: Book of Abstracts*, Kharkov, Ukraine, October 7-10, 2013. Kharkov, 2013. P. 89.
33. Pashynska V., Kosevich M., Vashchenko O., Lisetski L., Gomory A., Vekey K. Mass spectrometry as an efficient method of revealing the membranotropic antimicrobial drugs activity

- modulation by organic acids. *30-th Informal meeting on mass spectrometry*: Book of abstracts, Olomouc, Czech Republic, 29 April-3 May 2012. Olomouc, 2012. P. 118.
34. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Gomory A. Mass spectrometry sensing of nanoclusters composed of membrane phospholipids and antimicrobial agents . *2-nd Intern. Conf. "Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects"*: Book of Abstracts, Kyiv, Ukraine, 6-9 October 2011. Kyiv, 2011. P. 105.
  35. Pashynska V. Electrospray Mass Spectrometry Study of Rhamnolipid Biosurfactants and Their Interactions with Membrane Phospholipids. *27-th Informal Meeting on mass spectrometry*: Book of Abstracts, Retz, Austria, 3-6 May, 2009. Retz, 2009. P. 36.
  36. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Boryak O. A., Stepanian S. G. Stability of multi-component complexes of tetramethylammonium with biologically significant counterions by the FAB mass spectrometry and quantum chemical data. *26-th Informal Meeting on Mass Spectrometry*: Book of abstracts, Fiera di Primiero, Italy, 4 -8 May 2008. Fiera di Primiero, 2008. P. 123-124.
  37. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Boryak O. A., Stepanian S. G. Model mass spectrometry and quantum chemical study of competition between counterions and active protein sites for a binding of quaternary ammonium groups. *25-th Informal Meeting on Mass Spectrometry*: Book of abstracts, Nyiregyhaza-Sosto, Hungary, 6-10 May 2007. Nyiregyhaza-Sosto, 2007. P. 97.
  38. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Stepanian S. G., Chagovets V. V., Pokrovsky V. A., Osaulenko V. L. Modelling of noncovalent interactions of bisquaternary antimicrobial agents with protein active groups by combined MALDI mass spectrometry and quantum-chemical study. *IV з'їзд Українського біофізичного товариства*: Тези доповідей, Донецьк, Україна, 19-21 грудня 2006. Донецьк, 2006. С. 126-128.
  39. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Van den Heuvel H., Claeys M. Comparative analysis of in-source CID and MS/MS CID under ESI mass spectrometry by the example of the bisquaternary ammonium agent decamethoxinum. *24-th Informal Meeting on Mass Spectrometry*: Book of Abstracts, Uston, Poland, 14-18 May 2006. Uston, 2006. P. 98.
  40. Pashynska V. A., Kosevich M. V., Chagovets V. V., Shelkovsky V. S., Osaulenko V. L., Porkovskiy V. L. Combined MALDI mass spectrometric and quantum chemical study of antimicrobial agent decamethoxinum in 2,5-dihydroxybenzoic acid. *23-rd Informal Meeting on Mass Spectrometry*: Book of Abstracts, Fiera di Primiero, Italy, 15-19 May 2005. Fiera di Primiero, 2005. P. 114-115.
  41. Kosevich M., Pashynska V., Heuvel H., Claeys M. Electrospray mass spectrometry study of the bisquaternary ammonium compound decamethoxinum at different skimmer-nozzle potentials. *21-st Informal Meeting on Mass Spectrometry*: Book of Abstracts, Antwerp, Belgium, 11-15 May, 2003. Antwerp, 2003. P. 107.
  42. Pashynska V., Kosevich M., Heuvel H., Claeys M. Study of formation and characteristics of non-covalent complexes between heme and antimalarial agents of the artemisinin type by electrospray ionization mass spectrometry. *21-st Informal Meeting on Mass Spectrometry*: Book of Abstracts, Antwerp, Belgium, 11-15 May, 2003. Antwerp, 2003. P. 148.
  43. Pashynska V. A., Vashchenko O. V., Kosevich M. V., Boryak O. A., Kasian N. A., Lisetski L. N. Model investigation on combined effect of quaternary ammonium compounds and an organic acid on phospholipids membranes. *V з'їзд Українського біофізичного товариства*: Тези доповідей, Луцьк, 22-25 червня 2011. Луцьк, 2011. Стр.14.
  44. Pashynska V., Vermeulen R., Vas G., Claeys M., Maenhaut W. Development of a gas chromatography/ion trap mass spectrometry method for determination of levoglucosan and related saccharidic compounds in atmospheric aerosols. *20-th Informal Meeting on Mass Spectrometry*: Proceedings of the conference, Primiero, Italy, 12-14 May, 2002, P.103-104.
  45. Pashynska V. ESI and CID mass spectrometry study of non-covalent complexes of a bisquaternary ammonium antimicrobial agent decamethoxinum with a phospholipids dipalmitoylphosphatidylcholine, related to the molecular mechanism of the drug action. *Molecules of Biological Interest in the Gas Phase. Optical Spectroscopy, Mass Spectrometry and Computational Chemistry*: Book of Abstracts, Exeter, United Kingdom, 13-18 April 2004. Exeter, 2004. P.53.