

# Strategies for molecular structure elucidation in static and dynamic systems

Citation for published version (APA):

Hadavi, D. (2023). *Strategies for molecular structure elucidation in static and dynamic systems*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20230530dh>

## Document status and date:

Published: 01/01/2023

## DOI:

[10.26481/dis.20230530dh](https://doi.org/10.26481/dis.20230530dh)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

---

# Summary

---

## Summary

Detecting, identifying, and characterizing molecules and structures as the substance of life are essential steps toward unveiling their role as a sole entity or more commonly as a part of a larger molecular assembly for specific biological functionalities. Next, it is of pivotal importance to translate the acquired knowledge of molecular structures and their activity to a more comprehensive understanding of the biological process, such as the biochemical foundations of diseases or metabolic disorders. The aim and ultimate outcomes of this thesis were to address these two aspects by offering new analytical strategies.

Chapter 1 is focused on the molecular structure assessment of small molecules, including drug metabolites and potential biomarkers, and drug targets.

Section 1 introduces strategies to differentiate 10 isomeric metabolites of a medicinal drug candidate, for the treatment of epilepsy. This was done by introducing ion mobility-based strategies and monitoring the mobility of the fragment ions. Next to this, the study investigated the analytical capabilities of two types of ion mobility instruments: traveling wave ion mobility (TWIMS) and trapped ion mobility spectrometry (TIMS). The results of this study indicated the influence of adduct(s) in the gas phase conformation of ions, which inevitably impacts their mobility.

Section 2 provides fundamental insights to assist in interpreting the ion mobility data (Collision Cross Section) and understanding the fate of ions in the gas phase. To this end, 14 clinically important bile acids, which included enantiomeric, diastereomeric, and structural isomers were studied. The outcome of this section enables extracting correct information from ion mobility spectrometry data and predicting the possibility of ion mobility separation. In addition, unlike previous studies, this section includes methodologies to separate isomers in a complex sample. These methodologies will enable scientists to directly examine and separate their complex (pre-) clinical samples.

The focus of Chapter 2 addresses challenges encountered in protein characterization and interactions studies. Section 1 introduces a rediscovered buffer, which has not been considered in the area of native mass spectrometry. Compared to the well-known and widely applied ammonium acetate it generates lower charge states opening a new research window in assessing the complex structures of proteins or assemblies thereof. The clinically important cardiac troponin complex was examined in native form for the first time using this buffer. In section 2, a follow-up study on the protein-protein interaction of three cardiac troponin subunits by surface plasmon resonance is described. The newly introduced methodology is likely to be of benefit for studying other complex protein complexes with more than two subunits.

Considering that life is dynamic in nature, we ought to perform our science in dynamic form as well, hence Chapter 3. The first section of this chapter provides an overview of coupling dynamic systems such as organ-on-a-chip to mass spectrometry for real-life monitoring, and selective, sensitive, and fast detections. Section 2 takes a step forward and analyses a dynamic chemical reaction in an on-line fashion by mass, tandem mass, and ion mobility spectrometry. This section discusses in detail the possibilities for on-

line monitoring of a microflow chemical reaction and the separation of structural isomers. In addition, it introduces a new strategy for annotating ion mobility spectra in the absence of standard molecules.



---

# Samenvatting

---

## Samenvatting

Het detecteren, identificeren en karakteriseren van moleculen en structuren als de bouwstenen van het leven zijn essentiële stappen richting het ontdekken van hun rol als unieke entiteit of, meer gebruikelijk, als onderdeel van een groter moleculaire geheel, voor specifieke biologische functies. Daarnaast is het van essentieel belang om de opgedane kennis van moleculaire structuren en hun activiteit te vertalen naar een meer alomvattend begrip van biologische processen, zoals de onderliggende biochemische fundamenteën van ziekten en metabole aandoeningen. Het doel en de uiteindelijke uitkomst van deze thesis is het aampakken van deze twee aspecten door het aanbieden van nieuwe analytische strategieën.

Hoofdstuk 1 is gericht op de beoordeling van de moleculaire structuur van kleine moleculen, inclusief metaboliëten van medicatie, potentiële biomarkers, en medicijn doelwitten. Deel 1 introduceert strategieën voor het differentieren van 10 isomere metaboliëten van een kandidaat medicijn voor de behandeling van epilepsie. Dit werd gedaan door het introduceren van op ion mobiliteit-gebaseerde strategieën en door het observeren van de mobiliteit van fragment ionen. Daarnaast onderzocht deze studie de analytische mogelijkheden van 2 soorten ion mobiliteit instrumenten. De "Traveling Wave ion mobility spectroemtry" (TWIMS; reizende golf ion mobiliteit spectrometrie) en de "Trapped ion mobility spectrometry" (TIMS; gevangen ion mobiliteit spectrometrie). De resultaten van deze studie duiden op de invloed van adducten op vorm van moleculen in de gas fase, wat een onheroepeelijke invloed heeft op hun mobiliteit.

Deel 2 geeft fundamentele inzichten die het interpreteren van ion mobiliteit data ("Collision Cross Section"; botsings-doorsnede) en het begrip van het lot van ionen in de gas fase ondersteunen. Hiervoor werden 14 klinisch relevante galzouten bestudeerd, die enantiomeren, diastomeren, en structure isomeren bevatten. De uitkomst van dit deel biedt de mogelijkheid om de juiste informatie uit ion mobiliteit data te halen en om de mogelijkheid tot het gebruik van ion mobiliteit spectrometrie te voorspellen. Daarnaast, in tegenstelling tot voorgaande studies, bevat dit deel methodologiën om isomeren te scheiden in complexe monsters. Deze methodologiën laten wetenschappers toe om complexe (pre-)klinische monsters direct te bestuderen en te scheiden. De nadruk van hoofdstuk 2 ligt op het aanpakken van de uitdagingen met betrekking tot eiwit karakterisering and interactie studies. Deel 2 introduceert een herontdekte buffer welke niet eerder werd overwogen voor het gebruik in native massa spectrometrie. Vergeleken met het bekende en wijd-toegepaste ammonium acetaat genereert het een lagere lading staat die een nieuw onderzoeksdeel biedt voor het beoordelen van complexe eiwit structuren en eiwit samenstellingen. Het klinisch belangrijke "cardiac troponin" complex werd voor de eerste keer in de native vorm onderzocht met behulp van deze buffer. In deel 2, wordt een vervolg studie gericht op eiwit-eiwit interacties van die 3 cardiac troponin subdelen met begulp van oppervlakte plasmon resonantie beschreven.

Gezien het feit dat het leven van nature een dynamisch proces is, dienen we onze wetenschap ook in een dynamische vorm uit te voeren, vandaar hoofdstuk 3. Het eerste

deel van dit hoofdstuk geeft een overzicht van mogelijke koppelingen van dynamische systemen, zoals “organ-on-a-chip”, aan massa spectrometrie voor live, selectieve, gevoelige en snelle waarnemingen. Deel 2 neemt een stap voorwaarts en analyseert op een online manier een dynamische chemische reactie met massa, tandem massa, en ion mobiliteit spectrometrie. Dit deel bediscussieert in detail de mogelijkheden voor het online monitoren van microflow chemische reacties en de scheiding van structurele isomeren. Daarnaast introduceert het een nieuwe strategie voor het annoteren van ion mobiliteits data (Collision cross sections & arrival time distributions) zonder gebruikt te maken van intern standaarden.



