З А Т В Е Р Д Ж У Ю
Директор
ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
чл.-кор. НАН України
д.ф.-м.н., професор
_____ ЮРІЙ НАЙДЮК
« 18 » травня 2023 р.

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів докторської дисертації Пашинської Влади Анатоліївни на тему: «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин», що подається на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика

Витяг з протоколу № 3/2023
від 24 квітня 2023 р.
спільного засідання фахового семінару відділу молекулярної біофізики Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Вєркіна Національної академії наук України та Наукової ради з проблеми «Молекулярна біофізика» Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Вєркіна Національної академії наук України, проведеного відповідно до наказу від 16 березня 2023 р. №18-ОД

Голова - член-кореспондент НАН України, доктор фізико-математичних наук, професор, завідувач відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України, Голова наукової ради з проблеми «Молекулярна біофізика» ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Карачевцев В.О.
(науковий ступінь, вчене звання, посада, прізвище, ініціали)

Секретар - доктор фізико-математичних наук, старший науковий співробітник відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Гламазда О.Ю.
(науковий ступінь. вчене звання, посада, прізвище, ініціали)

Присутні:

1. Карачевцев В.О., член-кореспондент НАН України, доктор фіз.-мат. наук,

професор, завідувач відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України

2. Косевич М.В., доктор фіз.-мат наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
3. Степаньян С.Г., доктор фіз.-мат наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
4. Долбин О.В., доктор фіз.-мат наук, професор, заступник директора з наукової роботи ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
5. Камарчук Г.В., доктор фіз.-мат наук, професор, завідувач відділу спектроскопії молекулярних систем і наноструктурних матеріалів ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
6. Савченко О.В., доктор фіз.-мат наук, професор, провідний науковий співробітник відділу спектроскопії молекулярних систем і наноструктурних матеріалів ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
7. Гламазда О.Ю., доктор фіз.-мат. наук, старший науковий співробітник відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
8. Шестопалова Г.В., доктор фіз.-мат наук, професор, завідувач відділу біологічної фізики Інституту радіофізики та електроніки ім. О.Я. Усикова НАН України
9. Довбешко Г.І., доктор фіз.-мат наук, професор, завідувач відділу фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України
10. Гнатюк О.П., доктор фіз.-мат наук, провідний науковий співробітник відділу фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України
11. Трусова В.М., доктор фіз.-мат наук, доцент, член-кор. НАН України, завідувач кафедри медичної фізики та біомедичних нанотехнологій Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна
12. Горбенко Г.І., доктор фіз.-мат наук, професор, професор кафедри медичної фізики та біомедичних нанотехнологій Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна
13. Берест В.П., доктор фіз.-мат наук, доцент, завідувач кафедри молекулярної і медичної біофізики Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна
14. Єфімова С.Л., доктор фіз.-мат наук, професор, член-кор. НАН України, завідувач відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України
15. Лисецький Л.М., доктор фіз.-мат наук, професор, провідний науковий співробітник відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна

Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України

16. Ващенко О.В., доктор фіз.-мат наук, провідний науковий співробітник відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України
17. Семінько В.В., доктор фіз.-мат наук, старший дослідник, завідувач відділу «Лабораторія наноструктурних органічних матеріалів» Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України
18. Жолос О.В., доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри біофізики, ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Т.Г. Шевченка
19. Максимчук П.О., канд. фіз.-мат. наук, старший дослідник, старший науковий співробітник відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України
20. Шелковський В.С., канд. фіз.-мат. наук, старший науковий співробітник, старший науковий співробітник відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
21. Рязанова О.А., канд. фіз.-мат. наук, науковий співробітник відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
22. Зобніна В.Г., канд. фіз.-мат. наук, науковий співробітник відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
23. Карачевцев М.В., канд. фіз.-мат. наук, старший науковий співробітник відділу теоретичної фізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
24. Курносов М.В., канд. фіз.-мат. наук, науковий співробітник відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
25. Боряк О.А., молодший науковий співробітник відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України
26. Піддубний Т. Ю., аспірант відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України

Всього:
докторів наук – 18, кандидатів наук – 6, без наукового ступеня – 2;
у тому числі фахівців, які мають науковий ступінь з відповідної галузі науки (фізико-математичні науки) та/або спеціальності (03.00.02. біофізика) або вчене звання за відповідною спеціальністю (03.00.02. біофізика), та/або наукові публікації з наукового напряму, за яким підготовлено докторську дисертацію здобувача: доктори наук – 18, кандидатів наук – 6, без наукового ступеня – 2.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Апробація та обговорення дисертації здобувача наукового ступеня доктора наук

кандидата фізико-математичних наук (за спеціальністю 03.00.02), старшого наукового співробітника, старшого наукового співробітника відділу молекулярної біофізики Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Вєркіна Національної академії наук України

Пашинської Влади Анатоліївни

(прізвище, ім'я, по батькові здобувача)

«Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин»,

(назва дисертації)

що подається на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика за галуззю наук «фізико-математичні науки».

Робота виконувалася у відділі молекулярної біофізики Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Вєркіна Національної академії наук України, а також в рамках роботи Пашинської В.А. в якості запрошеного дослідника (за рекомендацією ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України) в Університеті міста Антверпен (Бельгія) в період з 01.10.2001 р. по 30.09.2003 р. Дисертація підготовлена самостійно, без проходження підготовки у докторантурі, тож науковий консультант не призначався.

Тему дисертації затверджено 15 березня 2023 р. на засіданні Вченої ради Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б. І. Вєркіна Національної академії наук України, протокол №2.

СЛУХАЛИ:

Доповідь здобувача – кандидата фізико-математичних наук, старшого наукового співробітника, старшого наукового співробітника відділу молекулярної біофізики Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Вєркіна Національної академії наук України Пашинської Влади Анатоліївни на тему:

«Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» з викладенням основних положень дисертації.

До доповіді було задано 11 запитань, на які доповідачка дала переконливі та ґрунтовні відповіді. Питання задавали:

- доктор фіз.-мат наук, професор, член-кор. НАН України, завідувач відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна Інституту

сцинтиляційних матеріалів НАН України Єфімова С.Л.,

- доктор фіз.-мат наук, професор, член-кор. НАН України, завідувач відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Карачевцев В.О.,
- доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри біофізики, ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Т.Г. Шевченка Жолос О.В.,
- доктор фіз.-мат наук, професор, завідувач відділу фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України Довбешко Г.І.,
- доктор фіз.-мат наук, провідний науковий співробітник відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України Ващенко О.В.

ВИСТУПИЛИ:

Рецензенти:

1. Доктор фіз.-мат наук, професор, заступник директора з наукової роботи ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Долбин О.В.

ступінь, вчене звання, посада, прізвище, ініціали)

надав високу позитивну оцінку дисертації Пашинської В.А. «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин», зазначивши, що робота присвячена актуальній проблемі сучасних біофізичних досліджень, що полягає в пошуку молекулярних механізмів та фізичних основ процесів, які відбуваються за участю біологічно активних речовин (зокрема, ліків або компонентів довкілля) та відповідає паспорту спеціальності 03.00.02 – біофізика (фізико-математичні науки). Переважна більшість наукових результатів дисертації є новими та оригінальними, а застосування комплексу експериментальних мас-спектрометричних методик та теоретичних квантово-механічних розрахунків дозволило отримати достовірні та добре обґрунтовані висновки досліджень, які мають як теоретичне, так і практичне значення. Методологічний підхід, застосований в дисертаційній роботі, що полягає в визначенні спектральних маркерів (отриманих методом мас-спектрометрії) біофізичних процесів взаємодії лікарських сполук з біомолекулами-мішенями та молекулами оточення, є сучасним та таким, що відповідає вимогам наукової новизни. Наукове значення отриманих в ході дисертаційних досліджень результатів підтверджується тим, що вони опубліковані у 22 статтях у провідних фахових наукових виданнях: з них більшість – 16 статей опубліковано в виданнях, що проіндексовані у базах даних Web of Science Core Collection та Scopus (з них 12 робіт – у виданнях, що віднесені до перших двох квартилів за класифікацією

SCImago Journal and Country Rank, таких як Science, Rapid Communication in Mass Spectrometry, Journal of Molecular Structure та інших).

При безумовній загальній позитивній оцінці дисертаційної роботи Пашинської В.А., до тексту роботи є декілька зауважень, переважна кількість яких має редакційний характер.

Зауваження:

1. Назву розділу 2, яка має вигляд: «Мас-спектрометричні маркери молекулярно-фізичних процесів, які змінюють дію біологічно активних агентів: встановлення молекулярних механізмів модуляції активності лікарських речовин різних груп при їх одночасному застосуванні» доцільно було б скоротити.
2. Рекомендується скоротити та узагальнити текст висновків роботи, наприклад, висновку 1.

Відповіді:

Здобувач подякувала проф. Долбину О.В. за ґрунтовне вивчення матеріалів дисертаційної роботи та надані зауваження. Висновки дисертації, можливо, дійсно є трохи розлогими, бо текст висновків дисертантка намагалася зробити самодостатнім для розуміння основних положень дисертації, що виносяться на захист. Формулювання висновків та назв розділів буде ще раз ретельно проаналізовано та відредаговано з метою узагальнення та скорочення, керуючись рекомендаціями поважного рецензента.

Висновок рецензента:

Дисертаційна робота Пашинської Влади Анатоліївни «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» повністю відповідає паспорту наукової спеціальності 03.00.02 – біофізика, та вимогам пп. 6, 7, 8, 9 Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 р. № 1197 стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук, і може бути представлена для офіційного захисту в галузі фізико-математичні науки до спеціалізованої вченої ради відповідної спеціальності.

2. Доктор фіз.-мат наук, професор, провідний науковий співробітник відділу спектроскопії молекулярних систем і наноструктурних матеріалів ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Савченко О. В.

(науковий ступінь, вчене звання, посада, прізвище, ініціали)

надала високу позитивну оцінку дисертації Пашинської В.А. «Мас-

спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» та відзначила, що актуальність теми цієї дисертації не викликає сумніву, оскільки визначення молекулярно-фізичних механізмів дії біологічно активних агентів, включаючи ліки та компоненти довкілля, на живі системи не тільки дозволяє встановлювати фундаментальні фізичні основи біологічних процесів, а й надає наукові знання, що можуть скласти підґрунтя практичного вирішення ряду глобальних викликів сучасності (серед яких: пошук нових ефективних ліків, подолання екологічних проблем, та ін.). Робота Пашинської тісно пов'язана з науковими програмами та темами діяльності ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України, бо виконувалась або безпосередньо у відповідності з планами наукової діяльності відділу молекулярної біофізики ФТІНТ, або в рамках міжнародних академічних проектів інституту. Сформульовані дисертанткою наукові висновки та рекомендації є добре обґрунтованими, оскільки базуються на експериментальних та теоретичних даних, отриманих за допомогою потужного фізичного методу мас-спектрометрії на передовому обладнанні та з застосуванням сучасних квантово-механічних методів та комп'ютерних технологій, а окремі положення були підтверджені співавторами досліджень з використанням інших фізичних методів. Результати дисертаційної роботи є оригінальними і новими, вони були надруковані в високорейтингових спеціалізованих наукових виданнях, де пройшли ретельне незалежне рецензування. Отримані в дисертації дані мають суттєве наукове (теоретичне та практичне) значення, що підтверджується високим рівнем цитування певних робіт Пашинської В.А. Так, стаття в журналі Science, де здобувач є співавтором, має назагал більше 1540 цитувань, активно цитуються і інші публікації, в яких висвітлено результати дисертаційної роботи. З розгляду дисертації Пашинської чітко вимальовується практична значущість роботи для таких важливих суміжних до молекулярної біофізики галузей, як медицина в різноманітних її аспектах та екологія.

Високо оцінюючи дисертаційне дослідження Пашинської В.А, рецензент окреслила деякі дискусійні моменти та висловила наступні зауваження та рекомендації:

Зауваження:

1. Доцільно було б докладніше обговорити відмінність маркерів структурної стабільності етонію, отриманих методом МАЛДІ (з застосуванням матриці 2,5-дигідроксибензойної кислоти) та методом мас-спектрометрії з ІЕР, зокрема вплив умов іонізації на спектральні характеристики.
2. Оскільки при іонізації можуть утворюватися частинки (іони та молекули) у збуджених станах, цікаво було б у майбутньому дослідити їх роль у

міжмолекулярній взаємодії та біохімічних реакціях із додатковим застосуванням методів оптичної спектроскопії.

Відповіді:

1. Здобувач щиро подякувала проф. Савченко О.В. за уважне вивчення роботи, за надані зауваження та поради. Пашинська В.А., зокрема, вдячна рецензенту за увагу саме до досліджень, в яких вивчено маркери структурної стабільності дикатіонів бісчетвертинних амонієвих агентів (етонію, та ін.), які отримані сучасними методами м'якоіонізаційної мас-спектрометрії з МАЛДІ та ІЕР. Ці дані є, безумовно, цікавими не тільки з точки зору оцінки стабільності молекулярної структури, яка необхідна для забезпечення функціональної активності цих протиінфекційних агентів, а й з методичної точки зору, зокрема, для порівняння умов іонізації в м'якоіонізаційних мас-спектрометричних методах, що широко застосовуються в біофізичних та біомедичних дослідженнях. Разом з цим, виходячи з окресленої тематики та поставленої мети дисертаційної роботи, в доповіді та в висновках дисертації більше уваги приділено саме біофізичним аспектам отриманих мас-спектрометричних даних щодо структурної стабільності дикатіонів бісчетвертинних амонієвих сполук, тоді як детальне порівняння умов іонізації різних м'якоіонізаційних мас-спектрометричних методик при дослідженні біологічно активних агентів може стати темою окремого наступного дослідження.
2. Здобувач подякувала за надану рекомендацію рецензента та зазначила, що визначення ролі біологічно активних частинок у збуджених станах у міжмолекулярних взаємодіях та реакціях є надзвичайно важливим, потребує ретельної уваги та окремого дослідження, яке виходить за рамки даної дисертаційної роботи, та може бути заплановане на майбутнє у співпраці з колегами ФТІНТ з застосуванням методів оптичної спектроскопії.

Висновок рецензента:

Дисертаційна робота Пашинської Влади Анатоліївни «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» повністю відповідає паспорту наукової спеціальності 03.00.02 – біофізика, та вимогам пп. 6, 7, 8, 9 Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 р. № 1197 стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук, і може бути представлена для офіційного захисту в галузі фізико-математичні науки до спеціалізованої вченої ради відповідної спеціальності.

3. Доктор фіз.-мат наук, професор, завідувач відділу молекулярних систем і наноструктурних матеріалів ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Камарчук Г.В.

(науковий ступінь, вчене звання, посада, прізвище, ініціали)

надав позитивну оцінку новизни, теоретичної та практичної цінності результатів дисертації Пашинської В.А. «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» та зазначив, що тема докторської дисертації, яка присвячена встановленню молекулярно-фізичних механізмів, що визначають функціональну дію ряду біологічно активних речовин, відповідає сучасним трендам розвитку біофізики та інших природничих наук і є актуальною. Наукові результати дисертації Пашинської В.А. висвітлено в 22 статтях в авторитетних наукових фахових виданнях, що повністю задовольняє вимогам щодо опублікування результатів докторських дисертацій, передбачених наказом Міністерства освіти і науки України №1220 від 23.09.2019 р. «Про опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук». При цьому, більшість цих статей опубліковано в авторитетних наукових журналах, що цитуються в бібліографічних та реферативних базах даних Scopus та Web of Science. Серед 22 публікацій 12 статей вийшли в журналах, віднесених до першого і другого квартилів (Q1 і Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal & Country Rank, а 4 статті – в журналах третього квартилю (Q3). 5 наукових статей надруковано в періодичних виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України, та 1 стаття – в закордонному науковому фаховому виданні формату “open access”. В опублікованих зі співавторами наукових працях за темою дисертаційної роботи особистий внесок здобувача вбачається таким, що свідчить про наукову зрілість та високий професійний рівень дисертантки. В більшості робіт Влада Анатоліївна приймала активну участь в постановці завдань дослідження (або самостійно формулювала основну ідею та завдання дослідження), самостійно або в співпраці з співавторами планувала експеримент та квантово-механічні розрахунки, особисто отримувала більшість результатів методом мас-спектрометрії, аналізувала отримані дані, приймала активну участь в підготовці (або самостійно готувала) наукові публікації. Відзначено, що отримані в роботі результати мають вагоме теоретичне та практичне значення та є оригінальними. Зокрема, вони поглиблюють сучасні фундаментальні знання про фізичні механізми процесів за участю біологічно активних сполук в живих системах та вказують на важливість врахування фізичних нековалентних взаємодій при розгляді складних біологічних процесів, включаючи дію лікарських сполук на організм

людини. Перевагою дисертації Пашинської В.А., безумовно, є те, що базуючись на отриманих результатах, здобувачка дає в роботі важливі практичні рекомендації. Особисто рецензента, як науковця, що активно працює в галузі застосування квантових точково-контактних наносенсорів для біомедичної діагностики шляхом аналізу газу, що видихається людиною, зацікавили дані Пашинської щодо молекулярного складу та міжмолекулярних взаємодій органічних компонентів частинок атмосферних аерозолів. Аналіз результатів здобувача показує, що органічні сполуки з довкілля можуть взаємодіяти зі складовими газу, що видихається людиною, та спричиняти похибку в діагностиці із застосуванням вищеозначеної методики.

Відзначивши загальну високу оцінку результатів дисертаційної роботи здобувачки, рецензент надав наступні зауваження та рекомендації.

Зауваження:

1. Текст висновків дисертаційної роботи було б варто скоротити. Для підкреслення новизни отриманих результатів рекомендовано починати всі відповідні пункти висновків зі слова «вперше». Скорочення тексту деяких висновків дисертації, на погляд рецензента, полегшить сприйняття основних результатів та підкреслить їх новизну.
2. Для подальшого розвитку досліджень за тематикою роботи рецензент рекомендує здобувачу в майбутньому продовжити дослідження міжмолекулярних взаємодій визначених в роботі органічних компонентів аерозолів довкілля (левоглюкозан, моносахаридні ангідриди, поліоли) з біомолекулами (наприклад мембранними фосфоліпідами), користуючись тими самими експериментальними та теоретичними підходами, які застосовувались в дисертації при вивченні взаємодій лікарських речовин з фосфоліпідами.

Відповіді:

1. Здобувач щиро подякувала проф. Камарчуку Г.В. за високу оцінку проведених в роботі досліджень, за глибоке вивчення матеріалів дисертації та надані зауваження. Здобувач в цілому згодна з аргументами рецензента та порадами скоротити та узагальнити текст висновків, що буде зроблено, керуючись необхідністю зберегти баланс між лаконічністю тексту та забезпеченням наукової інформативності висновків.
2. Здобувач подякувала рецензенту за надані рекомендації щодо подальшого продовження досліджень в напрямках, що окреслені в дисертації, та повідомила, що дослідження взаємодій органічних компонентів аерозолів з біомолекулами вже ведуться здобувачем та будуть продовжені в майбутньому.

Висновок рецензента:
Дисертаційна робота Пашинської Влади Анатоліївни «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» повністю відповідає паспорту наукової спеціальності 03.00.02 – біофізика, та вимогам пп. 6, 7, 8, 9 Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 р. № 1197 стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук, і може бути представлена для офіційного захисту в галузі фізико-математичні науки до спеціалізованої вченої ради відповідної спеціальності.

В обговоренні дисертації взяли участь фахівці:

- доктор фіз.-мат наук, професор, завідувач відділу фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України Довбешко Г.І.,
- доктор фіз.-мат наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Косевич М.В.,
- доктор фіз.-мат наук, професор, член-кор. НАН України, завідувач відділу молекулярної біофізики ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Карачевцев В.О.,

які зазначили, що дисертаційна робота Пашинської В.А. є кваліфікаційною науковою працею, що характеризується єдністю змісту, має встановлену вимогами структуру; містить наукові положення, що мають наукову новизну, істотне теоретичне та практичне наукове значення в галузі молекулярної біофізики та споріднених наукових галузях, а зміст роботи відповідає паспорту спеціальності 03.00.02 – біофізика (фізико-математичних наук). Застосований в роботі методичний підхід визначення мас-спектрометричних маркерів біологічно значущих міжмолекулярних взаємодій біологічно активних молекул і ліків з біомолекулами та їх компонентами є новітнім в галузі використання мас-спектрометрії для біофізичних досліджень. Використання сучасних мас-спектрометричних методик у поєднанні з квантово-механічними розрахунками дозволило всебічно охарактеризувати модельні системи, що досліджувались в роботі, та зробити обґрунтовані висновки. Серед порад фахівців здобувачу було вказано на доцільність обговорити в доповіді точність модельних квантово-механічних розрахунків енергії взаємодії в нековалентних комплексах лікарських молекул з молекулярними мішенями. Виступаючі дали високу позитивну оцінку дисертаційній роботі, відмітили її актуальність та вагомий особистий внесок здобувача в проведені експериментальні та теоретичні дослідження, аргументованість висновків, наукову новизну

отриманих результатів та високий потенціал практичної цінності роботи, а також зв'язок роботи з науковими програмами, планами та науково-дослідними роботами, які виконувалися у Фізико-технічному інституті низьких температур ім. Б.І. Вєркіна Національної академії наук України.

На підставі доповіді здобувача, відповідей на запитання учасників фахового семінару, виступів рецензентів та їх висновків, наукової дискусії та обговорення дисертації учасниками фахового семінару відділу молекулярної біофізики Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Вєркіна Національної академії наук України, спільне зібрання та рецензенти дисертації дійшли до наступного висновку:

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації Пашинської Влади Анатоліївни на тему: «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин», що подається на здобуття наукового ступеня доктора фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика

Актуальність теми дисертації

На сучасному етапі розвитку природничих наук, зокрема, наук про життя, включаючи біофізику, велика увага приділяється вивченню проблем, які пов'язані з встановленням молекулярних механізмів важливих біологічних процесів. Саме результати досліджень на молекулярному рівні в XX та XXI століттях зумовили бурхливий розвиток новітніх наукових напрямків (молекулярної біофізики та нанобіофізики, молекулярної медицини, метаболоміки та інших) та технологій, покликаних сприяти пошуку практичних рішень у відповідь на глобальні виклики сучасності (серед яких: подолання нових інфекційних хвороб; боротьба з антибіотикорезистентністю; контроль екологічного забруднення довкілля) та покращити якість життя людей. Особливе місце в сучасних біофізичних дослідженнях займає проблема встановлення молекулярно-фізичних механізмів процесів за участю біологічно активних речовин, зокрема ліків та/або органічних сполук з довкілля. Актуальність вирішення цієї проблеми зумовлена тим фактом, що фізичні процеси на молекулярному рівні, зокрема міжмолекулярні взаємодії ліків, або біологічно активних компонентів довкілля з біомолекулами та молекулами оточуючого середовища, визначають функціональний вплив цих речовин на біологічні системи надмолекулярного рівня організації, тобто на клітини,

органи, живі організми та біосферу в цілому. Знання молекулярно-фізичних механізмів дії біологічно активних речовин складають основу для подальшого розвитку фундаментальних галузей наук про життя, а також є корисними для задоволення потреб прикладних наукових галузей, зокрема, тих, що пов'язані з розробкою ліків або захистом людей та тварин від небезпечного впливу компонентів довкілля. Встановлення закономірностей взаємодій лікарських агентів з молекулами-мішенями дає підґрунтя для спрямованого пошуку нових ефективних ліків та способів лікування, а дані про міжмолекулярні взаємодії біологічно активних агентів атмосферних аерозолів є важливими для прогнозування впливу цих агентів на здоров'я людей та тварин, на біологічно та кліматично важливі біосферні процеси.

Усе вищезазначене свідчить про актуальність теми дисертаційної роботи Пашинської В.А. «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин», яка спрямована на вирішення біофізичної проблеми встановлення молекулярно-фізичних основ біологічно значущих процесів за участю обраних для дослідження біологічно активних речовин. Актуальним та новітнім є методичний підхід з визначення мас-спектрометричних маркерів процесів міжмолекулярної взаємодії біологічно активних молекул з потенційними молекулярними мішенями та молекулами оточуючого середовища, що розвинуто в дисертаційній роботі. Важливими також вбачаються результати дисертаційної роботи щодо розвитку сучасних мас-спектрометричних методик як потужного інструменту вирішення завдань молекулярної біофізики.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Тема дисертаційної роботи Пашинської В.А. повністю відповідає напрямку роботи відділу молекулярної біофізики Фізико-технічного інституту низьких температур ім. Б.І. Вєркіна НАН України, в якому працює здобувач. Дисертаційні дослідження виконувались у відповідності з планами наукової діяльності відділу молекулярної біофізики ФТІНТ 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 ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України) в Університеті міста Антверпен (Бельгія) в період з 01.10.2001 по 30.09.2003.

Особистий внесок здобувача

Особистий внесок здобувача в опубліковані зі співавторами наукові праці за темою дисертаційної роботи (який детально описаний в дисертації та рефераті для кожної роботи, опублікованої зі співавторами) в переважній більшості робіт полягає в формуванні особисто або спільно зі співавторами основної ідеї та завдань дослідження, плануванні (особисто або спільно з співавторами) експериментів, особистому отриманні повного об’єму або частини експериментальних даних методом мас-спектрометрії, в участі в квантово-механічних розрахунках, аналізі та узагальненні отриманих експериментальних і теоретичних результатів (особисто або спільно зі співавторами), в підготовці публікацій до друку (особисто або в співпраці зі співавторами), або в активній участі в підготовці публікацій. Такий особистий

внесок в наукові праці та отримання наукових результатів свідчить про наукову зрілість здобувача Пашинської В.А. та її здатність виконувати дослідження в галузі біофізики на високому професійному рівні. За даними Google Scholar загальна кількість цитувань наукових робіт за співавторством Пашинської В.А. є значною та натепер становить 2444, а її h-index – 13 (h10-index – 17).

Слід зазначити, що майже всі статті, які увійшли до дисертації Влади Анатоліївни, написано англійською мовою. Окремо відзначимо, що експериментальні вимірювання методами мас-спектрометрії в дослідженнях, що проводились в рамках міжнародних проєктів, виконувалися здобувачкою особисто під час наукових відряджень або стажувань за кордоном на передовому мас-спектрометричному обладнанні, яке відсутнє в Україні.

Дисертація, як кваліфікаційна наукова праця, оформлена для наукової доповіді, підготовлена здобувачкою самостійно. Робота містить теоретичні, практичні та методичні положення і висновки, сформульовані дисертанткою особисто. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають відповідні посилання.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації

Висновки, положення та рекомендації, зроблені на підставі отриманих в дисертації результатів, є добре обґрунтованими, оскільки вони сформульовані на основі даних експериментів, що виконані з використанням сучасної високоточної мас-спектрометричної техніки, не суперечать існуючим науковим парадигмам в галузі біофізики (та інших фізико-математичних наук) та результатам інших дослідників, зазнали рецензування на стадії опублікування в авторитетних міжнародних та національних наукових журналах та всебічно обговорені в експертному середовищі. Сформульовані дисертанткою окремі положення та рекомендації, що базуються на даних, отриманих здобувачем особисто з застосуванням експериментального методу мас-спектрометрії, були підтверджені співавторами наукових праць з використанням інших фізичних методів. Наприклад, достовірність представлених результатів щодо формування стабільних нековалентних комплексів бісчетвертинних амонієвих протимікробних агентів з аспірином в полярному розчині було підтверджено колегами-співавторами методом диференційної скануючої калориметрії при дослідженні сумісного введення цих ліків в модельні фосфоліпідні мембрани, що відображено в спільній публікації за темою дисертації. Обґрунтованість та достовірність отриманих в дисертації результатів також зумовлена поєднанням в роботі комплексу

сучасних експериментальних методів мас-спектрометрії (таких як іонізація електророзпиленням, МАЛДІ, метод тандемної мас-спектрометрії та ін.) з теоретичними квантово-механічними методами досліджень: DFT (DFT/B3LYP/6-31++G**, B3LYP/aug-cc-pVDZ), MP2 (MP2/6-31++G**), PCM. Причому дані квантово-механічних розрахунків щодо стабільності нековалентних комплексів досліджених ліків з біомолекулами та їх компонентами підтверджуються отриманими експериментальними мас-спектрометричними даними, та не суперечать наявним в науковій літературі результатам інших дослідників.

Ступінь новизни основних результатів дисертації порівняно з відомими дослідженнями аналогічного характеру

Абсолютна більшість результатів, які отримано в рамках дисертаційної роботи, є оригінальними і новими: вони були надруковані в високорейтингових спеціалізованих наукових виданнях, де пройшли незалежне рецензування та оцінювання новизни на момент друку матеріалів дослідження.

В своїй дисертаційній роботі здобувач Пашинська вперше серед українських мас-спектрометристів використовує методичний підхід визначення мас-спектрометричних маркерів біологічно значущих міжмолекулярних взаємодій для встановлення молекулярно-фізичних механізмів дії ряду біологічно активних агентів та ліків. Підтвердження ефективності такого методичного підходу, а також застосування методу мас-спектрометрії для широкого спектру зразків – від модельних біологічних систем *in vitro* (розчини лікарських сполук та біомолекул) до зразків, отриманих з реальних атмосферних аерозолів, що містили біологічно активні органічні сполуки, вигідно вирізняє роботу Пашинської серед сучасних біофізичних досліджень системністю проведених досліджень.

Новизна основних результатів роботи полягає в наступному:

- Вперше шляхом визначення мас-спектрометричних маркерів формування в умовах *in vitro* стабільних нековалентних комплексів молекул протималярійних агентів артемізинінового ряду з їх потенційною молекулярною мішенню в клітинах – Fe(III)-гемом – запропоновано молекулярно-фізичний механізм, пов’язаний з протималярійною дією цих широковживаних препаратів. Проаналізовано залежність «структура-активність» для досліджених похідних артемізиніну.
- В рамках встановлення молекулярних механізмів показаної в клінічних дослідженнях протипухлинної активності препаратів артемізинінового ряду, вперше експериментально доведено формування стабільних нековалентних

комплексів артемізиніну та дигідроартемізиніну з азотистими основами нуклеїнових кислот: аденіном, цитозином та метилтиміном в полярному середовищі. Формування нековалентних асоціатів між артемізиніновими агентами та азотистими основами в складі нуклеїнових кислот вперше пропонується розглядати як ймовірний фактор блокування функціональної активності ДНК та РНК пухлинних клітин, пов'язаний з протипухлинною дією цих агентів.

- Вперше завдяки застосуванню комплексного підходу, що поєднує експериментальний метод мас-спектрометрії з IEP та розрахунковий метод DFT, *in vitro* встановлено явище міжмолекулярної конкуренції між протималярійними артемізиніновими агентами та молекулами препаратів, що належать до класу органічних кислот (протизапального засобу аспірин або антиоксидантного агенту вітамін С), за нековалентне зв'язування з мембранними фосфоліпідами. Також доведено формування стабільних парних асоціатів між молекулами цих лікарських агентів різних груп в полярному середовищі. Базуючись на отриманих результатах, вперше запропоновано молекулярно-фізичні механізми ймовірної зміни функціональної активності досліджених лікарських агентів при їх одночасному застосуванні.
- Вперше рекомендовано використовувати оптимізовану мас-спектрометричну методику з IEP для ефективного швидкого скринінгу бісчетвертинних амонієвих сполук з потенційною протибактеріальною активністю, яка зумовлена їх мембранотропним ефектом.
- Вперше 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 молекулярно-фізичної основи модуляції активності цих ліків при сумісному введенні.
- В експериментах методом мас-спектрометрії з IEP вперше встановлено вибіркове комплексоутворення молекули противірусного агенту тилорон з нуклеозидом уридином в полярному середовищі, що запропоновано в якості молекулярно-фізичного механізму, зумовлюючого противірусну активність тилорону, та вказує саме на РНК (в склад яких входить уридин) як найбільш ймовірні біомолекули-мішені противірусної дії тилорону серед нуклеїнових кислот.
- Вперше ідентифіковано мас-спектрометричні маркери формування *in vitro* супрамолекулярних комплексів антибіотика циклосерин з його потенційною молекулярною 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.

- Вперше 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 дії флокаліну на АТФ-чутливий калієвий мембранний канал, пов'язаний з формуванням стабільних нековалентних комплексів молекул препарату з амінокислотними залишками лізину та треоніну в складі регуляторної субодиниці цього мембранного каналу.
- Вперше визначено мас-спектрометричні маркери для ідентифікації в біологічних та технологічних зразках двох біогенних мембранотропних рамноліпідів, що зпродуковані бактеріями штаму *Pseudomonas* sp. PS-17, та характеризуються протиінфекційною активністю. Вперше *in vitro* встановлено, що в результаті міжмолекулярної взаємодії молекул цих рамноліпідів та дипальмітоїлфосфатидилхоліну формуються нековалентні ассоіати, які можуть впливати на функціональну активність мембранних фосфоліпідів бактеріальних клітин, зумовлюючи антимікробну дію цих агентів.
- Розроблено та валідовано методику на основі методу ГХ/МС для визначення в складі частинок атмосферних аерозолів полярних біологічно активних речовин (органічної сполуки левоглюкозан та ряду інших моносахаридних ангідридів), які завдяки їх міжмолекулярним взаємодіям з молекулами води та іншими органічними сполуками відіграють значну роль в біологічно важливих молекулярно-фізичних процесах в довкіллі.
- Вперше виявлено в складі частинок атмосферних аерозолів органічні сполуки 2-метилтреїтол та 2-метилеритритол, що відносяться до класу поліолів та, в наслідок їх активної гідратації та міжмолекулярної взаємодії з іншими полярними молекулами довкілля, вносять значний вклад в формування вторинних органічних атмосферних аерозолів, що характеризуються значною біологічною активністю.

Перелік: наукових праць, які відображають основні результати 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]. Кількість та якість наукових публікацій здобувачки повністю задовольняє вимогам для докторських дисертацій, передбаченим Наказом Міністерства освіти і науки України №1220 від 23.09.2019р. «Про опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук». Кількість статей (більше 10), що представляють основні результати роботи та надруковані у високорейтингових журналах (Q1 і Q2), дозволяє подавати дисертацію Пашинської В.А. до захисту у вигляді наукової доповіді за сукупністю опублікованих статей.

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 elecrtospray 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. Struc.* 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 & 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 [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. Пашинская В. А., Косевич М. В., Степаньян 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 Bisquaternery Ammonium Salt Ethonium. *Mass Spectrometry & Purification Techniques*. 2015. Vol. 1:103. P. 1-9. DOI: 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 Spectrom.* 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., Vermeylen 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(12). P.1249-1257. DOI: https://doi.org/10.1002/jms.391 [Q1]
20. Claeys M., Graham B., Vas G., Wang W., Vermeylen 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 [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., Kourtchev I., Vermeylen 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., Kourtchev 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]

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації: 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 nanobiocpmplexes 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. 76.
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. Pashynska V. A., Vashchenko O. V., Chagovets V. V., Kasian N. A., Krasnikova A. O., Kosevich M. V., Lisetski L. N. The harnessing of phospholipid biomimetic structures in investigations of membranotropic drugs effect. *3rd European Lipidomic Meeting*: Book of Abstracts, Pardubice, Czech Republic, July 2-4, 2013. Pardubice, 2013. P-19.
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. *2nd Intern. Conf. "Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects"*: Book of Abstracts, Kyiv, Ukraine, 6-9 October 2011. Kyiv, 2011. P. 105.
35. Pashynska V., Karpenko O. Mass spectrometric study of rhamnolipid supramolecular complexes with membraine phospholipids. *3rd International Summer School "Supramolecular Systems in chemistry and biology":* Book of Abstracts, Lviv, Ukraine, September 6-10, 2010. Lviv, 2010. P. 133.
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, Primiero, Italy, 15-19 May 2005. 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., Vermeylen 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. *7-th Annual Meeting on Mass Spectrometry*: Book of Abstracts, Ghent, Belgium, 2 September, 2002. Ghent, 2002. P. 49-50.
44. Pashynska V., Vermeylen 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. Pashinskaya V. A, Kosevich M. V., Gomory A. Modeling of surface processes in biological systems under SIMS: interactions of antimicrobial agents on the basis of surface active compounds with the phospholipid components of cell membrane. *16-th International Conference on X-Ray Optics and Microanalysis*: Book of Abstracts, Vienna, Austria, 2-6 July, 2001. Vienna, 2001. P. 129-130.

Апробація результатів дисертації

Результати роботи пройшли апробацію та були широко представлені не тільки в наукових статтях, але й на численних міжнародних наукових конференціях. До списку наукових праць включено 23 тези доповідей на міжнародних конференціях [23-45], де Пашинська В.А. (часто в якості запрошеного доповідача) в форматі усних та стендових доповідей представляла отримані в роботі результати.

Результати, викладені в дисертації, неодноразово доповідались і обговорювались на наукових семінарах ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України, на міжнародних наукових семінарах в Інституті органічної хімії Центра природничих наук Угорської академії наук (м. Будапешт, Угорщина) під час наукових відряджень в рамках спільних україно-угорських проєктів та на семінарах лабораторії мас-спектрометрії Університету Антверпена (м. Антверпен, Бельгія) під час наукового стажування здобувача. Співпраця дисертантки з авторитетними закордонними науковими командами та участь в міжнародних проєктах в рамках дисертаційних досліджень свідчать про апробацію отриманих наукових результатів на високому міжнародному рівні.

Теоретичне та практичне значення виконаного дослідження

Отримані в дисертаційній роботі результати мають суттєве наукове значення, що підтверджується високим рівнем цитування певних робіт здобувача Пашинської В.А. (загальна кількість цитувань робіт Пашинської за даними Google Scholar натепер становить більше 2400).

Запропоновані в роботі молекулярно-фізичні механізми, що пов’язані з функціональною дією ряду лікарських сполук різних груп, вносять вагомий теоретичний внесок в розуміння фізичних основ важливих біологічних процесів за участю лікарських агентів, що зумовлює наукову цінність отриманих результатів. Безумовно важливими з наукової точки зору є результати, що отримано при вивченні органічних компонентів атмосферних аерозолів та їх ролі в формуванні шляхом міжмолекулярних взаємодій

частинок біологічно активних вторинних аерозолів, в процесах гідратації та в інших важливих молекулярно-фізичних біосферних процесах.

Варто також зазначити, що при тому, що об'єктами дисертаційного дослідження є біологічно активні молекули, сутність роботи Пашинської вбачається фізичною, бо досліджувались саме фізичні нековалентні взаємодії молекул фізичними експериментальними методами мас-спектрометрії та теоретичними фізико-математичними методами квантово-механічних розрахунків DFT та MP2. Широкий спектр об'єктів досліджень, від лікарських речовин до біологічно активних органічних сполук в складі частинок атмосферних аерозолів, підкреслює системність проведених досліджень та показує універсальну та важливу роль нековалентних взаємодій в різноманітних біологічно значущих процесах.

Розв'язання в рамках роботи актуальної проблеми молекулярної біофізики, що полягає у визначенні молекулярно-фізичних процесів, пов'язаних з функціональною дією досліджених представників ряду груп важливих ліків (наприклад протиінфекційних, кардіопротекторних, та інших), поглиблює сучасні теоретичні знання про загальні фізичні основи процесів за участю біологічно активних сполук в живих системах. Отримані результати, по суті, вказують на важливість врахування фізичних нековалентних взаємодій при розгляді складних біологічних ефектів, що спричиняють біологічно активні агенти, включаючи ліки або компоненти довкілля, в організмі людини або тварини, або в інших біосистемах. Дисертація також демонструє взаємозв'язок природничих наук (зокрема фізики й біології) та ефективність комплексного застосування різних наукових підходів для розуміння базових механізмів функціонування живих систем на молекулярному рівні.

З розгляду дисертації В.А. Пашинської чітко вимальовується й практична значущість праці для таких життєво важливих галузей, як медицина в різноманітних її аспектах та екологія. Наприклад, застосований в роботі комбінований експериментально-теоретичний підхід на базі поєднання мас-спектрометрії з IEP та квантово-механічних розрахунків, а також оптимізована IEP методика рекомендовані 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.

Серед результатів досліджень, що характеризуються суттєвим практичним значенням, також варто зазначити розробку методики на основі методів газової хроматографії та мас-спектрометрії (ГХ/МС) для визначення ряду біологічно активних органічних речовин в складі частинок атмосферних аерозолів. Застосування цієї методики для вивчення зразків реальних аерозолів

з різних частин світу в рамках масштабних міжнародних проєктів дало можливість виявити раніше неописані складові атмосферних аерозолів та визначити роль їх міжмолекулярних взаємодій у біологічно важливих процесах.

Оцінка структури дисертації, її мови та стилю викладення

Дисертаційна робота Пашинської В.А. є кваліфікаційною науковою працею, що оформлена для захисту у вигляді наукової доповіді відповідно до розділу ІІ Вимог до оформлення дисертації, затверджених наказом Міністерства освіти і науки України 12 січня 2017 року № 40. Дисертація має анотацію, вступ, чотири розділи (підрозділами яких є наукові статті здобувача наукового ступеня) з підсумками, висновки, список використаних джерел, додаток. Дисертаційна робота характеризується єдністю змісту та має ознаки комплексного дослідження, що відкриває подальші перспективи розвитку в галузі молекулярної біофізики з застосуванням розвинутого в роботі методичного підходу пошуку мас-спектрометричних маркерів процесів міжмолекулярних взаємодій біологічно активних речовин. Дисертація написана фаховою українською мовою з дотриманням вимог наукового стилю викладання матеріалу. Дисертація супроводжується рефератом, що містить загальну характеристику дисертаційної роботи, чітко та лаконічно викладає основний зміст проведених досліджень.

Відповідність дисертації паспорту спеціальності, за якою вона представлена до захисту.

Зміст дисертаційної роботи Пашинської В.А. повністю відповідає паспорту спеціальності 03.00.02 – біофізика фізико-математичних наук, оскільки в формулі спеціальності зазначено, що це «*Галузь науки, яка вивчає фізичні механізми, що визначають структуру, функції та взаємодії біологічних систем різного рівня організації*». Саме встановленню молекулярно-фізичних механізмів (тобто фізичних механізмів на молекулярному рівні) біологічно значущих процесів за участю біологічно активних речовин (ліків або органічних компонентів довкілля), зокрема, вивченню їх міжмолекулярних взаємодій з біомолекулами та компонентами оточення, а також дослідженням їх структурної стабільності присвячена дисертаційна робота.

Більшість досліджень, що виконані в рамках дисертаційної роботи, за тематикою відповідає описаному в паспорті спеціальності 03.00.02 напряму досліджень *Молекулярна біофізика*, де прямо зазначені «*дослідження білок-нуклеїнових взаємодій і взаємодії біополімерів з біологічно активними речовинами*». Результати щодо формування нековалентних комплексів

досліджених в роботі лікарських сполук з біомолекулами, їх складовими та компонентами сольватного оточення, отримані методом мас-спектрометрії та квантово-механічними розрахунками, а також результати щодо спільної конкурентної взаємодії різних ліків з фосфоліпідними компонентами біологічних мембран в системах *in vitro* повністю відповідають зазначеному вище напрямку досліджень.

При цьому дисертаційні дослідження, пов'язані з розробкою нової ГХ/МС методики для визначення біологічно активних органічних речовин та їх взаємодій в частинках аерозолів довкілля, та робота з удосконалення методики мас-спектрометрії з іонізацією IEP для визначенням маркерів нековалентного комплексоутворення ліків з біомолекулами, повністю відповідають зазначеному в паспорті спеціальності опису напряму досліджень *Методи біофізичних досліджень*, де зазначено «*створення, розробка й удосконалення експериментальних фізичних методів дослідження структури, фізичних властивостей і взаємодії біологічних об'єктів різного рівня організації*».

Таким чином, представлена дисертаційна робота Пашинської Влади Анатоліївни «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» є кваліфікаційною науковою працею, виконаною здобувачем самостійно, що містить обґрунтовані наукові положення та нові наукові результати у галузі фізико-математичних наук, які мають практичну та теоретичну цінність, що підтверджується відповідними науковими публікаціями та їх цитуванням. Дисертаційна робота відповідає паспорту наукової спеціальності 03.00.02 – біофізика, містить науково обґрунтовані висновки на основі одержаних достовірних результатів, характеризується єдністю змісту та відповідає принципам академічної доброчесності. Використання в даній роботі наукових текстів, ідей, розробок, наукових результатів і матеріалів інших авторів супроводжується обов'язковим посиланням на автора та/або на джерело опублікування.
Оформлення дисертаційної роботи відповідає існуючим вимогам.

Дисертаційна робота Пашинської Влади Анатоліївни «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» повністю відповідає вимогам пп. 6, 7, 8, 9 Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 р. № 1197 стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук.

УХВАЛИЛИ:

Рекомендувати дисертацію Пашинської Влади Анатоліївни «Мас-спектрометричні маркери та молекулярно-фізичні механізми дії біологічно активних речовин» до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня доктора наук з галузі фізико-математичні науки за спеціальністю 03.00.02 – біофізика у спеціалізованій вченій раді відповідного профілю.

Результати голосування: учасники семінару підтримали висновок і рекомендації одноголосно:
«За» – 26
«Проти» – 0
«Утримались» – 0

Рецензенти:

Д. ф.-м. н., проф.,
заступник директора з наукової роботи
ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Долбин О. В.

Д. ф.-м. н., проф.,
завідувач відділу спектроскопії
молекулярних систем і наноструктурних
матеріалів ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Камарчук Г.В.

Д. ф.-м. н., проф.,
провідний науковий співробітник
відділу спектроскопії молекулярних
систем і наноструктурних матеріалів
ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Савченко О.В.

Секретар фахового семінару
д. ф.-м.н., ст. наук. співробітник
відділу молекулярної біофізики
ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України Гламазда О.Ю.

Голова фахового семінару
чл.-кор. НАН України, д. ф.-м.н., проф.,
завідувач відділу молекулярної біофізики
ФТІНТ ім. Б.І. Вєркіна НАН України **Карачевцев В.О.**