Załącznik nr 2

do wniosku **o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego** w dziedzinie **nauk farmaceutycznych** w obszarze wiedzy: nauk medycznych i nauk o zdrowiu oraz nauk o kulturze fizycznej

AUTOREFERAT

dr n. farm. Katarzyna Paradowska

Osiągnięcia w działalności naukowej

Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy

kierownik Katedry: prof. dr hab. Piotr Wroczyński

Zakład Chemii Fizycznej

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawski Uniwersytet Medyczny

kierownik Zakładu: dr hab. Dariusz Maciej Pisklak

Spis treści 2

1. Dane personalne 4
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe 4
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych 4
4. Osiągnięcia wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) 4
4.1 tytuł osiągnięcia naukowego 4
4.2 autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, nazwa wydawnictwa, rok wydania oraz krótki opis publikacji z oceną indywidualnego wkładu habilitanta 5
4.3 omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników 8
- cel badawczo-naukowy 8
- badania własne 10
- podsumowanie 33
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych 34
5.1 osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych 34
5.2 osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych 35
5.3 współpraca z jednostkami naukowymi w kraju i za granicą 37
5.4 kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach 37
5.5 nagrody oraz odznaczenia związane z działalnością naukową 38
5.6 udział w międzynarodowych lub krajowych konferencjach tematycznych w latach 2007-2016 (po uzyskaniu stopnia doktora) 29
5.7 promotorstwo i opieka nad naukowymi pracami studenckimi 42
5.8 staże w zagranicznych lub krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich 42
5.9 członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych 42
5.10 dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz współpraca międzynarodowa 43
a) konferencje. 43
b) nagrody i wyróżnienia. 43
c) zajęcia dydaktyczne na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem

Medycyny Laboratoryjnej. 44
5.11 udział w dodatkowych zajęciach dydaktycznych i popularyzatorskich poza WUM. 45
5.12 Organizacja konferencji międzynarodowych i krajowych. 46
6. Dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych
(w latach 2003 – 2007) 47
7. Dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych
(w latach 2008 – 2017) 48

1. Dane personalne:

Imię i nazwisko: Katarzyna Paradowska.

Miejsce zatrudnienia: Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Zakład Chemii Fizycznej Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawski Uniwersytet Medyczny.
Stanowisko: adiunkt.

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe:

dyplom magistra chemii-1999, Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii.

dyplom doktora nauk farmaceutycznych-2007, Akademia Medyczna w Warszawie, tytuł pracy: "Magnetyczny Rezonans Jądrowy i modelowanie molekularne w badaniu struktury sacharydów i ich pochodnych" wykonany w Zakładzie Chemii Fizycznej.
Promotor pracy: dr hab. Iwona Wawer.

3. Informacje dotyczące zatrudnienia:

- od 15.10.1999 praca w Zakładzie Chemii Fizycznej, Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie, na stanowisku technicznym.

- od 2001 praca w Zakładzie Chemii Fizycznej, Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie, na stanowisku asystenta.

- od 01.02.2008 praca w Zakładzie Chemii Fizycznej, Wydziału Farmaceutycznego (obecnie Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej) Akademii Medycznej (obecnie Warszawski Uniwersytet Medyczny) w Warszawie, na stanowisku adiunkta.

- od 02.10.2017 praca w Katedrze Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Zakładzie Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny w Warszawie, na stanowisku adiunkta.

4. Osiągnięcia wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

4.1 tytuł osiągnięcia naukowego:

Magnetyczny rezonans jądrowy w ciele stałym jako metoda weryfikacji w badaniu struktury i konformacji bioaktywnych molekuł

Osiągnięcia naukowe stanowiące podstawę wniosku o stopień doktora habilitowanego zostały przedstawione w monotematycznym cyklu ośmiu prac (7 prac oryginalnych i jednej pracy przeglądowej) opublikowanych w latach 2008-2017. Łączny współczynnik

oddziaływania (IF) wymienionych prac wynosi – 13,593, a łączna punktacja KBN/MNiSW wynosi - 210 pkt.

4.2 autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, nazwa wydawnictwa, rok wydania oraz krótki opis publikacji z oceną indywidualnego wkładu habilitanta:

H1 K. Paradowska, M. Wolniak, Z. Fijałek, I. Wawer*
Identification and analysis of drugs in the solid state by ^{13}C CPMAS NMR: suxamethonium chloride and hydrocortisonum (corhydron)
Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug, Research zeszyt Nr 3/(2008), pp.295-301, IF_{2008}=0,0; KBN/MNiSW=13

Jestem współtwórcą koncepcji tej pracy, doboru zastosowanych metod badawczych, sposobu realizacji i nadzorowania prowadzonych prac. Mój udział obejmował rejestrację widm ^{13}C CPMAS NMR z różną szybkością wirowania i różnym czasem kontaktu badanych leków. Zinterpretowałam widma oraz wykonałam obliczenia parametrów kinetyki skrośnej z zastosowaniem dwóch modeli. Uczestniczyłam w procesie przygotowywania publikacji, we wszystkich etapach dyskusji, opracowania wyników, pisania tekstu, opracowania odpowiedzi dla recenzentów. Biorąc pod uwagę liczbę współautorów, mój udział procentowy szacuję na: 60%.
Oświadczenia współautorów w Załączniku 7.

H2 K. Paradowska, M. Wolniak, M. Pisklak, J.A. Gliński, M.H. Davey, I. Wawer*
^{13}C, ^{15}N CPMAS NMR and GIAO DFT calculations of stereoisomeric oxindole alkaloids from Cat's Claw (*Uncaria Tomentosa*).
Solid State Nuclear Magnetic Resonance, 34, (2008), pp. 202-209, IF_{2008}=1,804; KBN/MNiSW=27

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu jej koncepcji, wyborze technik badawczych, sposobu ich realizacji oraz nadzorowania i monitorowania prowadzonych prac. Mój udział obejmował interpretację widm 1D i 2D NMR w roztworze, rejestrację widm ^{13}C CPMAS NMR, ich interpretację oraz badania konformacyjne (analiza danych obliczeniowych i eksperymentalnych). Uczestniczyłam w procesie przygotowywania publikacji, w dyskusji i opracowaniu wyników, jak również tworzeniu tekstu. Uczestniczyłam w przygotowaniu odpowiedzi dla recenzentów. Biorąc pod uwagę liczbę współautorów, mój udział procentowy szacuję na: 60%.
Oświadczenia współautorów w Załączniku 7.

H3 A. Ahmedova*, **K. Paradowska**, I. Wawer
^{1}H, ^{13}C MAS NMR and DFT GIAO study of quercetin and its complex with Al(III) in solid state.
Journal of Inorganic Biochemistry, 110, (2012), pp. 27-35, IF_{2012}=3,197; KBN/MNiSW=35

W omawianym projekcie badawczym uczestniczyłam w określeniu celu badań, planowaniu i przebiegu poszczególnych etapów, wykonaniu części badań analitycznych oraz przygotowywaniu tekstu do publikacji. Brałam udział we wszystkich etapach dyskusji i analizy wyników oraz przy formułowaniu wniosków. Dodatkowo mój udział obejmował rejestrację widm ^{1}H MAS NMR i ^{13}C CPMAS NMR - głównej metody badawczej i interpretację uzyskanych wyników. Wykonałam większość obliczeń z zastosowaniem GIAO DFT. Biorąc pod uwagę liczbę współautorów, mój udział procentowy szacuję na: 40%.
Oświadczenia współautorów w Załączniku 7.

H4 K. Paradowska, I. Wawer* – review
Solid-state NMR in the analysis of drugs and naturally occurring materials.
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 93 (2014), pp. 27-42, IF_{2014}=2,979; KBN/MNiSW=35

Byłam inicjatorem powstania pracy oraz określiłam zakres omawianych zagadnień. Dokonałam przeglądu stanu badań, na podstawie którego wybrałam najważniejsze problemy badawcze obrazujące aktualny stan wiedzy w tej dziedzinie na świecie. Najważniejsze i najbardziej interesujące z nich zilustrowałam wynikami własnych, autorskich badań. Mój udział procentowy szacuję na 80%.
Oświadczenia współautorów w Załączniku 7.

H5 J. Bukowicki, A. Wawer, **K. Paradowska***
Conformational Analysis of Gentiobiose Using Genetic Algorithm Search and GIAO DFT Calculations with ^{13}C CPMAS NMR as a Verification Method.
Journal of Carbohydrate Chemistry, 34(3), (2015), pp 145-162, IF_{2015}=0,738; KBN/MNiSW=20

Jestem współtwórcą koncepcji pracy, doboru zastosowanych metod badawczych, sposobu ich realizacji i nadzorowania prowadzonych prac obliczeniowych. Mój udział obejmował rejestrację widm ^{13}C CPMAS NMR badanych związków, ich interpretację oraz analizę wybranych konformerów (analiza danych obliczeniowych i eksperymentalnych na każdym etapie badań). Uczestniczyłam również w procesie przygotowywania publikacji, we wszystkich etapach dyskusji, opracowaniu wyników. Byłam odpowiedzialna za korespondencję z redakcją czasopisma, a także przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów (autor korespondujący). Biorąc pod uwagę liczbę współautorów, mój wkład procentowy wyniósł: 45%.
Oświadczenia współautorów w Załączniku 7.

H6 P. Wałejko, **K. Paradowska***, J. Bukowicki, St. Witkowski, I. Wawer
Phenyl galactopyranosides – ^{13}C CPMAS NMR and conformational analysis using genetic algorithm.
Chemical Physics, 457, (2015), pp. 43–50, IF_{2015}= 1,758; KBN/MNiSW=25

Jestem współtwórcą koncepcji pracy, doboru zastosowanych metod badawczych, sposobu ich realizacji i nadzorowania prowadzonych prac. Ponadto, mój udział dotyczył rejestracji widm ^{13}C CPMAS NMR badanych związków, ich interpretacji oraz badań konformacyjnych wybranych konformerów (analiza danych obliczeniowych i eksperymentalnych). Współuczestniczyłam również w procesie przygotowywania publikacji, we wszystkich etapach dyskusji i opracowaniu wyników. Odpowiadałam za korespondencję z redakcją czasopisma, przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów (autor korespondujący). Biorąc pod uwagę liczbę współautorów, mój wkład procentowy wyniósł: 30%.
Oświadczenia współautorów w Załączniku 7.

H7 P. Siudem, **K. Paradowska***, J. Bukowicki
Conformational analysis of capsaicin using 13C, 15N MAS NMR, GIAO DFT and GA calculations.
Journal of Molecular Structure, 1146, (2017) 773-781, IF=1,753; KBN/MNiSW=20

Jestem współtwórcą koncepcji pracy, doboru zastosowanych metod eksperymentalnych i obliczeniowych. W szczególności, mój udział dotyczył rejestracji i interpretacji widm MAS NMR oraz badań konformacyjnych wybranych konformerów (analiza danych obliczeniowych i eksperymentalnych). Współuczestniczyłam również w procesie przygotowywania publikacji, we wszystkich etapach dyskusji i opracowaniu wyników. Odpowiadałam za korespondencję z

redakcją czasopisma, przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów (autor korespondujący). Biorąc pod uwagę liczbę współautorów, mój wkład procentowy wyniósł: 40%.
Oświadczenia współautorów w Załączniku 7.

H8 K. Paradowska*, A. Zielińska, M. Kuras, I. Wawer
The composition of bee pollen color fractions evaluated by solid-state ^{1}H and ^{13}C NMR, their macroelement content and antioxidant properties.
Journal of Apicultural Research, 56(5), (2017) 523-532, IF=1,364, KBN/MNiSW=35

W omawianym projekcie określiłam cel badań, zaplanowałam poszczególne badania i uczestniczyłam w przebiegu wszystkich etapów projektu badawczego oraz wykonaniu części badań analitycznych. Moim zadaniem było również przygotowywanie tekstu do publikacji, a także korespondowania z edytorem i odpowiedzią na recenzje. Brałam udział we wszystkich etapach dyskusji i analizy wyników oraz przy formułowaniu wniosków. Dodatkowo mój udział obejmował rejestrację widm 1H MAS NMR i 13C CPMAS NMR - głównej metody badawczej i ich analizę. Biorąc pod uwagę liczbę współautorów, mój udział procentowy szacuję na: 55%.
Oświadczenia współautorów w Załączniku 7.

Suma IF=13,593 MNiSW=210 pkt.

4.3 omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników:

Cel naukowy-badawczy

Celem prowadzonych przeze mnie badań, jest zastosowanie i rozwój metod fizykochemicznych - eksperymentalnych i teoretycznych - w analizie strukturalnej i konformacyjnej substancji aktywnych biologicznie i farmakologicznie. Przedmiotem badań są substancje, izolowane z materiału roślinnego oraz takie, które powstały na drodze syntezy. Każda substancja w pierwszym etapie badań wymaga identyfikacji i potwierdzenia struktury, a optymalnym narzędziem w osiągnięciu tego celu jest magnetyczny rezonans jądrowy w roztworze. Kolejnym etapem badań związków powstałych na drodze syntezy lub wyizolowanych jest określenie ich struktury w fazie stałej. Z istniejących metod fizykochemicznych, stosowałam głównie spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) w ciele stałym z wykorzystaniem wirowania pod kątem magicznym (MAS), znaną jako MAS NMR lub ssNMR (solid-state NMR). Wyniki badań eksperymentalnych uzupełniałam i weryfikowałam metodami obliczeniowymi: DFT, DFT GIAO oraz analizą konformacyjną z wykorzystaniem algorytmów ewolucyjnych, a także metodami chemometrycznymi.

Konformacja bioaktywna (oddziałująca z receptorem) najczęściej nie jest obecna w fazie stałej, ani dominująca w roztworze. Wiedzę o niej możemy uzyskać korzystając z danych pochodzących z obu faz, a optymalne badawczo warunki występują wtedy, kiedy można określić przestrzenną strukturę cząsteczki - długości wiązań, kąty płaskie oraz torsyjne, za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej wykonanej dla pojedynczych kryształów (XRD). Technika ta pozwala też ustalić sieć krystaliczną, w której się znajduje, czyli oddziaływania międzymolekularne. Istotną przeszkodą w badaniach fazy stałej jest brak danych krystalograficznych, ponieważ związki (szczególnie pochodzenia naturalnego) często nie krystalizują w postaci monokryształów o jakości nadającej się do pomiarów XRD. Substancja poddawana pomiarom XRD musi mieć postać krystaliczną, problem badawczy i analityczny stanowi dobór odpowiedniego monokryształu. Innym zjawiskiem obserwowanym w ciele stałym jest występowanie związków naturalnych i syntetycznych w różnych odmianach krystalicznych, czyli polimorfizmu. Substancje mogą też mieć postać amorficzną. Jest to istotny problem badawczy dla farmacji choćby ze względu na zróżnicowaną rozpuszczalność poszczególnych form. Do badania fazy stałej można posłużyć się dyfrakcją rentgenowską proszków (PXRD). Jednakże, otrzymanie pełnego zestawu danych o strukturze i oddziaływaniach międzymolekularnych, z analizy związków występujących jako ciało stałe,

nie jest proste. W badaniach farmaceutycznych cenną metodą jest więc magnetyczny rezonans jądrowy w ciele stałym (ssNMR), umożliwiający badanie substancji zarówno krystalicznych jak i amorficznych. Metoda ta jest również odpowiednim narzędziem weryfikującym parametry obliczone z użyciem chemii kwantowej, wspomagającym badania strukturalne.

Spektroskopia NMR ciała stałego znalazła zastosowanie w badaniach oddziaływań międzymolekularnych, w tym wiązań wodorowych. Interesujących danych dostarczają pomiary anizotropii przesunięcia chemicznego. Korelacja pomiarów NMR z wynikami analizy krystalograficznej pozwala ustalić odległości między atomami w fazie stałej. Jednak badania i pomiary (dyfuzji spinowej, czasów relaksacji, transferu polaryzacji) wymagają długiego czasu pomiarowego, a najczęściej również wzbogacania w izotop ^{13}C lub ^{15}N. Takie podejście nazwano nawet „krystalografią NMR".

Do charakterystyki molekuł i ich oddziaływań wykorzystywane są zaawansowane metody chemii kwantowej, w szczególności metody uwzględniające korelacje elektronowe. Najczęściej obecnie stosowaną jest metoda funkcjonału gęstości elektronowej (DFT) z rozwiniętymi bazami funkcyjnymi. Na podstawie własnego doświadczenia uważam, że jest to metoda pozwalająca wykonywać obliczenia stosunkowo szybko, za pomocą popularnych komputerów PC, korzystając z pakietu programów na przykład Gaussian. Dłużej trwające obliczenia stałych ekranowania NMR przy użyciu pakietu programowego Gaussian03 z wykorzystaniem metody GIAO, hybrydowego potencjału DFT oraz bazy 6-31G** i in. można wykonać m. in. na komputerach Interdyscyplinarnego Centrum Modelowania Matematycznego i Komputerowego Uniwersytetu Warszawskiego (ICM).

Znajomość struktur przestrzennych cząsteczki pozwala zrozumieć oddziaływania ligand - receptor, do czego konieczne jest zbadanie przestrzeni konformacyjnej molekuły. W fazie gazowej i w roztworze molekuły charakteryzują się labilnością konformacyjną - możliwe są rotacje wokół wiązań pojedynczych - co powoduje, że liczba możliwych konformerów rośnie wykładniczo z liczbą takich wiązań. Problemem badawczym jest również znalezienie zbioru najbardziej optymalnych struktur, z wykorzystaniem odpowiedniego algorytmu poszukiwań. Ligand w kompleksie z białkiem receptorowym może występować w formie zbliżonej do jednego z energetycznych minimów lokalnych, które nie stanowi jednocześnie minimum globalnego, a oddziaływania ligand - receptor mogą rekompensować mniej korzystną energetycznie konformację liganda. W przypadku małych cząsteczek poszukiwanie minimum zazwyczaj sprowadza się do przeszukiwania systematycznego (Grid Search) - zmieniając każdy z odpowiednich kątów torsyjnych i obliczając energię cząsteczki wybiera się zbiór

najbardziej optymalnych konformacji. Niestety, w przypadku cząsteczek o dużej liczbie stopni swobody, liczba konformacji rośnie w szybkim tempie. Dla przykładu, chcąc przeszukać przestrzeń konformacyjną z rozdzielczością 30° dla cząsteczki zawierającej 6 kątów torsyjnych, należałoby wziąć pod uwagę prawie 3 mln konformacji.

Mimo, iż współczesne komputery dysponują bardzo dużą mocą obliczeniową, systematyczne przeszukiwanie całej przestrzeni konformacyjnej cząsteczki nadal nie byłoby wykonalne. W takich przypadkach z pomocą przychodzą niekonwencjonalne metody poszukiwań wykorzystujące komputerowe techniki ewolucyjne. Do takiej grupy technik należą algorytmy genetyczne. Służą one do rozwiązywania problemów związanych z optymalizacją z użyciem metod opartych na teorii doboru naturalnego. Idea działania algorytmu genetycznego polega na traktowaniu potencjalnych rozwiązań jako tzw. „osobników", które posiadają zdolność do reprodukcji. Największe szanse na „przeżycie", a tym samym na reprodukcję mają osobniki najlepiej przystosowane. Przykładem zastosowania algorytmu genetycznego (GA) w chemii jest sytuacja, w której poszukujemy konformacji o najmniejszej energii. GA współpracuje z programami, które służą do optymalizacji energii cząsteczki oferowanym w pakietach, takich jak HyperChem czy MOPAC. W zastosowaniach dotyczących labilnych, bioaktywnych związków proste algorytmy genetyczne zostały rozwinięte do bardziej złożonych algorytmów, np. wielokryterialnej optymalizacji.

Wartości kątów torsyjnych φ, ψ oraz ω, w tak otrzymanych strukturach można porównać z wartościami otrzymanymi z danych krystalograficznych, jeżeli istnieją, lub jest możliwość dokonania ich pomiaru. Można określić, która z konformacji otrzymanych w wyniku działania algorytmu jest prawdopodobnie obecna w fazie stałej. Jeśli istnieją dane XRD, można to stwierdzić wizualnie - po prostu nałożyć te struktury na siebie.

W sytuacji braku danych XRD, w swoich pracach jako metodę weryfikacji zastosowałam ssNMR. Innowacyjność podejścia polegała na obliczeniu stałych ekranowania dla kilku wybranych, niskoenergetycznych (najbardziej prawdopodobnych) konformerów. Dzięki zastosowaniu takiego narzędzia jak GA, w relatywnie krótkim czasie uzyskujemy optymalne rozwiązania dla problemów charakteryzujących się dużą przestrzenią poszukiwań.

Badania własne

Moje zainteresowania naukowe skrystalizowały się w toku przygotowywania rozprawy doktorskiej, której obiektem badań były cukry i ich pochodne. Cukry - jedne z najbardziej rozpowszechnionych w przyrodzie związków chemicznych - są fascynującym obiektem badawczym m. in. dlatego, iż odznaczają się rozmaitością form przestrzennych (konfiguracje,

konformacje, czynność optyczna), różnorodnością połączeń poszczególnych jednostek (np. 1→1, 1→2 1→4, 1→6) tworząc mniejsze i większe polimery oraz oddziaływań wewnątrz- i międzymolekularnych (głównie wiązania wodorowe z udziałem grup OH). Węglowodany stanowią również składniki leków, jako substancje poprawiające, maskujące gorzki i cierpki smak, a także zwiększające biodostępność, czy jako substancje pomocnicze, a przede wszystkim jako nośniki (surowiec do budowy elementów nośnych dla leków, np. w postaci cząstek, kapsułek i hydrożeli). Zastosowanie do ich badania CPMAS NMR wspieranego metodami chemii teoretycznej pozwala uzyskać cenne wyniki, ze względu na to, że oligosacharydy, a zwłaszcza polisacharydy są trudno rozpuszczalnymi związkami o złożonej strukturze molekularnej.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych kontynuowałam badania w tym obszarze, poszerzając zastosowanie technik spektroskopowych i obliczeniowych do analizy wielu innych bioaktywnych związków oraz implementując unowocześnione metody badawcze. Przedmiot moich badań stanowią nadal cukry i ich pochodne (glikozydy z aromatycznym podstawnikiem: O-glikozydy i N-glikozydy) [załącznik nr 4 pozycje: P14, P15, P19, P21, P24], a także związki obecne w surowcu roślinnym; flawonoidy, glikozydy flawonoidowe, kumaryny czy alkaloidy [załącznik nr 4 pozycje: P18, P20, P23, P25, P27, P29, P30, P31, P32, P33, P34, P35, P36, P37], kompleksy z metalami [załącznik nr 4 pozycje: P13, P16, P17] oraz substancje lecznicze [załącznik nr 4 pozycje: P22, P28].

Zawarte w cyklu habilitacyjnym prace dotyczą badań strukturalnych w fazie stałej: identyfikacji związków otrzymanych na drodze syntezy oraz wyizolowanych z materiału roślinnego, badania ich struktury, przestrzeni konformacyjnej i oddziaływań międzymolekularnych. Prace są powiązane tematycznie, a wyniki magnetycznego rezonansu jądrowego w ciele stałym były wspierane obliczeniami komputerowymi. Przedmiotem badań są związki należące do różnych grup o interesujących aspektach strukturalnych.

A. Ahmedova*, **K. Paradowska**, I. Wawer
^{1}H, ^{13}C MAS NMR and DFT GIAO study of quercetin and its complex with Al(III) in solid state. Journal of Inorganic Biochemistry, 110, (2012), pp. 27-35

Interesującą grupą związków są flawonoidy, rozpowszechnione w świecie roślinnym. Aktywność biologiczna flawonoidów pozwala na ich szerokie zastosowania jako leków roślinnych i jako składników surowców stosowanych w fitoterapii. Różnice w aktywności flawonoidów wynikają z obecności podstawników: hydroksylowych, metylowych i cukrowych (monosacharydów, di- lub trisacharydów) występujących w różnej ilości, i w

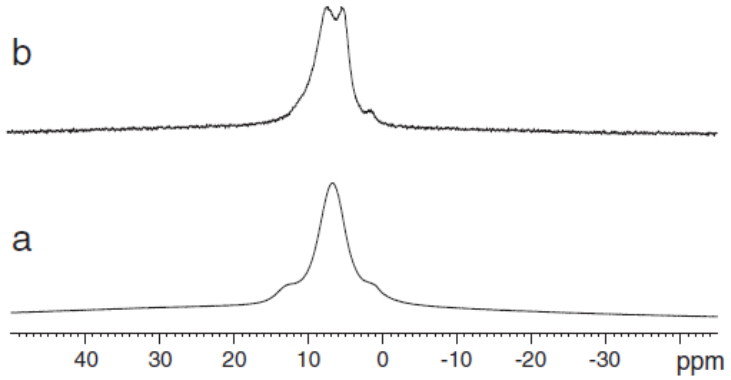
różnych pozycjach w pierścieniach. Różnorodne położenie podstawników w cząsteczce flawonoidu powoduje odmienne właściwości zarówno fizyczne jak i chemiczne, co również przekłada się na ich aktywność biologiczną. Obecność i liczba grup OH wpływa na właściwości przeciwutleniające, w tym działanie przeciwrodnikowe, a także na zdolności chelatowania jonów metali.

Współpraca z dr A. Ahmedową z Uniwersytetem w Sofii (Bułgaria), którą nawiązałam w 2008 roku, zaowocowała serią prac dotyczących badań struktury pochodnych hydantoiny ((9-fluoreno)-spiro-5-ditiohydantoiny, a także cykloalkanespiro-5-(2,4-ditiohydantoiny)) i ich kompleksów z metalami Cu (ll) i Ni (ll). W ww. badaniach została zastosowana metodologia polegająca na połączeniu danych teoretycznych (DFT i GIAO DFT) z doświadczalnymi danymi uzyskanymi z badań spektroskopowych (NMR i IR). Połączenie aspektu teoretycznego i eksperymentalnego zaleca się jako sposób otrzymania wiarygodnych strukturalnych parametrów kompleksów metali z udziałem ligandów, dla których dane krystalograficzne nie są osiągalne. [załącznik nr 4, prace nr P13, P16 i P17]. Prowadzone badania były finansowane w ramach National Science Fund of Bulgaria (contract number DMU-02/11) [Załącznik nr 5]

Sukces ww. badań zachęcił mnie do zastosowania podobnej metodologii w przypadku kompleksu flawonoidów z metalami. Do badań wybrałam jeden z najpowszechniej występujących w świecie roślin i wykorzystywany w farmacji 3,5,7,3',4' pentahydroksyflawon - kwercetynę. Jej struktura i konformacje zostały dość dobrze przebadane (*S. Olejniczak, M.J. Potrzebowski; Solid state NMR studies and density functional theory (DFT) calculations of conformers of quercetin; Org. Biomol. Chem., 2004, 2, 2315-2322*), natomiast bardzo mało jest danych dotyczących kompleksów flawonoidów z metalami. Jednym z postulowanych mechanizmów ich działania biologicznego jest reakcja z rodnikami, a również kompleksowanie jonów metali - w przypadku kwercetyny głównie Fe^{+3}, Fe^{+2}, Cu^{+2} - szczególnie trwałe kompleksy są tworzone z jonami Al^{+3}. Celem badawczym było określenie struktury kompleksu i odpowiedź na pytanie - czy uczestniczą w nim grupy C3-OH i C5-OH czy też grupy hydroksylowe z pierścienia B?

Dr Anife Ahmedova z Uniwersytetu w Sofii, która przebywała na stażu w WUM w ramach wymiany naukowej, wykonała syntezę kompleksów kwercetyny. Zarejestrowałam dla nich widma ^{13}C CPMAS oraz ^{1}H MAS NMR. Wnioski co do struktury kompleksu nie byłyby możliwe do sformułowania jedynie na podstawie MAS NMR, dlatego zostały wykonane obliczenia DFT i DFT GIAO dla modelowych kompleksów, a obliczone przesunięcia chemiczne porównano z eksperymentalnymi. W obliczeniach teoretycznych wzięto pod

uwagę 5 różnych modeli kompleksów kwercetyny z jonami Al^{+3}. Do obliczeń zastosowano 6 baz (6-31G**, 6-31+G**, 6-31++G**, 6-311G**, 6-311+G**, 6-311++G**) i 3 różne funkcjonały (OLYP, PW91, BLYP). Analiza danych eksperymentalnych i teoretycznych pozwoliła potwierdzić, że kompleks jest tworzony przez grupę karbonylową C4=O i $C5\text{-}O^-$ (deprotonowaną C5OH). ^{1}H MAS NMR, potwierdza obecność wewnątrzmolekularnego wiązania wodorowego pomiędzy C5-OH...O=C4 w kwercetynie (szeroki sygnał przy 12 ppm), podczas gdy w widmie ^{1}H MAS NMR kompleksów ten sygnał znika (rys. 1).



Rys. 1 Widma ^{1}H MAS NMR dla czystej kwercetyny (a.) i kompleksy kwercetyny z jonem Al(III) (b.)

Jest to interesujący wynik, ponieważ większość badań spektroskopowych w roztworze (np. UV-vis) nie sugeruje koordynacji kationu z tlenem przy C5 kwercetyny. Badania składu kompleksu wykazały, że stosunek metalu do ligandu w kompleksie to 1:2, a obie molekuły ligandu tworzą sześcioczłonowy pierścień z udziałem grupy karbonylowej i C5-O. Zaproponowałyśmy oktaedryczną strukturę kompleksu z jonem (Al^{+3}) w centrum oraz jonem chlorkowym i cząsteczką wody. Eksperymentalne dane ^{1}H MAS NMR oraz ^{13}C CPMAS NMR posłużyły do weryfikacji teoretycznych obliczeń dla modelowych kompleksów i wyboru struktury najbardziej zgodnej z eksperymentem.

Współpraca z naukowcami z Bułgarii zaowocowała serią publikacji (załącznik 5), a dalsze są w przygotowaniu np. kompleksy z taxifolinem.

J. Bukowicki, A. Wawer, **K. Paradowska***
Conformational Analysis of Gentiobiose Using Genetic Algorithm Search and GIAO DFT Calculations with ^{13}C CPMAS NMR as a Verification Method.
Journal of Carbohydrate Chemistry, 34(3), (2015), pp 145-162

W poszukiwaniach konformacji o najniższej energii cząsteczek połączonych wiązaniem glikozydowym, takich jak disacharydy, kluczowe jest ustalenie ustawienia względem siebie dwóch ciężkich podstawników. Dla disacharydów połączonych wiązaniem glikozydowym typu 1→2, 1→3 lub 1→4 można wykonać tzw. mapy energii potencjalnej na wzór wykresów Ramachandrana (*Ramakrishna C., Resonance (2001), 6, 48–56*). Mapa taka jest tworzona poprzez systematyczny obrót wokół wiązań glikozydowych i daje obraz zależności energii potencjalnej konformerów od wartości dwóch kątów torsyjnych (φ oraz ψ). W przypadku disacharydów zawierających wiązanie glikozydowe typu 1→6 - gdzie dodatkowo należy uwzględnić możliwość rotacji wokół wiązania C5–C6 (kąt ω) jednostki redukującej - wymaga konieczności wizualizacji trójwymiarowej lub zwiększenia ilości sporządzonych map dwuwymiarowych.

W pierwszej wersji oprogramowania (ALJAR.01 do 03), program selekcjonował niskoenergetyczne konformery tylko przez optymalizację kątów φ i ψ w wiązaniu glikozydowym. W strukturze cząsteczki ważne są również orientacje grup OH i OCH_2. Na moją sugestię, we współpracy z autorem oprogramowania J. Bukowickim, w latach 2010-2014 powstawały kolejne, coraz bardziej zaawansowane procedury algorytmu genetycznego (GA), pozwalające na bardziej szczegółową analizę optymalnych konformacji.

Przestrzeń konformacyjna disacharydów była przeszukiwana z rozdzielczością co 20° dla każdego z kątów φ, ψ; dzięki temu było możliwe utworzenie map energii potencjalnej. W celu utworzenia takich map w krótszym czasie, zaprojektowano nową metodę, nazwaną GAAGS (*Genetic Algorithm - Assisted Grid Search*) – Systematyczne Przeszukiwanie Wspomagane Algorytmem Genetycznym. W metodzie tej w każdym punkcie mapy najlepsze ułożenie grup egzocyklicznych (hydroksylowe oraz grupa hydroksymetylowa) jest ustalane przy pomocy algorytmu genetycznego.

W celu dalszego poprawienia wydajności analizy disacharydów, kolejne oprogramowanie zostało zaprojektowane w taki sposób, że podczas obliczeń działały naprzemiennie dwa zależne od siebie algorytmy genetyczne - „A” oraz „B”. Pierwszy z nich był odpowiedzialny za znalezienie najlepszych wartości kątów φ, ψ (i ω), natomiast drugi

poszukiwał optymalnego ułożenia pierwszorzędowych i drugorzędowych grup hydroksylowych.

Do analizy konformacyjnej gentobiozy zostały zastosowane dwa podejścia: GAAGS oraz GA, tj. osobny algorytm genetyczny współpracujący bezpośrednio z programem HyperChem. W celu poprawienia wydajności poszukiwań zostały użyte zaawansowane techniki GA (inwersja, krzyżowanie typu OX, strategia elitarna oraz selekcja turniejowa).

Dla każdego wybranego konformeru, optymalizuje się jego geometrię z jednoczesnym zablokowaniem możliwości zmiany wyznaczonych kątów, a następnie z możliwością zmiany wszystkich z nich. Po optymalizacji energii cząsteczki metodą DFT, stałe ekranowania policzone były metodą GIAO DFT, z tą samą bazą funkcyjną. Najlepsze struktury β-gencjobiozy zostały znalezione w okolicach wartości kąta torsyjnego ω = 60°, 180° oraz 300°, co było do przewidzenia z racji hybrydyzacji sp^3 atomów węgla C5 oraz C6; minima globalne zostały znalezione w okolicach kątów torsyjnych φ/ψ = 280°/180°. We wszystkich znalezionych konformerach grupy hydroksylowe były skierowane w kierunku przeciwnym do ruchu wskazówek zegara (*anti-clockwise*), w obu podjednostkach cukrowych. Takie ułożenie grup OH można wytłumaczyć tworzeniem się słabych wiązań wodorowych między tymi grupami w każdej z jednostek. W przeciwieństwie do obliczeń prowadzonych *in vacuo,* ułożenie tych grup w krysztale jest również uzależnione od tworzenia wiązań wodorowych, ale pomiędzy sąsiadującymi molekułami.

Porównanie wartości stałych ekranowania dla wybranych konformerów z eksperymentalnymi wartościami przesunięć chemicznych zostało oparte na obliczeniu wartości R^2. Najlepsze korelacje otrzymano dla konformacji gdzie kąt torsyjny ω = 60° oraz 300°. Dodatkowa analiza wpływu orientacji pierwszo- i drugorzędowych grup hydroksylowych na ekranowanie wykazała, iż najbardziej podatne na zmiany okazały się stałe ekranowania dla atomów C6', C5' oraz C4'. W przypadku, gdy grupy –OH znajdowały się w pozycji *anti-clockwise,* zmiana orientacji grupy $–CH_2OH$ z *gauche-trans* na *gauche-gauche* powodowała zwiększenie stałych ekranowania dla atomów C6' oraz C4' o ok. 4 ppm. Natomiast zmiana z *gauche-trans* na *trans-gauche* powodowała zmniejszenie tych wartości o prawie 4 ppm. Na podstawie wyników tej analizy, jedna z konformacji (GenC'), została wybrana jako najlepiej korelująca z danymi eksperymentalnymi NMR; charakteryzowała się ona identycznym ułożeniem grupy CH_2OH, jak w strukturze krystalicznej gencjobiozy.

Zwróciłam uwagę na fakt, iż przy kilkudziesięciu atomach węgla w molekule współczynnik R^2 był dość wysoki (>0,95), a niektóre stałe ekranowania nadal znacznie odbiegały od liniowej zależności. Weryfikacja przyjmująca jako kryterium ocenę linearności

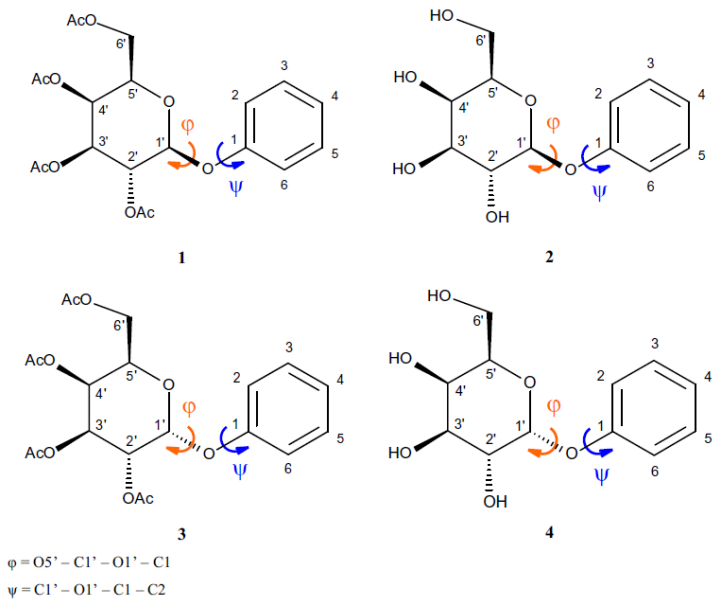
wykresu $\delta_{eksp}=f(\sigma)$ i R^2 okazała się niewystarczająca. Główną przyczyną było nieuwzględnienie oddziaływań międzymolekularnych, gdyż obliczenia DFT GIAO były wykonane dla izolowanej molekuły. Obecnie, coraz częściej stosowanym rozwiązaniem jest prowadzenie obliczeń dla całej komórki krystalograficznej (GIPAW), ale wymagają one długiego czasu. Niezbędny jest dostęp do danych krystalograficznych. Niestety, w przypadku wielu badanych przeze mnie związków tych danych nie było i nadal nie ma.

P. Wałejko, **K. Paradowska***, J. Bukowicki, St. Witkowski, I. Wawer
Phenyl galactopyranosides, ^{13}C CPMAS NMR and conformational analysis using genetic algorithm. Chemical Physics, 457 (2015), pp. 43–50

W ramach współpracy z Uniwersytetem w Białymstoku (Wydział Biologiczno-Chemiczny) powstały prace dotyczące pochodnych witaminy E [Załącznik nr 4 praca nr P5], troloksu oraz glikozydów (arylo-O-glikozydów). Ich różnorodne działania biologiczne czynią je atrakcyjnymi obiektami do badań strukturalnych oraz zachęcają do syntezy kolejnych pochodnych.

Zgodnie z panującą tendencją „powrotu do natury", w ostatnich latach wzrosło znaczenie związków polifenolowych, jako antyoksydantów obecnych w żywności ze względu na ich hydro- i lipofilowe właściwości. Obecnie, glikozydy fenylowe, a zatem i galaktozydy arylowe, są intensywnie badane. Na postawie stwierdzonego udziału cukrów w konkretnych systemach rozpoznawania molekularnego, postuluje się, iż łączenie węglowodanów z innymi związkami organicznymi z wytworzeniem wiązania glikozydowego, jest owocną koncepcją prowadzącą do nowego zastosowania leczniczego takich związków (ważne w projektowaniu leków). W celu zbadania ich funkcji biologicznych istotne jest posiadanie informacji dotyczącej struktury i oddziaływań molekularnych, szczególnie przy zastosowaniu metod modelowania molekularnego.

Przedmiotem badań były 4 związki, pary stereoizomerów α- i β-D-galaktopiranozydów, acetylowanych i z wolnymi grupami OH. Syntezę związków wykonano na Uniwersytecie w Białymstoku (rys. 2).



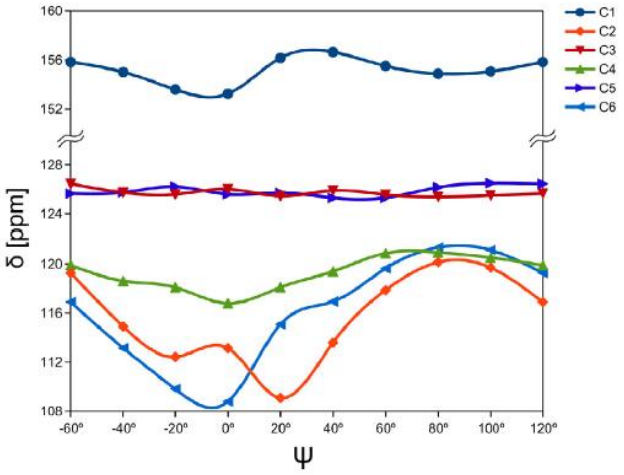
Rys. 2 Chemiczna struktura czterech badanych O-galaktozydów fenylowych z numeracją atomów.

Dla wszystkich ww. związków zarejestrowałam widma MAS NMR oraz wykonałam obliczenia teoretyczne. Ze względu na możliwość rotacji wokół wiązania glikozydowego, ważne było dokonanie przeszukania przestrzeni konformacyjnej. Do ww. przeszukiwania zastosowaliśmy kolejną, ulepszoną przez dr. J. Bukowickiego wersję programów wykorzystujących algorytm ewolucyjny o akronimie GAAGS.

Stosując GAAGS wykonano systematyczne przeszukiwanie przestrzeni konformacyjnej (Grid Search, GS) oraz szybkie przeszukanie wybranych obszarów z zastosowaniem algorytmu genetycznego (GA). Obliczenia pozwoliły na stworzenie map ilustrujących zależność energii potencjalnej od wartości kątów torsyjnych φ oraz ψ. Porównując otrzymane wyniki GA i GS okazało się, że oba sposoby prowadziły do otrzymania identycznych zestawów najbardziej korzystnych energetycznie struktur.

Struktura krystaliczna została wykonana tylko dla jednego związku (2,3,4,6-tetra-O-acetylo-β-D-galaktopiranozydu fenylu). Następnym etapem analizy konformacyjnej, było obliczenie stałych ekranowania dla wszystkich konformacji (oraz dla struktury krystalograficznej) za pomocą GIAO DFT oraz porównanie ich z eksperymentalnymi wartościami przesunięć chemicznych ^{13}C CPMAS NMR. Kryterium dopasowania stanowił R^2. Dodatkowo, dla jednego konformeru (2,3,4,6-tetra-O-acetylo-β-D-galaktopiranozydu fenylu) o najmniejszej energii, obliczono zależność przesunięć chemicznych atomów węgla w podstawniku fenylowym od wartości kąta torsyjnego ψ (C10'-O10'-C1-C2), w zakresie od -60° do +120° z rozdzielczością 20°. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, iż

wartości przesunięć chemicznych dla aromatycznych atomów węgla (w szczególności C2 oraz C6), są zależne od kąta torsyjnego w wiązaniu glikozydowym. Wartość przesunięcia chemicznego dla atomu C2 może być użyta jako wskaźnik położenia podstawnika fenylowego względem jednostki cukrowej (rys. 3).



Rys. 3. Zależność przesunięcia chemicznego aromatycznych atomów węgla tworzących glikozydowe połączenie (kąt skręcenia ψ) wyznaczone dla wybranego konformeru (dla 1B (4)).

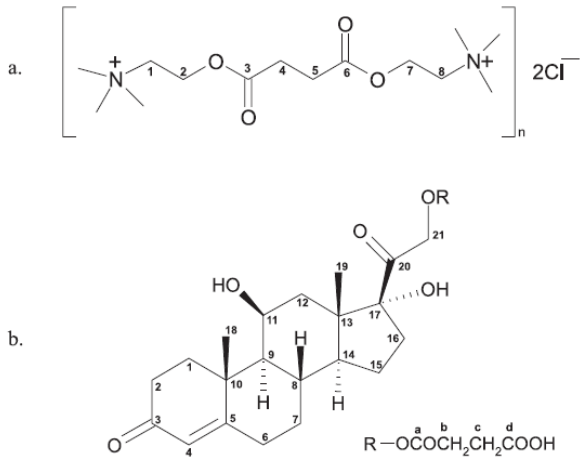
Eksperymentalne wartości przesunięć chemicznych ^{13}C CPMAS NMR oraz teoretycznie obliczone (GIAO DFT) stanowią dobre narzędzie badania konformacyjnej swobody galaktozydów fenylu. Zastosowanie algorytmu ewolucyjnego do analizy konformacyjnej znacząco skraca czas obliczeń. Teoretycznie, aby przeszukać całą przestrzeń konformacyjną zdefiniowaną dla siedmiu kątów torsyjnych, z rozdzielczością 20° dla pięciu z nich oraz 30° dla pozostałych, należałoby zbadać 125×9×18 = 40310784 struktur (pomijając konfigurację wiązania estrowego). Zakładając, że optymalizacja struktury na poziomie mechaniki molekularnej trwałaby 1 sek., czas potrzebny na zbadanie tak dużej liczby konformacji wyniósłby ok. 460 dni. Średni czas przygotowania mapy metodą GAAGS, na komputerze klasy PC wyposażonym w procesor Intel Celeron D to czas krótszy o 90%, bo ok. 2,5 dnia.

K. Paradowska, M. Wolniak, Z. Fijałek, I. Wawer*
Identification and analysis of drugs in the solid state by ^{13}C CPMAS NMR: suxamethonium chloride and hydrocortisonum (corhydron).
Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research zeszyt Nr 3/2008

W listopadzie 2006 media doniosły o poważnym błędzie, jaki popełniła jedna z polskich firm farmaceutycznych. W wyniku pomyłki w procedurze GMP, na rynek wypuszczone zostały fiolki zawierające inną substancję czynną. Zamiast hydrokortyzonu

(Corhydron, lek przeciwalergiczny) we fiolkach znalazł się chlorek suksametonium (substancja zwiotczająca mięśnie, stosowana podczas operacji chirurgicznych). Potwierdził to Narodowy Instyt Leków, którego dyrektorem wówczas był prof. Z. Fijałek, a całą partię leku Corhydron w dawce 250 mg natychmiast wycofano z rynku. W wyniku postępowania wyjaśniającego nakazano konieczne zmiany systemu logistycznego i kontroli jakości produkcji w firmie. Pojawiło się także pytanie na temat doboru odpowiednich metod analitycznych, które pozwoliłyby na szybką identyfikację produkowanych leków. Do charakterystyki substancji w fazie stałej w chemii i farmacji wykorzystuje się pomiar temperatury topnienia, różnicową kalorymetrię, spektroskopię w podczerwieni czy dyfrakcję promieniowania rentgenowskiego (XRD). Alternatywną metodą jest ssNMR, który może stanowić narzędzie charakteryzujące i weryfikujące substancje lecznicze w stanie stałym.

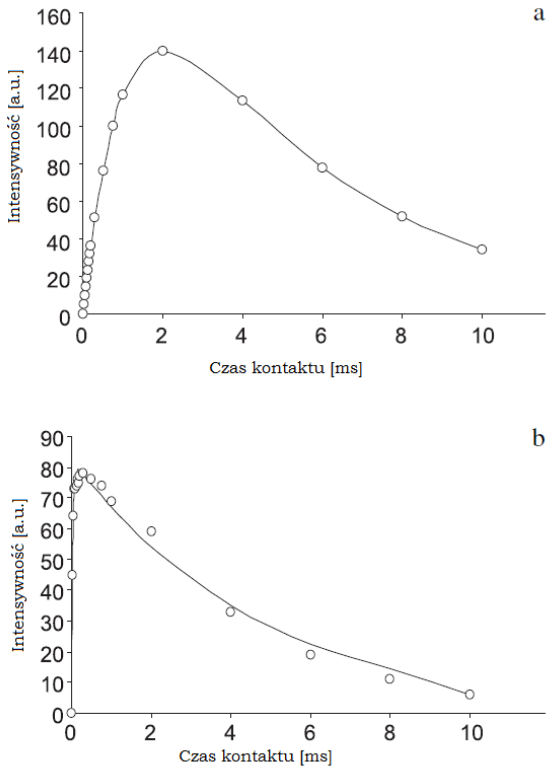
Chlorek suksametonium to biała substancja, bez zapachu i bardzo dobrze rozpuszczająca się w wodzie. Hydrokortyzon (Corhydron) w postaci bursztynianu, jest również biały i dobrze rozpuszcza się w wodzie. Obie te substancje (rys. 4) są więc trudne do odróżnienia w sproszkowanej postaci. Do określenia ich chemicznej struktury i odróżnienia w fazie stałej zastosowałam ssNMR, dotychczas nie używany w badaniach tych substancji.



Rys. 4 Struktury chlorku suksametonium (a) i soli hemibursztynianu hydrokortyzonu (b), z numeracją atomów węgla.

W widmie ^{13}C CPMAS NMR chlorku suksametonium zarejestrowanym z różnymi szybkościami wirowania (4-12 KHz) obserwujemy tylko pięć sygnałów rezonansowych, co sugeruje, że dwie jednostki acetylocholiny tworzące cząsteczkę mogą mieć taką samą geometrię i oddziaływania międzycząsteczkowe. Wartości przesunięcia chemicznego w ciele stałym zostały przypisane w oparciu o dane pochodzące z roztworu; zaobserwowane różnice

dotyczyły atomów węgla C=O (ok. 2 ppm dla suksametonium i ok. 3,0 - 3,5 ppm dla hydrokortyzonu). W widmie ^{13}C CPMAS NMR hydrokortyzonu wszystkie sygnały są poszerzone, co wskazuje, że badana próbka ma postać amorficzną, choć zazwyczaj związki steroidowe charakteryzuje postać krystaliczna. Wykonałam pomiary kinetyki polaryzacji skrośnej. Analiza wyznaczonych parametrów pomaga w przypisaniu sygnałów grupom funkcyjnym, umożliwia detekcję oddziaływań wewnątrz- i międzymolekularnych oraz wspiera badania strukturalne, w tym badania dynamiki molekularnej. Pomiary te miały również aspekt praktyczny: umożliwiły optymalny dobór parametrów rejestracji widm, tak aby wszystkie sygnały osiągnęły odpowiednią intensywność. Mogą one być również wykorzystane w analizie ilościowej. Szybki zanik intensywności sygnałów przy dłuższych czasach kontaktu pokazuje rysunek nr 5.



Rys. 5 Zależność intensywności sygnału od czasu kontaktu w widmie chlorku suksametonium: (a) C = O (I-S model) i (b) CH_2 (I-I * S model).

Podsumowując, widma ^{13}C CPMAS NMR hydrokortyzonu i sukcynylocholiny w ciele stałym są różne, chociaż oba związki zawierają w strukturze karbonylowe atomy węgla oraz grupy metylenowe. ^{13}C CPMAS NMR umożliwia szybką identyfikację substancji czynnej, nie wymaga też specjalnego przygotowania próbki. Pozwala potwierdzić czystość i stabilność

substancji powstających w trakcie procesu technologicznego. Zaletą techniki ssNMR jest jej nieniszczący charakter; próbka po wykonanym pomiarze, może być wykorzystywana do innych analiz, np. NMR w roztworze lub HPLC.

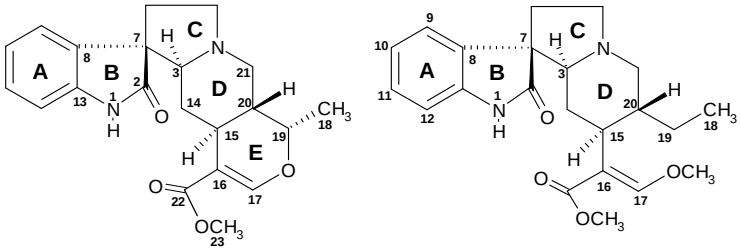
Powyższe badania potwierdzają skuteczność i celowość NMR w ciele stałym i jednoznacznie wykazują użyteczność metody jako narzędzia kontroli jakości dla przemysłu farmaceutycznego.

K. Paradowska, M. Wolniak, M. Pisklak, J.A. Gliński, M.H. Davey, I. Wawer*
^{13}C, ^{15}N CPMAS NMR and GIAO DFT calculations of stereoisomeric oxindole alkaloids from Cat's Claw (*Uncaria Tomentosa*)
Solid State Nuclear Magnetic Resonance 34 (2008), pp. 202-209

Standardową metodą w identyfikacji związków wyizolowanych z materiału roślinnego powinien być magnetyczny rezonans jądrowy. Jednak nie w każdym przypadku może być zastosowany. Przykładem jest *Uncaria tomentosa* (Una de gato, cat's claw), czepota puszysta, liana rosnąca w Amazonii. W Polsce ta roślina cieszy się szczególnym zainteresowaniem ze względu na działalność ojca Edmunda Szeligi, misjonarza w Peru. Książka pt. „Vilcacora leczy raka" obudziła nadzieję chorych na nowy lek roślinny. Niestety, jednocześnie zniechęcając do konwencjonalnego leczenia. Za efekt pozytywny można jednoznacznie uznać wzrost zainteresowania rośliną wielu ośrodków naukowych.

Początek prac badawczych mających na celu wyizolowanie i określenie biologicznie aktywnych składników przypada na lata 90. XX wieku. W ciągu następnych 10 lat w recenzowanych czasopismach naukowych ukazało się ponad 40 prac na temat składu chemicznego i właściwości farmakologicznych zawartych w niej substancji, a także jakości preparatów zawierających ekstrakt i ich toksykologii.

W składzie vilcacory zidentyfikowano ponad 50 związków biologicznie aktywnych, wśród których najważniejszą grupą są alkaloidy - związki o silnym działaniu fizjologicznym decydującym o ich zastosowaniu w farmacji i medycynie. W *Uncaria tomentosa* występują alkaloidy indolowe i oksoindolowe. Alkaloidy oksoindolowe dzieli się na tetracykliczne (rynchofilina i izorynchofilina) zawierające w cząsteczce cztery pierścienie oraz pentacykliczne (mitrafilina, pteropodyna, izomitrafilina, izopteropodyna, speciofilina, unkaryna F) zawierające pięć zamkniętych pierścieni. (rys. 6)



a. b.

Rys. 6 Struktura alkaloidów oksoindolowych a.) pentacyklicznych i b.) tetracyklicznych z numeracją atomów węgla

Alkaloidy pentacykliczne mają wpływ na układ immunologiczny i są uważane za korzystne, natomiast tetracykliczne działają na ośrodkowy układ nerwowy (OUN) i ich obecność w ekstrakcie nie jest wskazana. W środowisku naturalnym występują dwie odmiany Vilcacory różniące się składem alkaloidów. Określenie odmiany rośliny ma kluczowe znaczenie w procesie pozyskiwania surowca i jego obróbki farmaceutycznej. Absolutną stereochemię określono dla monokryształów z wykorzystaniem krystalografii rentgenowskiej dla dwóch alkaloidów: pteropodyny (unkaryna C: 7R, 20S) oraz izopteropodyny (unkaryna E, 7S, 20S) w roku 2001 (*Muhammad I, Khan IA, Fischer NH, Fronczek FR., Acta Crystallogr C. 2001; 57(Pt 4):480-2*), natomiast dla mitrafiliny, speciofiliny, uncaryny (D) i rynchofiliny w dwa lata później (*G. Laus, K. Wurst, Helv. Chim. Acta, 86 (2003) 181-187*). Pierwsza praca zawierająca widma NMR alkaloidów w roztworze, ukazała się 1993 (*Seki, A., Takayama, H., Aimi, N., Sakai, S.-I., Ponglux, D., 1993, Chem. Pharm. Bull. 41, 2077–2086*), druga dopiero osiem lat później (*Muhammad I, Dunbar DC, Khan RA, Ganzera M, Khan IA., Phytochemistry. 2001; 57(5):781-5*).

W 2003 roku w ramach współpracy z jedną z amerykańskich firm (Planta Medica, USA), otrzymałam do identyfikacji 7 próbek, były to związki wyizolowane (wykonali to J.A. Gliński i M.H. Davey) z kory *U. tomentosa*. Do identyfikacji zostały wykonane widma 1D ^{1}H oraz ^{13}C NMR w roztworze, widma korelacyjne 2D (COSY, HMQC, HMBC), a także ^{15}N NMR. Podczas akumulacji widm, stwierdzono, że alkaloidy ulegają izomeryzacji utrudniającej analizę związków. Dlatego do identyfikacji stereoizomerów zastosowałam NMR w fazie stałej. Były to pierwsze badania oksoindolowych alkaloidów z zastosowaniem techniki ^{13}C i ^{15}N CPMAS NMR. Wykonanie widm MAS NMR i ich analiza, a także wykonanie obliczeń stałych ekranowania pozwoliło na potwierdzenie przypisania sygnałów obecnych w widmie.

Otrzymane wartości przesunięcia chemicznego (δ_{CPMAS}) NMR w ciele stałym umożliwiły odróżnienie izomerów 7R/7S i 20R/20S. Diagnostyczne było przesunięcie chemiczne atomu

węgla C_3 i C_{20} (7S δC_3=70,0-71,0 ppm; 7R δC_3 =74,5–74,9 ppm; 20S δC_{20}=36,3 –38,3 ppm; 20R δC_{20}=41,3–41,7 ppm).

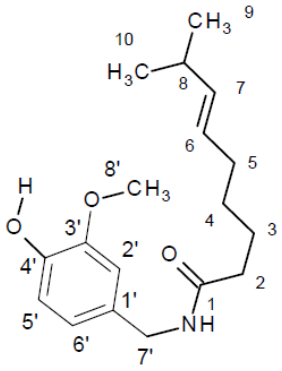
Różnice w wartościach przesunięcia chemicznego ^{13}C NMR między roztworem a ciałem stałym ($\Delta = \delta_{liquid} - \delta_{solid}$) wskazały na zmiany konformacyjne, a także różnice w oddziaływaniach międzycząsteczkowych - takich jak wiązanie wodorowe z udziałem N1-H i N4, OMe lub grupy karbonylowej obecne w ciele stałym. W cząsteczkach alkaloidów istnieje pięć potencjalnych akceptorów wiązania wodorowego i jeden donor wiązania wodorowego (N1-H). Wg danych krystalograficznych (XRD), grupa N1-H jest zaangażowana w międzycząsteczkowe wiązanie wodorowe we wszystkich związkach. Analiza danych ssNMR pozwoliła wykazać, iż akceptorem tego wiązania wodorowego nie jest grupa karbonylowa (Δ $\delta_{C2=O}$ <1ppm). Wartości Δ mogą być również wskaźnikiem sztywnych i labilnych fragmentów cząsteczki. Nie stwierdzono jednak istotnych zmian w wartościach przesunięć chemicznych chiralnych atomów węgla w cząsteczkach pentacyklicznych alkaloidów, co wskazuje, że te fragmenty struktury są sztywne. Na podstawie analizy obliczonych składowych anizotropowych i teoretycznych wartości przesunięcia chemicznego oraz wyznaczonych eksperymentalnie (PASS 2D) wykazano pewną zmienność konformacji pierścienia A, C i E w cząsteczce unkaryny E.

Aczkolwiek pentacykliczne izomery oksindolowe mogą być wiarygodnie identyfikowane na postawie wartości przesunięcia chemicznego ^{13}C CPMAS NMR, interesujące poznawczo okazało się zastosowanie ^{15}N MAS NMR. W roztworze, δN1 jest w zakresie 135.1- 136.9 ppm, podczas gdy δN4 od 54,6 do 64,8 ppm. Przesunięcie N4 różni się (8-10 ppm) dla izomerów typu *allo* (3S, 20S) w porównaniu do tych normalnego typu (3S, 20R), co upoważnia do wniosku, że ^{15}N MAS NMR może zostać użyty jako dodatkowe narzędzie do odróżniania stereoizomerów, pomimo tego, iż pomiary ^{15}N NMR dla niewzbogacanych związków są czasochłonne. Technika ta jest nieinwazyjna, a próbki mogą być dalej stosowane w badaniach biochemicznych. Wartości przesunięcia chemicznego ^{15}N MAS NMR dla alkaloidów oksondolowych zostały zmierzone po raz pierwszy.

P. Siudem, **K Paradowska*,** Jarosław Bukowicki
Conformational analysis of capsaicin using 13C, 15N MAS NMR, GIAO DFT and GA calculations
Journal of Molecular Structure, 1146 (2017), pp. 773-781

Interesującym alkaloidem stosowanym w farmacji jest kapsaicyna. Alkaloid ten, został wyizolowany w XIX wieku, opisany dopiero w XX wieku, jednakże jego właściwości

przeciwbólowe były wykorzystywane od stuleci. Obecnie, kapsaicyna jest stosowana zewnętrznie w różnych postaciach farmaceutycznych w celu łagodzenia bólu neuropatycznego, popółpaściowego, fibromialgii i reumatoidalnym zapaleniu stawów. W ostatnich latach sugeruje się, iż może hamować progresję nowotworów. Kapsaicyna (Rys. 7) posiada mniej niż 5 donorów wiązań wodorowych, mniej niż 5 akceptorów wiązań wodorowych, masę molową mniejszą niż 500 Da oraz wartość logP mniejszą niż 5 (3,53), co oznacza, że związek ten spełnia regułę Lipińskiego (*Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney, P. J. 2012. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Advanced Drug Delivery Reviews 64: 4-17*) i zgodnie z tym twierdzeniem może wykazywać aktywność biologiczną.

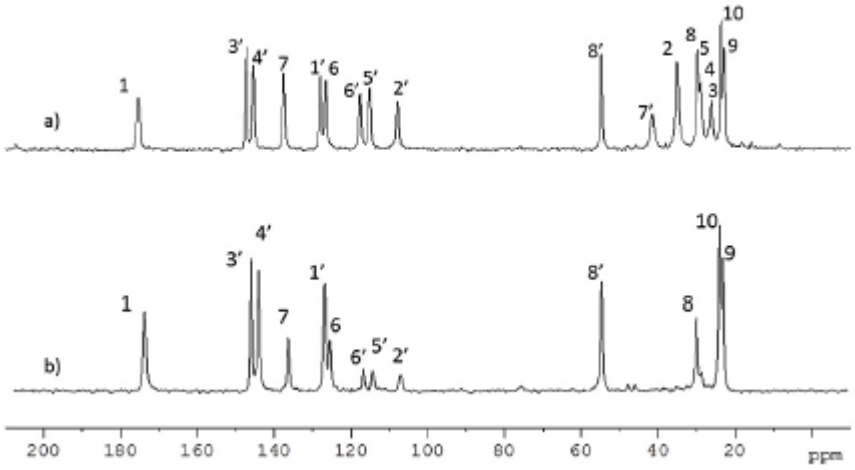


Rys. 7 Wzór kapsaicyny z numeracją węgli

Kapsaicyna (rys. 7) składa się z hydrofilowego pierścienia aromatycznego, dipolarnego amidu i hydrofobowego oktylowego łańcucha bocznego. Cząsteczki alkaloidu, jak i kapsułki, z jego zawartością badano z wykorzystaniem ^{1}H i ^{13}C NMR w roztworze (*V. Gómez-Calvario, M.L. Garduno-Ramírez, I. León-Rivera, M.Y. Rios, 1H and 13C NMR data on natural and synthetic capsaicinoids, Magn. Reson. Chem. 54 (2015), pp. 268-290*), lecz dane NMR w stanie stałym dotyczące kapsaicyny zostały opublikowane po raz pierwszy w tym artykule.

W analizie konformacyjnej alkaloidu połączono możliwości badawcze trzech metod. Zastosowano ^{13}C i ^{15}N MAS NMR, algorytm genetyczny (GA) oraz metody obliczeniowe (GIAO DFT). Dodatkowo, widma ^{13}C CPMAS NMR rejestrowałam stosując zmienny czas kontaktu oraz eksperymenty z filtrem dipolowym. Interpretacji widma ^{13}C CPMAS (rys. 8a) dokonałam na podstawie wartości przesunięć chemicznych w roztworze, widm ssNMR zarejestrowanych z filtrem dipolowym (rys. 8b) oraz szeregu eksperymentów ze zmiennym czasem kontaktu.

Zaobserwowane różnice między wartościami przesunięcia chemicznego w ciele stałym a roztworem były znaczące i wynosiły od 1,6 ppm do 3,3 ppm, szczególnie dla węgli pierścienia aromatycznego (C1', C2', C6') oraz węgla C7'. Wzrost przesłaniania atomu węgla C2' i C6' o około 3ppm w ciele stałym wskazuje na istnienie przeszkody sterycznej. Różnice te odzwierciedlają istnienie swobodnej rotacji wokół wiązania C1'-C7' w roztworze, która w ciele stałym jest zahamowana i ten efekt wart był szczegółowych analiz teoretycznych. Znaczącą różnicę, ok. 2,4 ppm, zaobserwowano również dla węgla C8, wskazując na zmiany konformacyjne w końcowym fragmencie łańcucha alkilowego

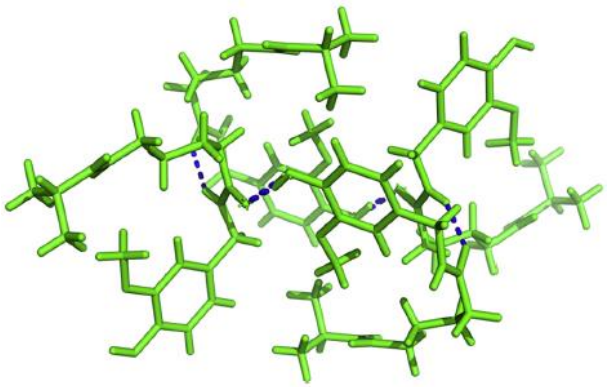


Rys. 8 Widma ^{13}C CPMAS NMR kapsaicyny a) stanardowe b) z filtrem dipolowym (opóźnienie 60 μs, czas kontaktu 2ms)

Pierwszym założeniem było, że łańcuch alkilowy kapsaicyny ma inną konformację w ciele stałym, a inna dominuje w roztworze (wygiętą w ciele stałym i rozciągniętą w roztworze). Na zmianę wartości przesunięcia chemicznego węgla karbonylowego mają wpływ np. wiązania wodorowe typu N-H…O=C i/lub OH…O=C w fazie stałej, podczas gdy w roztworze ($CDCl_3$) można oczekiwać tylko słabych interakcji z rozpuszczalnikiem. Wartość przesunięcia chemicznego dla węgla karbonylowego (C1=O) w roztworze wynosi 174,0 ppm, a w ciele stałym o 1,6 ppm więcej (175,6 ppm), co wskazuje, że ta grupa w ciele stałym jest zaangażowana w oddziaływania molekularne. Sygnały od grup metylowych (C9 i C10) wykazują taką samą wartość przesunięcia chemicznego w roztworze (22,78 ppm), podczas gdy w widmie ^{13}C CPMAS NMR są wyraźnie rozdzielone. Widmo z filtrem dipolowym (Fig. 9) wyraźnie pokazuje oddzielne sygnały, a ich niesymetryczna intensywność wynika z różnych oddziaływań dipolarnych ^{1}H-^{13}C. W widmie tym również obserwujemy dużą intensywność sygnału od węgla CH (C8), co oznacza, że cała końcowa część alifatycznego łańcucha jest poddawana szybkiemu obrotowi (prawdopodobnie wokół

wiązania C7 - C8). Wydaje się więc, że cząsteczka kapsaicyny w fazie stałej jest niesztywna, ale wykazuje dynamikę wewnątrzmolekularną. Informacje o zablokowanych lub mobilnych fragmentach można otrzymać z badań kinetyki polaryzacji skrośnej, rejestrując serię widm ze zmiennym czasem kontaktu. Parametry kinetyki CP analizowano według podejścia zaproponowanego przez Kołodziejskiego i Klinowskiego (*W. Kolodziejski, J. Klinowski; Kinetics of Cross-Polarization in Solid-State NMR: A Guide for Chemists; Chem. Rev., 2002, 102 (3), pp 613–628*). Analiza wyników pokazała, że dwie grupy metylowe (rotujące), charakteryzują się nieco dłuższym T_{1r} H dla C9 (100 - 200 ms). Potwierdza to, że cząsteczka kapsaicyny jest dość mobilna, zwłaszcza w części łańcucha alifatycznego.

Zarejestrowane widmo ^{15}N MAS NMR wykazało jeden wąski sygnał przy δ 255 ppm, jest to typowa wartość przesunięcia chemicznego dla azotu obecnego w aromatycznych i alifatycznych amidach w roztworze. Obecność grupy amidowej i hydroksylowej w pierścieniu aromatycznym umożliwia tworzenie się wiązań wodorowych typu OH…O=C. Interakcje te zmieniają wartość przesunięcia chemicznego C=O, jak to obserwuje się w widmie ^{13}C MAS NMR, ale powstanie wiązania NH…O=C powinno mieć również wpływ na wartość przesunięcia chemicznego azotu (δ, ^{15}N). Efekt utworzenia wiązania wodorowego w widmie ^{15}N NMR oszacowano na ok. 8 ppm (*X.P. Xu, D.A. Case, Probing multiple effects on 15N, 13Cα, 13Cβ, and 13C' chemical shifts in peptides using density functional theory, Biopolymers 65(6) (2002), pp. 408-423*). Konformację jednej wyizolowanej cząsteczki (z PWXRD) zastosowano do skonstruowania asocjatu czterech cząsteczek powiązanych wiązaniami wodorowymi typu OH…O=C (Rys. 9).



Rys. 9 Struktura tetrameru kapsaicyny z możliwymi wiązaniami wodorowymi (pole siłowe MMFF94, geometria PWXRD).

Wąski, pojedynczy sygnał w widmie ^{15}N MAS NMR wskazuje na niewystępowanie kilku form polimorficznych, co potwierdzają również widma ^{13}C MAS NMR.

Algorytm genetyczny (GA) z wieloetapową optymalizacją wykorzystano do znalezienia konformacji kapsaicyny o niskiej energii. Analiza konformacyjna sugeruje, że łańcuch boczny może być wygięty lub wydłużony. Porównanie danych doświadczalnych i obliczeń wartości przesunięć chemicznych jednoznacznie wskazuje, że kapsaicyna w fazie stałej nie ma tej samej struktury, co ustalona na podstawie wyników otrzymanych z PWXRD (*W.F. David, Routine determination of molecular crystal structures from powder diffraction data, Chem. Commun. 8 (1998), pp. 931-932*). Próba ustalenia struktury w ciele stałym z wykorzystaniem metod ssNMR i metod chemii obliczeniowej (GIAO DFT, algorytm genetyczny) może być więc wartościowym wkładem w badania strukturalne tego alkaloidu oraz innych potencjalnych ligandów receptora TRPV1.

K Paradowska*, A. Zielińska, M. Kuras, I. Wawer
The composition of bee pollen color fractions evaluated by solid-state 1H and 13C NMR, their macroelement content and antioxidant properties
Journal Apicultural Research (2017)

Produkty pszczele: miód, mleczko pszczele, propolis czy pyłek pszczeli są od dawna uznawane w profilaktyce i terapii wielu schorzeń. Pszczeli pyłek kwiatowy, inaczej nazywany obnóżami pszczelimi, zawiera wiele ważnych dla zdrowia człowieka substancji odżywczych. Podstawowymi składnikami pyłku są: węglowodany, błonnik, białko oraz lipidy. Stanowi on bogate źródło aminokwasów endogennych i egzogennych, oraz nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych. Procentowa zawartość tych związków zależy od kilku czynników: pochodzenia gatunkowego, pochodzenia geograficznego, warunków klimatycznych, rodzaju gleby.

Zgodnie z europejskimi przepisami wszelkie oświadczenia dotyczące zdrowia lub korzyści żywieniowych produktu żywnościowego muszą być wspierane przez badania naukowe (*dyrektywa Rady UE, 2006*). W celu połączenia właściwości biologicznych ze szczególnymi związkami lub grupą związków, wymagane jest szczegółowe rozpoznanie składników chemicznych. Ponieważ pyłek pszczeli jest tylko częściowo rozpuszczalny w wodzie lub rozpuszczalnikach organicznych, NMR w stanie stałym może być bardzo użyteczny w jego badaniu. Warto stwierdzić, że o ile nam wiadomo, jest to pierwsze badanie pyłków pszczół metodą NMR w ciele stałym.

Celem pracy była ocena składu i działania przeciwutleniającego pyłków pszczelich. Materiał do badań został pozyskany od polskiej firmy z długą tradycją produkcji tego produktu. Źródłami roślinnymi były gryka (*Fagopyrum esculentum Mocha*) i rzepak

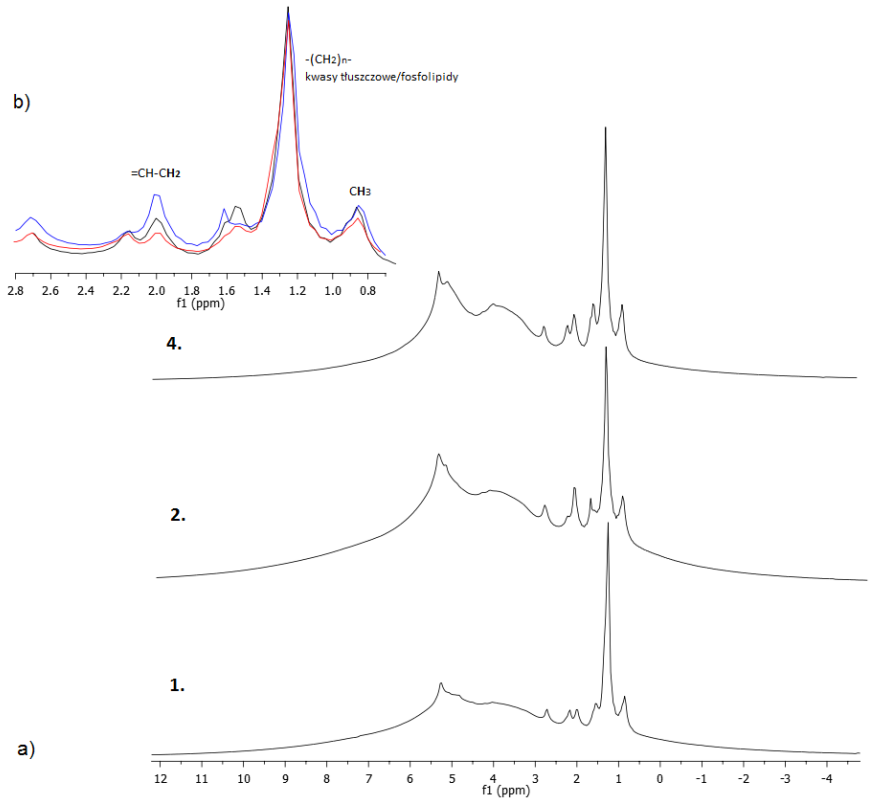
(*Brassica napus L. var. Napus*). Granulki pyłków różniły się kolorem i zostały rozdzielone na frakcje barwne pod mikroskopem optycznym, w efekcie otrzymano siedem próbek.

Całkowitą zawartość związków polifenolowych określono na podstawie techniki opisanej Farmakopei Europejskiej edycja V. Całkowitą zawartość flawonoidów zmierzono zgodnie ze sposobem opisanym przez Kim (*D. Kim; SW. Jeong; CY. Lee, Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. Food Chemistry, United Kingdom, v. 81, n. 3, p. 321-326, 2003*). Do określania zdolności przeciwrodnikowych szeroko stosowaną metodą jest test z wykorzystaniem trwałego rodnika 2,2-difenylopikrylohydrazylu (DPPH). Zazwyczaj stosuje się pomiar absorpcji UV-Vis, ale na wyniki mogą wpływać obecność innych składników absorbujących, a także zmiany w przezroczystości próbki. Z tego powodu, wybór metody spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego jest bardziej celowy (*D. Sanna, G. Delogu, M. Mulas, M. Schirra and A. Fadda, "Determination of Free Radical Scavenging Activity of Plant Extracts through DPPH Assay: An EPR and UVVis Study," Food Analytical Methods, Vol. 5, No. 4, 2012, pp. 759-766*). Pojemność antyoksydacyjną oznaczono również metodą spektrofluorymetryczną ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), którą przeprowadzono metodą Ou i in. (*Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(10), 4619-4626*) oraz metodą FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power Assay*) zgodnie z procedurą (*Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. Analytical Biochemistry, 239(1), 70-76*). Pyłek rzepakowy odznaczał się znacznie większą ilością polifenoli i flawonoidów, a także wyższymi zdolnościami przeciwutleniającymi mierzonymi za pomocą trzech metod: DPPH, FRAP i ORAC.

W celu analizy składu próbek pyłku zarejestrowałam widma ^{13}C CPMAS NMR, które wykazały obecność węglowodanów (w tym polimerów), lipidów, polifenoli i aminokwasów. Sygnały pochodzące od polifenoli nie są widoczne we wszystkich widmach ^{13}C CPMAS. Jest to związane ze zbyt małym stężeniem tych związków, w porównaniu z cukrami. Jednak sygnały w przedziale 120-160 ppm świadczą o obecności aromatycznych węgli związków polifenolowych, takich jak katechiny, procyanidyny i wyższych polimerów, a także antocyjanów (próbka fioletowa nr. **7**). Sygnały od aromatycznych węgli C-OH (czwartorzędowych) polifenoli w ok. 155 ppm są słabe w standardowych widmach ^{13}C CPMAS z powodu długiego czasu relaksacji; sygnały aromatycznych węgli CH występują

przy 118 ppm. Oba typy sygnałów są widoczne w widmach próbek **2**, **5** i **7** zawierających ilości polifenoli powyżej 20 mg/g, ale nie widać ich w widmie **1** (tylko 4,4 mg/g polifenoli).

W widmach ^{1}H MAS NMR dla wszystkich próbek pyłku dominowały sygnały pochodzące od mobilnych lipidów i wody. Intensywne wąskie sygnały w zakresie 1-3 ppm wynikają z obecności protonów grup –$(CH2)_n$ z długich łańcuchów lipidowych i grup – CH_3 (rys. 10a).



Rys. 10 Widma ^{1}H MAS NMR trzech frakcji pyłków pszczelich nr 1,2 i 4: a) standardowe widma, b) zakres 0,8-2,8 ppm (czarna linia - **1**, linia czerwona - **2** i niebieska linia - **4**).

Warto podkreślić, że widma ^{1}H MAS różnią się w zakresie 1,4-2,8 ppm, gdzie występują sygnały grup $=CHCH_2$, $–CH_2-CH_2-$ $(CH_2)_n$ i $–CH=CH-CH_2-CH=CH-$. Można to zaobserwować na rozszerzonym fragmencie widma (rys. 11b). Sygnał 5,3-5,4 ppm, występujący jako dublet (rys. 10a), pochodzi z grup CH=CH nienasyconych kwasów tłuszczowych. Znana jest dynamika łańcucha alifatycznego kwasów tłuszczowych, obrót wokół pojedynczych wiązań, jak również ruch cząsteczek w podwójnej warstwie tworzącej ściany komórki lub kropelkach lipidów. Te ruchy są odpowiedzialne za zwężenie sygnałów rezonansowych. Widma MAS NMR potwierdziły obecność lipidów, cukrów i różnych ilości wody. Wyniki wskazują, że spektroskopia ^{1}H i ^{13}C MAS NMR jest metodą bardzo przydatną w scharakteryzowaniu różnych typów pyłków pszczelich.

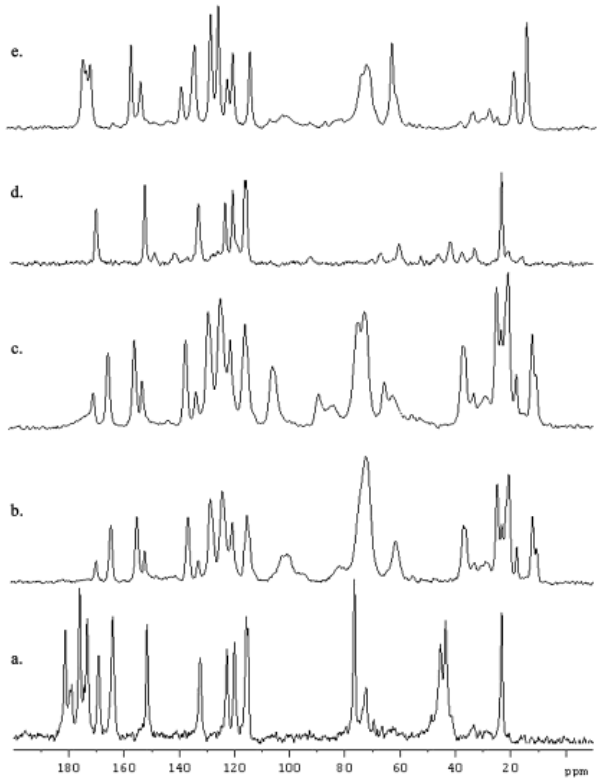
K. Paradowska, I. Wawer* – review
Solid-state NMR in the analysis of drugs and naturally occurring materials.
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 93 (2014), pp. 27-42

W pracy przeglądowej opisano techniki magnetycznego rezonansu w ciele stałym (ssNMR) najczęściej stosowane w przemyśle farmaceutycznym i do badań biomedycznych. Przedstawione zostały zalety metody oraz jej wady, ale przede wszystkim jej liczne możliwości w zastosowaniu do substancji i produktów naturalnych. MAS NMR dostarcza informacji strukturalnej dla proszków krystalicznych i amorficznych, dla których nie można uzyskać struktury XRD. Z odpowiednio zarejestrowanych widm MAS NMR można uzyskać wyniki ilościowe, choć nie daje ich standardowe widmo NMR. Dokonanie pomiaru techniką MAS-NMR wymaga znacznej ilości próbki proszku (2-100 mg), aby wypełnić 1,3-7 mm rotor z ZrO_2. Jest to główną wadą tej techniki, gdyż naturalne związki izolowane z roślin, mikroorganizmów lub hodowli komórkowych, są trudne do uzyskania w ilościach większych niż kilka miligramów. W analizie rutynowo używa się ^{13}C NMR, rzadziej ^{1}H, ^{15}N, ^{19}F, ^{31}P, ^{77}Se, ^{29}Si i in. Artykuł koncentruje się na zastosowaniach farmaceutycznych ssNMR, tj. kontroli procesów produkcyjnych, badaniu chemicznej i fizycznej stabilności stałych form zarówno czystej substancji leczniczej, jak i finalnego produktu. NMR w fazie stałej jest często stosowany w połączeniu z innymi metodami analitycznymi (DSC, XRD, FT-IR). Badania z użyciem ssNMR dostarczają cennych informacji strukturalnych o takich bioaktywnych związkach jak aminokwasy i małe peptydy, steroidy, alkaloidy, flawonoidy. Szeroki jest też obszar zastosowania ssNMR w badaniach produktów naturalnych, takich jak białka, celuloza, czy lipidy.

Ilustrując zastosowania magnetycznego rezonansu jądrowego w ciele stałym, wykorzystałam wyniki własnych badań, zaczynając od analizy zbioru danych w postaci widm leków z użyciem metod chemometrycznych (rys. 11).

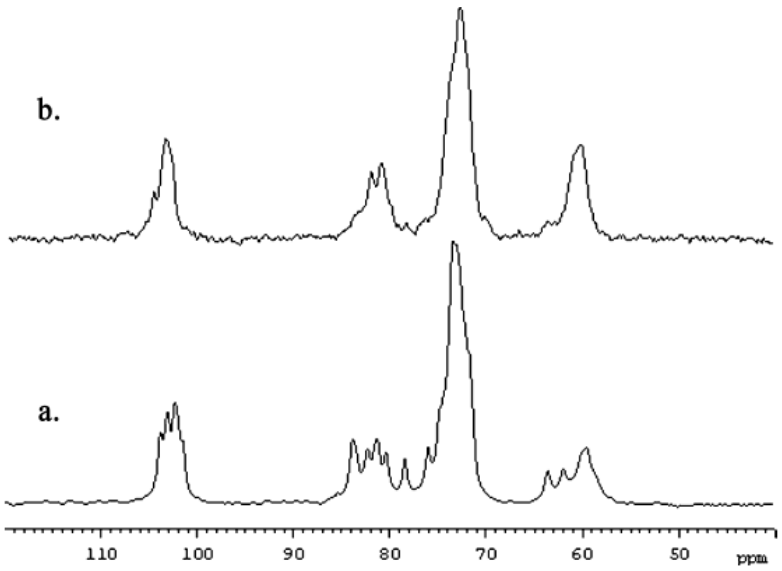
Zarejestrowałam widma ^{13}C CPMAS NMR dla 13 leków zawierających acetaminofen, ośmiu zawierających kwas acetylosalicylowy (aspirynę), czterech kwas askorbinowy, trzech z ibuprofenem i kilka z innymi substancjami. Sygnały acetaminofenu były wyraźnie widoczne w widmie leku zawierającego 500 mg tego związku (i kodeinę). Istotne było dobranie odpowiedniej metody analizy tego zbioru danych eksperymentalnych, czyli widm NMR. Otrzymany zestaw 32 widm wymagał podejścia wielowymiarowego - chemometrii. Zastosowałam cząstkową metodę najmniejszych kwadratów z liniową analizą dyskryminacyjną (ang. Partial least squares discriminant analysis, PLS-DA), a przeprowadzenie analizy głównych składowych (ang. principal component analysis, PCA)

pozwoliło na utworzenie 2 klastrów, jednego zawierającego leki z acetaminofenem, a drugiego bez tego związku. Tylko 2 próbek nie udało się poprawnie sklasyfikować, co można uznać za sukces. Ww. wyniki wykazują, że można skonstruować dobrze funkcjonujący model PLS-DA nawet dla małego zestawu danych (załącznik nr 4, pozycja: P22).



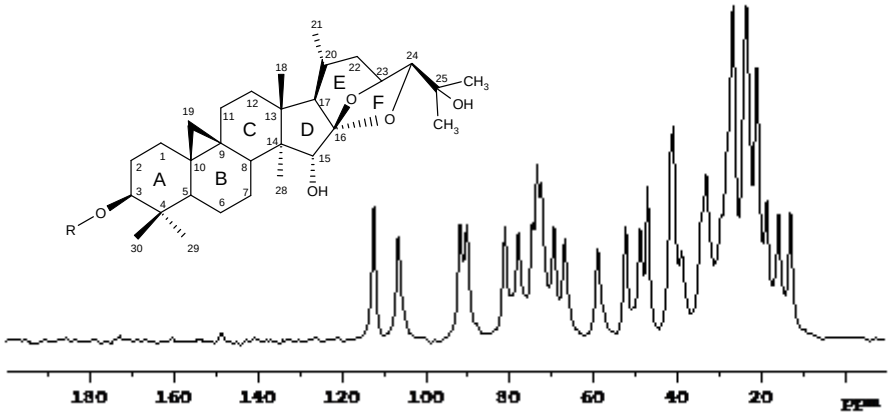
Rys 11. Widma ^{13}C CPMAS NMR dla czterech preparatów farmaceutycznych zawierających paracetamol: (a) Solpadeine (b) Cefalgin (c) Saridon (d) Talvosilen forte, oraz preparatu zawierającego kwas salicylowy: (e) Etopiryna.

Jednym z warunków biodostępności leków i innych bioaktywnych substancji jest ich rozpuszczalność - można ją zwiększyć podając je w postaci kompleksu z cyklodekstryną (CD). Kompleksy CD z kwasami tłuszczowymi nazwano nawet „lipidami rozpuszczalnymi w wodzie", mają one wiele zastosowań w produktach spożywczych. Analizy widm ssNMR kompleksów CD z kwasem linolenowym (LA) dowodzą, że stosunek CD:LA=1:2 (1:3); CD oddziaływuje z hydrofobowym łańcuchem kwasu, a tworzenie wiązań wodorowych zależy od wewnętrznej średnicy CD (rys 12).



Rys 12. Widma ^{13}C CPMAS NMR: (a) kompleksu cyklodekstryny (α-CD) z kwasem linolowym (LA) w stosunku 1: 3 i (b) czystej cyklodekstryny (α-CD).

Preparatem ziołowym często stosowanym do zmniejszania nieprzyjemnych objawów menopauzy jest ekstrakt z pluskwicy (*Actaea racemosa* L., *Cimicifuga racemosa* L.). Za efekty farmakologiczne prawdopodobnie odpowiedzialne są zawarte w niej glikozydy triterpenowe, dotychczas słabo scharakteryzowane. Sześć znanych związków i jeden nowy glikozyd wyizolowano z ziela pluskwicy identyfikując je przy pomocy ^{1}H, ^{13}C NMR, spektroskopii IR i Ramana (badanie w ramach doktoratu dr M. Jamróz). Do analizy struktury w fazie stałej wykorzystałyśmy NMR w fazie stałej wspierany obliczeniami stałych ekranowania, co potwierdziło poprawność przypisania sygnałów w widmach, zwłaszcza dla nowego glikozydu triterpenowego (rys. 13).



Rys. 13. Widma ^{13}C CPMAS dla ksylozydu cimigenolu

Duże znaczenie w farmacji mają syntetyczne pochodne celulozy z podstawnikami: metylowym, etylowym czy propylowym, np. hydroksypropyloceluloza (HPMC). NMR w fazie stałej jest doskonałym narzędziem do potwierdzenia identyczności, czystości oraz krystaliczności/amorficzności tych materiałów. Widma ssNMR pokazują szerokie sygnały amorficznej hydroksypropylocelulozy i wąskie, dobrze rozdzielone sygnały (C4 przy 88.7 ppm, C6 przy 64.9 ppm) dla frakcji krystalicznej. Podobnie, w widmach krystalicznej celulozy sygnały są wąskie i można je łatwo odróżnić od domieszki materiału amorficznego dającej szerokie sygnały (C4 przy 83.6 ppm, C6 przy 62.8 ppm).

Omówiona praca przeglądowa, opublikowana w *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* w 2014 roku (H.6), zawiera aktualne kompendium możliwości zastosowania MAS NMR. O potrzebie stworzenia takiego opracowania świadczy fakt, iż w ciągu trzech lat od publikacji on-line praca ta była często cytowanym artykułem (wg Web of Science 14, a według bazy Scopus 17). Pokazuje to również, że NMR w fazie stałej jest cenną metodą w badaniach struktury związków bioaktywnych, a prowadzone przeze mnie prace obejmują wiele substancji ważnych dla farmacji fizycznej oraz dla przemysłu farmaceutycznego.

Podsumowanie

W pracach powstałych na podstawie badań eksperymentalnych i stanowiących podstawę do wniosku habilitacyjnego wykazałam, że:

1. Metoda NMR w ciele stałym w połączeniu z obliczeniami teoretycznymi, które są wsparciem w analizie widm, tworzy bardzo użyteczny zestaw narzędzi w badaniach strukturalnych układów molekularnych, szczególnie gdy dane rentgenostrukturalne są niedostępne. Połączenie tych technik pozwala określić wpływ otoczenia chemicznego oraz zmian konformacyjnych na przesunięcie chemiczne NMR, opisujące położenie sygnału w widmie.

2. Magnetyczny rezonans jądrowy w ciele stałym (^{13}C CPMAS NMR) jest skutecznym narzędziem weryfikującym wybór optymalnej konformacji wyznaczonej z użyciem algorytmów genetycznych (GA i GAAGS).

3. W badaniach flawonoidów: analiza eksperymentalnych parametrów NMR oraz obliczonych stałych ekranowania pozwala ustalić optymalny kąt między pierścieniami A/C i

pierścieniem B (kąt obrotu pierścienia B). Odległość sygnałów atomów węgla C2' i C6' ma znaczenie diagnostyczne podczas określania wzajemnego ułożenia pierścieni aromatycznych.

4. Do identyfikacji stereoizomerów alkaloidów wyizolowanych z *Uncaria tomentosa* warto zastosować NMR w fazie stałej, głównie z uwagi na ich izomeryzacje w roztworze. Na podstawie wartości przesunięcia chemicznego NMR w ciele stałym jest możliwe odróżnienie izomerów 7R/7S i 20R/20S. Były to pierwsze badania oksoindolowych alkaloidów z zastosowaniem techniki ^{13}C i ^{15}N CPMAS NMR.

5. Eksperymentalne dane ^{13}C CPMAS NMR oraz ^{1}H MAS NMR mogą być użyte do weryfikacji teoretycznych obliczeń dla modelowych kompleksów i wyboru struktury najbardziej zgodnej z eksperymentem. Zaproponowana została oktaedryczna struktura kompleksu kwercetyny z jonem (Al^{+3}) w centrum oraz jonem chlorkowym i cząsteczką wody.

6. Zarejestrowałam ^{13}C NMR w fazie stałej dla 17 związków należących do różnych grup (flawonoidy, cukry, alkaloidy) i przeprowadziłam pełną analizę danych spektroskopowych. Uzyskane przeze mnie dane (wartości przesunięcia chemicznego, δ_{CPMAS}) stanowią bazę dla identyfikacji i określania struktury tych substancji otrzymanych na drodze syntezy lub wyizolowanych z materiału roślinnego.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1 Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

Po uzyskaniu tytułu magistra na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego rozpoczęłam pracę w Zakładzie Chemii Fizycznej WUM. Równolegle z pracą dydaktyczną na stanowisku asystenta prowadziłam prace badawcze, których wyniki w 2007 roku zostały przedstawione w pracy doktorskiej. Techniką stosowaną w badaniach był magnetyczny rezonans jądrowy i modelowanie molekularne, a przedmiotem badań były sacharydy i ich pochodne. Eksperymentalne metody spektroskopowe wspierałam metodami chemii kwantowej. Takie podejście zastosowałam również do innych badanych związków chemicznych w ramach współpracy z Wydziałem Chemii UW, Wydziałem Chemii UwB, a także z macierzystymi jednostkami WUM.

Bilans tych osiągnięć obejmuje: 9 publikacji [załącznik nr 4, prace P1, P4, P6, P9, P11, P14, P15, P19, P21] o łącznym wskaźniku oddziaływania IF=15,269.

5.2 Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych.

Po uzyskaniu stopnia doktora tematykę badawczą kontynuowałam, poszerzając zarówno zakres badanych substancji o inne bioaktywne związki, jak i stosowane w tych badaniach metody. Nadal jednak wiodącą metodą wykorzystywaną przeze mnie w badaniach jest magnetyczny rezonans jądrowy.

Od kilku lat, moje zainteresowania skupiają się także na badaniu profilu substancji aktywnych w mieszaninach (ekstraktach roślinnych) bez ich rozdzielania na frakcje czy poszczególne związki. Zasadniczym celem badań jest opracowanie szybkiej metody weryfikacji jakości surowca ze względu na zawartość pojedynczego, bioaktywnego związku i poszczególnych grup substancji oraz badanie ich zmienności w surowcu roślinnym zależnej od, np. miejsca i warunków ich wegetacji. Inspirację dla mnie stanowiły opublikowane wyniki badań wskazujące perspektywy jakie stwarza wykorzystanie NMR w diagnostyce medycznej, tj. widma NMR płynów ustrojowych (moczu, surowicy i plazmy krwi, płynu nasiennego), czyli badania metabolitów pochodzących z organizmu ludzkiego (metabolomika). Tworzenie profili chemicznych surowców roślinnych, produktów leczniczych i środków spożywczych jest nowym podejściem do oceny ich jakości. Ideą zastosowania metod spektroskopowych (widm NMR i IR) w analizie jest stworzenie swoistego „odcisku palca” (ang. fingerprint) charakterystycznego dla surowca. Jest to złożony problem, ale podejście takie daje duże korzyści praktyczne, gdyż umożliwia szybkie rozpoznanie danego surowca.

Wykorzystanie widm ^{1}H NMR w analizie złożonych mieszanin (soków, win, piwa czy olejów), w tym także ekstraktów roślinnych i tradycyjnych leków, zainspirowało mnie do podjęcia badań w celu ustalenia profilu cukrów wybranych miodów i ziołomiodów z wykorzystaniem, m. in. NMR [załącznik nr 4 praca P24].

Dysponując własną bazą danych wartości przesunięcia chemicznego w roztworze i w ciele stałym dla serii alkaloidów mogłam podjąć prace związane z określeniem zawartości tych alkaloidów w materiale roślinnym. Rabunkowa eksploatacja roślin ze stanowisk naturalnych w celu pozyskiwania ekstraktów do produktów sprzedawanych na całym świecie, spowodowała znaczące zmniejszenie populacji niektórych gatunków, np. w Amazonii. W celu ochrony gatunków i bioróżnorodności, w wielu krajach, m.in. w Peru, zakładane są plantacje roślin leczniczych. W ramach współpracy z uniwersytetami peruwiańskimi prowadzę wraz z zespołem badania nad profilem alkaloidów obecnych w materiale pozyskanym z plantacji *Uncaria tomentosa* w celu określenia optymalnych warunków i technologii upraw.

Prowadzę również badania innego surowca roślinnego z tego rejonu, tj. kory chinowca, kiedyś źródła chininy ważnej w terapii malarii. Gatunek chinowca występujący w Peru, *Geissospermum reticulatum,* jest słabo przebadany fitochemicznie. Pierwsze wyniki prac zostały zawarte w publikacji nr P31 oraz stanowiły temat kilku komunikatów konferencyjnych [załącznik nr 4, pozycje: P34, P37]. *Geissospermum reticulatum* jest przedmiotem badań realizowanych w ramach doktoratu mgr J. J. Sajkowskiej-Kozielewicz, w którym jestem promotorem pomocniczym.

Aktualnie jestem uczestnikiem projektu badawczego, którego celem jest ustalenie zakresu zmienności stężeń bioaktywnych związków polifenolowych obecnych w owocach aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa*), a następnie oceny wpływu tych związków na organizm człowieka. Skład chemiczny soku czy suchego ekstraktu zależy od miejsca i terminu zbioru owoców oraz technologii produkcji. Poznanie profilu wtórnych metabolitów owoców aronii na podstawie widm NMR jest jednym z etapów badań prowadzonych w Zakładzie Chemii Fizycznej w ramach grantu NCN OPUS 9 nr. umowy–UMO-2015/17/B/NZ7/03089.

Kontynuuję także badania związane z określeniem bioaktywnej konformacji związków w ciele stałym z zastosowaniem magnetycznego rezonansu jądrowego.

Jestem autorką i współautorką 49 prac opublikowanych w punktowanych czasopismach (IF i/lub MNiSW) oraz w materiałach konferencyjnych, 1 pracy przeglądowej oraz 14 artykułów popularno-naukowych (załącznik nr 6). Wyniki prowadzonych przeze mnie badań były regularnie przedstawiane na konferencjach krajowych i zagranicznych w łącznej liczbie 44 (w tym 15 wykładów wygłosiłam osobiście). Łączny współczynnik oddziaływania (*Impact Factor* (IF)) moich 33 indeksowanych przez Web of Science prac wynosi 61,711, licząc na rok ich opublikowania. Łączna suma punktów MNiSW dotychczas uzyskanych wynosi 868. Odpowiada to w przeliczeniu na Indeks H (Hirscha) wartości 10 i liczbie cytowań (bez autocytowań) 206 (analiza bibliometryczna na dzień 27.09.2017r. - załącznik nr 6)

5.3 Współpraca z innymi ośrodkami naukowymi w kraju i zagranicą.

1. Instytut Chemii Wydziału Biologiczno-Chemicznego Uniwersytetu w Białymstoku: prof. dr hab. Stanisław Witkowski – w zakresie zastosowania magnetycznego rezonansu jądrowego w roztworze i ciele stałym w badaniach strukturalnych syntezowanych związków organicznych.

2. Pracownia Krystalochemii Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego: prof. dr hab. Michał K. Cyrański – w zakresie zastosowania magnetycznego rezonansu jądrowego w ciele stałym w badaniach strukturalnych związków syntetycznych jak i pochodzenia naturalnego.

3. School of Clinical and Experimental Medicine, College of Medical and Dental Sciences, University of Birmingham, Birmingham, Wielka Brytania: prof. N.M. Barns – w zakresie badań toksyczności i cytotoksyczności surowców roślinnych.

4. Faculty of Chemistry and Pharmacy, University of Sofia, Bułgaria: assoc. prof. Anife Ahmedova, PhD – w zakresie zastosowania NMR w ciele stałym w badaniach strukturalnych kompleksów metali.

5. Państwowy Farmaceutyczny Uniwersytet w Charkowie, Ukraina, Katedra Farmakognozji – prof. dr hab. Viktoria Kyslyczenko – w zakresie pozyskiwania materiału badawczego, analizy składu i właściwości ekstraktów roślinnych.

6. Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia, Pucallpa, Peru – w zakresie zastosowania metod badawczych materiału roślinnego w tego rejonu.

5.4 Kierowanie krajowymi projektami badawczymi lub udział w takich projektach.

1. Grant NCN SONATA 6 nr. umowy – UMO-2013/11/D/NZ7/02346, okres realizacji: 2014 – 2018; Tytuł projektu**:** *„Badania degradacji ksenoestrogenów w ściekach z wykorzystaniem spektroskopii NMR, EPR i metod obliczeniowych”* – **Wykonawca grantu.**

2. Grant NCN OPUS 9 nr. umowy – UMO-2015/17/B/NZ7/03089, okres realizacji: 19.05.2014 – 18.05.2018; Tytuł projektu**:** *„Związki bioaktywne w owocach Aronia melanocarpa oraz ich potencjalne działanie przeciwzapalne i przeciwmiażdżycowe”* – **Wykonawca grantu.**

Opieka nad grantami studenckimi (mini-granty) realizowanymi w ramach prac magisterskich.

1. Rafał Augustyniak: grant o nr FW28/NM2/2005. *Badania strukturalne z zastosowaniem spektroskopii NMR w roztworze i ciele stałym.*

2. Agnieszka Polatyńska: grant nr FW28/NM1/07. *Suplementy diety – reakcje jakim ulegają na poszczególnych etapach swej drogi przez przewód pokarmowy człowieka.*

3. Karolina Kalita: grant nr FE28/NM1/2010. *Zastosowanie NMR i technik modelowania molekularnego w badaniu bioaktywnych związków z Crocus saltivus.*

4. Dorota Ulma: grant nr FW29/NM3/2011. *Bioaktywne składniki w nutrikosmetykach* (praca otrzymała II nagrodę na Konkursie Prac Magisterskich).

5. Dominika Pietrzyk: grant nr FW28/NM1/2012. *Badanie ekstraktów z henny różnego pochodzenia metodami spektroskopowymi i UV-Vis.*

6. Paweł Kozielewicz: grant nr FW28/NM2/2012. *Badanie właściwości biologiczno-chemicznych pentacyklicznych alkaloidów oksoindolowych z Uncaria tomentosa z użyciem metod modelowania molekularnego.*

7. Jarosław Golis: grant nr FW28/NM3?17. *Określenie profilu substancji bioaktywnych w owocach 4 odmian jagody kamczackiej pozyskiwanych na przestrzeni 3 lat oraz badanie ich właściwości antyoksydacyjnych.*

5.5 Nagrody oraz odznaczenia za działalność naukową.

Otrzymałam siedem wyróżnień naukowych różnego stopnia (pięć zespołowych i dwa indywidualne) przyznawanych w ramach Nagrody Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego:

1. Nagroda zespołowa, naukowa I stopnia za współautorstwo cyklu prac dotyczących NMR w fazie stałej w badaniach związków biologicznie czynnych. Warszawa, 8 listopada 2004 r.

2. Nagroda zespołowa, naukowa II stopnia za badania strukturalne pochodnych witaminy E metodą NMR w fazie stałej. Warszawa, 20 czerwca 2005 r.

3. Nagroda zespołowa, naukowa II stopnia za badania strukturalne bioaktywnych związków metodą NMR ciała stałego. Warszawa, 9 października 2006 r.

4. Nagroda zespołowa, naukowa III stopnia za badania substancji izolowanych z roślin metodą NMR ciała stałego. Warszawa, 29 października 2007 r.

5. Nagroda zespołowa, naukowa III stopnia za badania z zastosowaniem NMR w fazie stałej w badaniu alkaloidów. Warszawa, 26 października 2009 r.

6. Nagroda indywidualna, naukowa III stopnia za badania bioaktywnych kompleksów miedzi i niklu metodą NMR w fazie stałej. Warszawa, 24 października 2011 r.

7. Nagroda indywidualna, naukowa III stopnia za pracę przeglądową - zastosowanie NMR w ciele stałym w badaniach surowców roślinnych. Warszawa, 27 października 2014 r.

5.6 Udział w międzynarodowych lub krajowych konferencjach tematycznych w latach 2007 - 2016 roku (po uzyskaniu stopnia doktora).

W latach 2007 do 2015 wzięłam udział łącznie w 44 konferencjach, w tym w 17 o zasięgu międzynarodowym i 27 o zasięgu krajowym, na których prezentowałam wyniki prac własnych oraz wykonanych we współautorstwie w formie plakatu lub prezentacji ustnej.

1. Ampere NMR School, 07-12.06.2007 r., Poznań – Wierzba. "^{13}C CPMAS NMR studies of some alkaloids from *Uncaria tomentosa*".

2. XL Ogólnopolskie Seminarium nt. Magnetycznego Rezonansu Jądrowego i Jego Zastosowań, Kraków, 03.12.2007 r., "Identification and characterization of suxamethonium chloride by means of ^{13}C CPMAS NMR spectroscopy".

3. 38th International Conference on Coordination Chemistry, 20-25.07.2008 r., Jerusalem, Izrael, "Synthesis, experimental and theoretical study on new platinum complexes of cycloalkanespiro-5-(2,4-dithiohydantoins)".

4. Ogólnopolskie Sympozjum Naukowe nt. "Ocena jakości preparatów farmaceutycznych z uwzględnieniem metod badania w fazie stałej", Gdańsk, 18-19.09.2008 r., „Zastosowanie ^{13}C i ^{15}N CPMAS NMR do identyfikacji biologicznie aktywnych alkaloidów *Uncaria Tomentosa*".

5. Minikonferencja – "Związki biologicznie czynne-aktywność, struktura, synteza" Białystok 21-23.11.2008 r., „Badanie struktury alkaloidów z Vilcacory (*Uncaria Tometosa*) metodą ^{13}C CPMAS NMR".

6. XLI Ogólnopolskie Seminarium na temat Magnetycznego Rezonansu Jądrowego i jego Zastosowań 1-2.12.2008 r., Kraków, „Zastosowanie ^{13}C i ^{15}N CPMAS do identyfikacji biologicznie aktywnych alkaloidów z *Uncaria Tometosa"*.

7. Chemsession'09 – Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików. Warszawa, 15.05.2009 r., „^{13}C CP/MAS NMR, X-ray, IR i metody obliczeniowe w badaniach strukturalnych akteiny".

8. Nuclear Magnetic Resonance in Condensed Matter 29.06-03.07.2009 r., Petersburg, Rosja. "Interpretation of ^{13}C CPMAS NMR spectra of triterpene glycosides isolated from *Cimicifuga racemosa*".

9. 10th Latin American Conference on Physical Organic Chemistry, 11-16.10.2009 r., Floranopolis, Brazylia, "Structural analysis of p-nitrophenyl glycosides".

10. ChemSession'10 VII Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, 14.05.2010 r., Warszawa, „^{13}C CPMAS NMR: kinetyka polaryzacji skrośnej czterech modelowych związków wyizolowanych z *Actea racemosa*".

11. 10th European Biological Inorganic Chemistry Conference, 22-26.06.2010 r., Thessaloniki, Grecja, "Synthesis, spectroscopic and quantum-chemical study of structure and properties of Pt and Ru complexes of 2,4-dithiohydantoins with antitumor activity".

12. Joint EUROMAR 2010 and 17th ISMAR Conference: World Wide Magnetic Resonance 2010, 4-9.07.2010 r., Florencja, Włochy. "^{13}C CPMAS NMR: CP kinetics of model compounds from *Actea racemosa*" oraz "^{13}C and ^{15}N CPMAS NMR studies of biologically active alkaloids from *Uncaria tomentosa*".

13. The 10th International Conference on the Applications of Magnetic Resonance in Food Science, 13-15.09.2010 r., Clermont-Ferrand, Francja. "Solid state NMR study of cell wall materials".

14. Spotkanie użytkowników Bruker Polska, 27-28.10.2010 r., Poznań, „Badanie kinetyki polaryzacji skrośnej ksylozydu cimigenolu wyizolowanego z *Cimicifuga racemosa"*.

15. EUROMAR 2011 joint with the 33rd Discussion Meeting of the MR Spectroscopy Division of the GDCh 8th European Federation of EPR Groups Meeting, 21-25.08.2011 r., Frankfurt, Niemcy, "Metabolic profiling and antiradical activity of honeys and herbal honeys studied by NMR and EPR spectroscopy".

16. Seminarium „Pszczelarstwo XXI wieku" Program rozwoju pszczelarstwa w systemie Apipol jako metoda aktywnego tworzenia nowych miejsc pracy oraz aktywizacji i rozwoju obszarów wiejskich. 28.01.2013 r., Kraków, „Badanie ziołomiodów i miodów metodami spektroskopii NMR i EPR".

17. III Sympozjum Młodych Naukowców na Wydziale Farmaceutycznym. 14.02. 2013 r., Warszawa, „Badania właściwości antyoksydacyjnych naparów i ekstraktów ziół stosowanych w peruwiańskiej medycynie ludowej".

18. Discovery Chemistry Congress: Chemical Biology, 19-20.03.2013 r., Monachium, Niemcy. "Computational chemistry in studies on pentacylicoxindole alkaloids of *Uncaria tomentosa*".

19. I Międzynarodowa Konferencja Ziołolecznictwo, Biokosmetyki i Żywność Funkcjonalna. 18-19.04.2013 r., Krosno, „Ziołomiody i miody – skład cukrów i właściwości antyoksydacyjne. Sugar profiling and antioxidant activity of herbhoneys and honeys".

20. VII Konferencja Naukowa: Aktualne problemy biologii medycznej. 16-19.05.2013 r., Kazimierz Dolny, „Modelowanie molekularne w badaniu pentacyklicznych alkaloidów oksoindolowych wyizolowanych z kory *Uncaria tomentosa*".

21. 10th Meeting NMR in Condensed Matter, 8-12.07.2013 r., St. Petersburg, Rosja, "Solid state NMR study of cell wall materials".

22. III Konferencja: Związki biologicznie czynne - aktywność, struktura, synteza. 4-6.10.2013 r., Białystok, „Algorytmy genetyczne, obliczenia DFT i ^{13}C CPMAS NMR w analizie konformacyjnej oligosacharydów" oraz „Struktura i własności antyoksydacyjne kasjafenonu B".

23. Nutraceutyki i żywność funkcjonalna w zdrowiu i chorobie – V Konferencja Naukowo-Szkoleniowa. 19.10.2013 r., Kraków, „Ziołomiody i miody – żywność o właściwościach antyoksydacyjnych" oraz „Suplementy diety zawierające ekstrakty z *Uncaria tomentosa*. Modelowanie molekularne w opisie właściwości biologicznych".

24. Ogólnopolskie Sympozjum Naukowe „Suplementy diety pod lupą farmaceuty". 14.12.2013 r., Białystok, „Badania *in silico* związków aktywnych zawartych w *Uncaria tomentosa*" oraz „Metody biologii molekularnej i chemii komputerowej w badaniach wariantów polimorficznych genów VDR Fok I, cyp2R1, cyp24A1 i GC" oraz „Zastosowanie magnetycznego rezonansu jądrowego, algorytmu ewolucyjnego oraz metod *in silico* w badaniach kapsaicyny".

25. Minisympozjum Młodych Naukowców Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej. WUM, 07.03.2014 r., Warszawa, „Badanie wstępne właściwości antyoksydacyjnych naparów z kory *Geissospermum reticulatum* różnego pochodzenia".

26. Medycyna naturalna w leczeniu i profilaktyce nowotworów, 9-10.05.2014 r., Krosno, „Badania *in silico* związków aktywnych zawartych w *Uncaria tomentosa*".

27. XI Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, *ChemSession'14*; 16.05.2014 r., Warszawa, „Właściwości antyoksydacyjne wybranych roślin stosowanych w tradycyjnej medycynie peruwiańskiej".

28. IX Konferencja Naukowa „Biologia medyczna jako dyscyplina wielu dziedzin, 22-25.05.2014 r., Jurata, „Kapsaicyna w badaniach *in silico*" Praca wyróżniona.

29. Royal Society of Chemistry's Younger Member Symposium, 24.06.2014 r., Birmingham, United Kingdom. "ESR, NMR, UV-Vis and fluorescence spectroscopy in the study of traditional herbal remedies".

30. Ogólnopolska Konferencja Studentów i Doktorantów - Kierunki Przyrodnicze i Medyczne, 22.11.2014 r., Lublin, „Polimorfizm genów kodujących wybrane enzymy występujące w szlaku metabolicznym witaminy D a parametry gospodarki kostnej i układu sercowo-naczyniowego. Molekularna analiza przykładowych kompleksów witaminy D" oraz „Badania i*n vitro* aktywnych substancji biologicznie występujących w preparatach pochodzenia roślinnego" oraz „Metody *in silico* w badaniach struktury i bioaktywności związków na przykładzie kapsaicyny".

31. Minisympozjum Młodych Naukowców Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej. WUM, 6.02.2015 r., Warszawa, Badania właściwości tradycyjnych preparatów ziołowych z wykorzystaniem metod spektroskopowych".

32. II Międzynarodowa Konferencja Ziołolecznictwo, Biokosmetyki i Żywność Funkcjonalna. 6-7.05.2015 r., Krosno, „Badania właściwości tradycyjnych preparatów ziołowych z wykorzystaniem metod spektroskopowych".

33. 11th Warsaw International Medical Congress for Young Scientists (WIMC), 7-10.05.2015 r., Warsaw, "Magnetic resonance investigations of pH and droplet fraction in microemulsions".

34. XII Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, *ChemSession'15,* 8.05.2015 r., Warszawa, "Alkoholowe eskrakty *Geissospermum reticulatum*-analiza głównych składowych oraz sztuczne sieci neuronowe" oraz "Role of pH and droplet fraction in reverse micelles in AOT/n-octane/butanol/water microemulsions with NMR spectroscopy" oraz "Badania strukturalne kapsaicyny w ciele stałym z zastosowaniem magnetycznego rezonansu jądrowego i metod obliczeniowych".

35. III Konferencja Biologii Medycznej, 22-24.05.2015 r., Warszawa, "Zastosowanie dokowania molekularnego w poszukiwaniu potencjalnych związków naturalnych o działaniu przeciwnowotworowym".

36. X Konferencja Naukowo-szkoleniowa sekcji Immunotoksykologii i Immunomodulacji Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej- Współczesne wyzwania Biologii i Medycyny, 26-30.05. 2015 r., Jurata, „Analiza wybranych kompleksów witaminy D z jej receptorami z wykorzystaniem metod i*n silico*".

37. 27.11.2015 r., Lublin, „Badania właściwości przeciwrodnikowych i cytotoksycznych tradycyjnych preparatów ziołowych".

38. IX edycja Konferencja Wpływ Młodych Naukowców na Osiągnięcia Polskiej Nauki, 5.12.2015 r., Kraków, „Właściwości przeciwrodnikowe i przeciwnowotworowe przetworów z kor *Geissospermum reticulatum*".

39. Minisympozjum Młodych Naukowców Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej. WUM, 24.02.2016 r., „Właściwości antyoksydacyjne napojów energetycznych".

40. III Międzynarodowa Konferencja Ziołolecznictwo, Biokosmetyki i Żywność Funkcjonalna. 12-13.05.2016 r., Krosno, „Badania właściwości *Geissospermum reticulatum* z rejonu Amazonii" oraz „Badania toksycznych właściwości bisfenolu A i produktów jego rozpadu na rozwój danio pręgowanego (*Danio rerio*) z wykorzystaniem metod dokowania molekularnego".

41. ChemSession'16; XIII Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików, 13.05.2016 r., Warszawa, „Badania zależności między właściwościami antyoksydacyjnymi i cytotoksycznymi ekstraktów z kory *Geissospermum reticulatum*" oraz „Badania strukturalne alkaloidów obecnych w korze z chinowca z wykorzystaniem metod NMR i obliczeń kwantowo-mechanicznych".

42. 12th Warsaw International Medical Congress for Young Scientists (WIMC), 13-15.05.2016 r., Warszawa, "*In vitro* and *in vivo* evaluation of the extracts *Geissospermum reticulatum* bark".

43. 10th International Symposium on Chromatography of Natural Products, 6-9.06.2016 r., Lublin, "Seasonal changes of carbohydrate level in *Aronia Melanocarpa* leaves".

44. 16. Sejmik Zielarski „Zielarstwo i ziołolecznictwo w Polsce i na świecie, 17-18.06.2016 r., Trzebaw-Rosnówko, „Badania właściwości preparatów ziołowych tradycyjnie sporządzanych z wykorzystaniem metod spektroskopowych".

5.7 Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze promotora pomocniczego.

1. Zgodnie z Uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego WUM dnia 14 września 2016 objęłam obowiązki promotora pomocniczego rozprawy doktorskiej mgr farm. Joanny Sajkowskiej-Kozielewicz na temat: „Kora *Geissospermum reticulatum* - badania składu i aktywności biologicznej". Obrona pracy planowana jest w roku 2019.

2. Zgodnie z Uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego WUM dnia 22 czerwca 2017 objęłam obowiązki promotora pomocniczego rozprawy doktorskiej mgr farm. Pawła Siudema na temat: „Analiza strukturalna i fizykochemiczna wybranych ligandów receptora TRPV1". Obrona pracy planowana jest w roku 2020.

5.8 Staże w zagranicznych lub krajowych ośrodkach naukowych.

Odbyłam dwumiesięczny staż na Universidad Nacional Agraria de la Selva, Facultad de Recursos Naturales Renovables, Tingo Maria, Peru.

5.9 Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych.

1. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne (PTFarm).

2. Polskie Towarzystwo Biologii Medycznej (PTBMed).
3. Polskie Towarzystwo Fitoterapeutów i Zielarzy (PTFiZ) - członek Komisji Rewizyjnej.
4. Krajowa Rada Suplementów i Odżywek (KRSiO) - członek Komisji Rewizyjnej – do czerwca 2017
5. Rada ekspercka przy Krajowej Radzie Suplementów i Odżywek - ekspert.
6. Deutscher Pharmazeutinnen Verband (DPV).
7. Polski Komitet Zielarski (PKZ).

5.10 Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz współpraca międzynarodowa.

a) Konferencje:

1. VI Franciszkańska Konferencja Zielarsko-Farmaceutyczna, 2.06.2012 r., Katowice Panewniki– „Zioła peruwiańskie".
2. VII Franciszkańska Konferencja Zielarsko-Farmaceutyczna. 25.05.2013 r., Katowice – „Oleje roślinne w kosmetyce" oraz „Siła roślin dla zdrowia i urody".
3. I Konferencja Zielarska Kobiet, 21-23.06.2012 r., Koryciny – „Zioła z rejonu Andów i dorzecza Amazonki".
4. II Konferencja Zielarska Kobiet. 7-9.06.2013 r., Koryciny – „Zioła dla zdrowia i urody".
5. Naukowa Konferencja z okazji 90-lecia nawiązania stosunków dyplomatycznych pomiędzy Peru, a Polską. Peru - przyroda i kultura. 14.12.2013 r., Uniwersytet Jagielloński, Kraków, „Badania związków biologicznie czynnych obecnych w *Uncaria tomentosa*".
6. Seminarium naukowe „Wielokierunkowe dziedzictwo Peru", Akademia Obrony Narodowej, Rembertów, 2014 r.
7. od 2007 r. organizator spotkań w ramach Festiwalu Nauki w Warszawie (w 2015 roku 20-lecie przedsięwzięcia) organizowanych na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, od 2013 roku koordynator tych spotkań z ramienia Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.
8. Uczestnik Korea Science Festival (wykłady i warsztaty). 4-9.08.2009 r., Ilsan, Korea Południowa – "Antioxidant power of tea".

b) Otrzymane nagrody i wyróżnienia.

Otrzymałam trzy wyróżnienia dydaktyczne I, II i III stopnia (zespołowe i indywidualne) przyznawane przez Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego:

1. Nagroda zespołowa dydaktyczna I stopnia za współudział w opracowaniu skryptu pt: Ćwiczenia laboratoryjne z Chemii Fizycznej. Warszawa, 27 października 2007 r.

2. Nagroda indywidualna dydaktyczna II stopnia za szczególne zaangażowanie w prowadzenie Koła Naukowego "Free Radicals". Warszawa, 29 października 2012 r.
3. Nagroda indywidualna dydaktyczna III stopnia za osiągnięcia dydaktyczne. Warszawa, 30 października 2017 r.

Otrzymałam również dwie (w roku 2012 oraz w roku 2014) wyróżniające oceny nauczycieli akademickich zatrudnionych na Wydziale Farmaceutycznym przyznawana przez Wydziałową Komisję ds. Oceny Nauczycieli Akademickich, zgodnie z art. 132 ustawy z dnia 27 lipca 2007 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym.

c) Prowadzenie zajęć dydaktycznych na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego:

– Koło Naukowe.

Koło Naukowe: Opiekun Koła Naukowego działającego przy Zakładzie Chemii Fizycznej: "Free Radicals" w latach od 2007 do roku obecnego. Przez podany okres liczba uczestników Koła wciąż wzrastała, a ostanie siedem lat (2010-2017) liczba członków koła wynosi ponad 30 osób. Liczba artykułów popularno-naukowych autorstwa członków Koła Naukowego wynosi 35, a liczba publikacji w czasopismach z listy filadelfijskiej 5. W roku akademickim 2013/2014, w rankingu Kół Naukowych działających na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, prowadzone przeze mnie koło „Free radicals”, uplasowało sie na 12 pozycji wśród 194 kół. Członkowie koła biorą udział w licznych wydarzeniach popularyzatorskich, zarówno o zasięgu krajowym jak i międzynarodowym np. Skołowany weekend, Warsztaty WIMC, Festiwal Nauki. Są uczestnikami licznych konferencji prezentując wyniki prowadzonych badań. Liczba wyróżnionych i nagrodzonych prac autorstwa członków koła w latach 2010 - 2017 wynosi 5.

– Prace magisterskie:

W latach 2005 - 2017 pod moją opieką zostały wykonane 22 prace magisterskie, jedna praca zdobyła II lokatę w konkursie prac magisterskich organizowanym na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w tematyce "Varia".
W ww. okresie byłam recenzentem ponad 10 prac magisterskich.
Dwukrotnie, (w latach: 2014 i 2015), zostałam zaproszona do roli recenzenta w ramach konferencji naukowej studentów Warsaw International Medical Congress, organizowanej przez Studenckie Towarzystwo Naukowe i Samorząd Studentów WUM.

– Zajęcia dydaktyczne:

1. Ćwiczenia Laboratoryjne z Chemii Fizycznej (kierunek: Farmacja) od r. ak. 1999/2000 do chwili obecnej; kierownik przedmiotu od r. ak. 2007/2008 do2011/2012, od roku 2017/2018 ponownie objęłam stanowisko kierownika przedmiotu.
W ww. okresie byłam również odpowiedzialna za opracowanie egzaminu testowego z przedmiotu Chemia fizyczna.
2. Ćwiczenia Laboratoryjne z Chemii Fizycznej (kierunek: Analityka Medyczna) r. ak. 2010/2011 do chwili obecnej.
3. Wykłady oraz ćwiczenia laboratoryjne w ramach bloków specjalizacyjnych (kierunek Farmacja).

- Kosmetologia Farmaceutyczna z Elementami Medycyny Estetycznej,
- Katedra Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii.

– Autorstwo materiałów dydaktycznych:

Jestem redaktorem i współautorem skryptu dla studentów farmacji:
1. **K. Paradowska**, T. Gubica, M.K. Jamróz, S. Kaźmierski, K. Łastawska, D.M. Pisklak, Ł. Szeleszczuk, S. Warycha, K. Zawada, A. Zimniak: Ćwiczenia laboratoryjne z chemii fizycznej. Wydanie IV. Warszawa: Oficyna Wydawnicza Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, 2010 r., ISBN-978-76-3783-213-8.
oraz współautorem skryptu dla studentów farmacji i analityki medycznej pod redakcją T. Gubica:
2. T. Gubica, K. Gulik, M.K. Jamróz, S. Kaźmierski, K. Łastawska, D.M. Pisklak, **K. Paradowska**, Ł. Szeleszczuk, S. Warycha, K. Zawada, A. Zimniak: Ćwiczenia laboratoryjne z chemii fizycznej. Wydanie V. Warszawa: Oficyna Wydawnicza Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, 2012 r., ISBN-987-83-7637-212-9.

5.11 Udział w dodatkowych zajęciach dydaktycznych i popularyzatorskich poza WUM.

1. wykładowca na Uniwersytetach III-wieku – wykłady na zaproszenie.
2. wykłady na zaproszenie Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego.
3. w latach 2010–2012 zajęcia dydaktyczne na studiach podyplomowych, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, studia w ramach Międzywydziałowego Studium Ochrony Środowiska; prowadzony przedmiot: Analiza i ocena jakości żywności.

4. od 2014 roku zajęcia dydaktyczne na studiach podyplomowych "Towaroznawstwo zielarskie, kosmetyczne i żywności funkcjonalnej", Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. Stanisława Pigonia w Krośnie; prowadzone przedmioty: „Podstawy receptury żywności funkcjonalnej" oraz „Chemia surowców i produktów żywnościowych, kosmetycznych, zielarskich i suplementów diety".

5. od 2016 zajęcia dydaktyczne na kierunku „Zielarstwo", Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. St. Pigonia w Krośnie; prowadzone przedmioty: – „Chemia ogólna i organiczna", „Metody badań i ocena jakościowa surowców i produktów zielarskich".

6. w 2015 roku uczestniczyłam w opracowaniu wniosku o utworzenie nowego kierunku studiów „Zielarstwo" utworzonego w PWSZ im. St. Pigonia. Brałam udział w przygotowywaniu dokumentacji dla Państwowej Komisji Akredytacyjnej, opracowywaniu planu studiów, doboru przedmiotów. Wniosek uzyskał pozytywną opinię PKA, a Minister Nauki i Szkolnictwa Wyższego wydał decyzję o otwarciu kierunku w 2016 r.

5.12 Organizacja konferencji międzynarodowych i krajowych.

1. Współorganizator VII Warszawskiego Seminarium Doktorantów Chemików *ChemSession'10*, Warszawa 14 maja 2010 r.

2. Współorganizator (od 2010 r.), w cyklu dwuletnim Sympozjum Młodych Naukowców organizowanym na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

3. Organizator Międzynarodowej Konferencji 7th European Meeting of Women Pharmacists, Jabłonna 1-2 października 2011 r.

4. Organizator cyklicznych konferencji w latach 2012 - 2017 Zielarskiej Konferencji Kobiet w Korycinach:

I Konferencja Zielarska Kobiet 21-23 czerwca 2012 r.;

II Konferencja Zielarska Kobiet 7-9 czerwca 2013 r.;

III Konferencja Zielarska Kobiet 27-29 czerwca 2014 r.;

IV Konferencja Zielarska Kobiet 22-24 maja 2015;

V Konferencja Zielarska Kobiet 24-26 czerwca 2016 r.

VI Konferencja Zielarska Kobiet 23-25 czerwca 2017 r.

6. Dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych (w latach 2003 – 2007)

Publikacje oryginalne (P)

P1. A. Temeriusz, M. Rowińska, **K. Paradowska,** I. Wawer; Synthesis and solid state ^{13}C and ^{1}H NMR analysis of new oxamide derivatives of methyl 2-amino-2-deoxy-α-D-glucopyranoside and ester of amino acids or dipeptides; Carbohydrate Research, 338(2), (**2003**), pp. 183-188 (**IF**$_{2003}$ – **1,533**)

P2. T. Żołek, **K. Paradowska,** D. Krajewska, A. Różański, I. Wawer; ^{1}H, ^{13}C MAS NMR and GIAO-RHF calculations of chloramphenicol, thiamphenicol and their pyrrole analogues; Journal Molecular Structure, Vol. 646, Issue:1-3, (**2003**), pp. 141-149 (**IF**$_{2003}$ – **1,021**)

P3. T. Żołek, **K. Paradowska,** I. Wawer; ^{13}C CPMAS NMR and GIAO-CHF calculations of coumarins; Solid State Nuclear Magnetic Resonance, 23(1-2), (**2003**), pp. 77-87 (**IF**$_{2003}$ – **1,453**)

P4. A. Temeriusz, R. Anulewicz-Ostrowska, **K. Paradowska,** I. Wawer; Crystal structure and solid state ^{13}C NMR of methyl-α-D-mannofuranoside; Journal of Carbohydrate Chemistry, 22(788), (**2003**), pp. 593-601 (**IF**$_{2003}$ – **0,974**)

P5. St. Witkowski, **K. Paradowska,** I. Wawer**;** ^{13}C CPMAS NMR studies of vitamin E model compounds; Magnetic Resonance in Chemistry, 24, (**2004**), pp. 863-869 (**IF**$_{2004}$ – **1,489**)

P6. A. Temeriusz, T. Gubica, P. Rogowska, **K. Paradowska,** M. Cyrański**;** Crystal structure and solid state ^{13}C NMR analysis of nitrophenyl 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-gluco and D-galactopyranosides; Carbohydrate Research, 304, (**2005)**, pp. 1175-1184, (**IF**$_{2005}$ – **1,669**)

P7. I. Wawer, M. Pisklak, **K. Paradowska**; NMR ciała stałego-zastosowanie w farmacji i diagnostyce medycznej = Pharmaceutical and medicalapplications of solid state MAS NMR; Wiadomości Chemiczne, 59(1-2), (**2005**), pp. 121-137 (**MNiSW**$_{2005}$ – **6**)

P8. J. W. Morzycki, **K. Paradowska,** K. Dąbrowska-Balcerzak, J. Jastrzębska, L. Siergiejczyk, I. Wawer; ^{13}C NMR study of spirostanes and furostanes in solution and solid state; Journal Molecular Structure, 744(747), (**2005**), pp. 447-455 (**IF**$_{2005}$ – **1,440**)

P9. A. Temeriusz, T. Gubica, P. Rogowska, **K. Paradowska,** M. Cyrański; Crystal structure and solid state^{13}C NMR analysis of N-p-nitrophenyl-α-D-ribopyranosylamine, N-p-nitrophenyl-α-D-xylopyranosylamine, solid-state^{13}C NMR analysis of N-p-nitrophenyl-2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-lyxopyranosylamine and N-p-nitrophenyl-2,3,4-tri-O-acetyl-α-L-arabinopyranosylamine; Carbohydrate Research, 340, (**2005**), pp. 2645-2653 (**IF**$_{2005}$ – **1,669**)

P10. I. Wawer, M. Wolniak, **K. Paradowska**; Solid state NMR study of dietary fiber powders from aronia, bilberry, black currant and apple; Solid State Nuclear Magnetic Resonance, 30,(**2006**), pp. 106-113 (**IF**$_{2006}$ – **1,532**)

P11. A. Temeriusz, T. Gubica, P. Rogowska, **K. Paradowska** and M. K. Cyrański; Crystal structure and solid-state ^{13}C NMR analysis of N-o-, N-m- and N-p-nitrophenyl-2,3,4,6-tetra-

O-acetyl-β-D-glucopyranosylamines, and their N-acetyl derivatives; Carbohydrate Research, 341, (**2006**), pp. 2581-2590 (**IF**$_{2006}$ – **1,703**)

7. Dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych (w latach 2008 – 2017)

P12. A. Zielińska, **K. Paradowska**, J. Jakowski, I. Wawer; 13C CPMAS NMR and GIAO-CHF/DFT calculations of flavonoids: Morin, keampferol, tricin,genistein, formononetin and 3,7-dihydroxyflavone; Journal of Molecular Structure, 873, (**2008**), pp. 109-116 (**IF**$_{2008}$ – **1,594**)

P13. A. Ahmedova, P. Marinova, **K. Paradowska,** M. Marinov, M. Mittewa; Synthesis and characterization of cooper (II) and nickel (II) complexes of (9'-fluorene)-spiro-5-dithiohydantion; Journal of Molecular Structure, 892, (**2008**), pp. 13-19 (**IF**$_{2008}$ – **1,594**)

P14. K. Paradowska, T. Gubica, A. Temeriusz*, M. K. Cyrański, I. Wawer; ^{13}C CPMAS NMR and crystal structure of methyl glycopyranosides; Carbohydrate Research, 343, (**2008**), pp. 2299-2307, (IF$_{2008}$ – **1,960**)

P15. T. Gubica, A. Temeriusz, **K. Paradowska,** A. Ostrowski, P. Klimentowska, M.K. Cyrański; Single-crystal and powder X-ray diffraction and solid-state ^{13}C NMR of p-nitorphenyl-glycopyrasides, the derivatives of D-galactose, D-glucose and D-mannose; Carbohydrate Research, 344, (**2009**), pp. 1734-1744 (**IF**$_{2009}$ – **2,025**)

P16. A. Ahmedova, P. Marinova, **K. Paradowska,** M. Marinov, I. Wawer, M. Mittewa; Structure of 2,4-dithiohydantoin complexes with copper and nickel: Solid-state NMR as verification method; Polyhedron, 29, (**2010**), pp. 1639-1645 (**IF**$_{2010}$ – **2,034**)

P17. A. Ahmedova, P. Marinova, **K. Paradowska,** N. Stoyanov, I. Wawer, M. Mitewa; Spectroscopic aspects of the coordination modes of 2,4-dithiohydantoins: Experimental and theoretical study on copper and nickel complexes of cyclohexanespiro-5-(2,4-dithiohydantoin); Inorganica Chimica Acta, 363, (**2010**), pp. 3919-3925 (**IF**$_{2010}$ – **1,899**)

P18. M. K. Jamróz , **K. Paradowska**, J. A. Glinski , I. Wawer;^{13}C CPMAS NMR studies and DFT calculations of triterpene xylosidesisolated from *Actea racemosa*; Journal of Molecular Structure, 994 (**2011**) 248-255 (**IF**$_{2011}$ – **1,634**)

P19. T. Gubica, D. K. Stepien, A. Temeriusz**, K. Paradowska,** E. Głowacka, M. K. Cyranski, A. Ostrowski; Solid-state structure of N-o-, N-m-, and N-p-nitrophenyl-2,3,4-tri-O-acetyl-b-D-xylopyranosylamines; Carbohydrate Research, 346, (**2011**), pp. 2491-2498 (**IF**$_{2011}$ – **2,332**)

P20. N. Wszelaki, **K. Paradowska**, M. K. Jamróz, S. Granica, A. K. Kiss; Bioactivity-Guided Fractionation for Butyrylcholinesterase Inhibitory Activity of Furanocoumarins from *Angelica archangelica* L. Roots and Fruits; Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, (**2011**), pp. 9186-9193 (**IF**$_{2011}$ – **2,823**)

P21. T. Gubica, D. K. Stępień, A. Ostrowski, D. M. Pisklak, A. Temeriusz, E. Głowacka, **K. Paradowska**, M. K. Cyrański; Crystal and molecular structure of nitrophenyl 2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-xylopyranosides; Journal of Molecular Structure, 1007, (**2012)**, pp. 227-234 (**IF**$_{2012}$ – **1,404**)

P22. **K. Paradowska,** M. K. Jamróz, M. Kobyłka, E. Gowin, P. Mączka, R. Skibiński, Ł. Komsta; Detection of drug active ingredients by chemometric processing of solid-state NMR spectrometry data- the case of acetaminophen; Journal of AOAC International, 95, (2012), pp. 1-4 (**IF**$_{2012}$ – **1,233**)

P23. A. Berłowski, K. Zawada, I. Wawer, **K. Paradowska**; Antioxidant Properties of Medicinal Plants from Peru;Food and Nutrition Sciences, 4, (**2013**), pp. 71-77

P24. M. K Jamróz, **K. Paradowska**, K. Zawada, K. Makarova, S. Kaźmierski and I. Wawer; ^{1}H and ^{13}C NMR-based sugar profiling with chemometric analysis and antioxidant activity of herbhoneys and honeys; Journal of the Sciences of Food and Agriculture, 94,(**2014**), pp. 246-55 (**IF**$_{2014}$ – **1,879**)

P25. P. Kozielewicz, **K. Paradowska**, S. Erić, I. Wawer, M. Zloh; Insights into mechanism of anticancer activity of pentacyclicoxindole alkaloids of *Uncaria tomentosa* by means of a computational reverse virtual screening and molecular docking approach; Monatsheftefür Chemie - Chemical Monthly, 145(7), (**2014**), pp 1201-1211 (**IF**$_{2014}$ – **1,222**)

P26. B. Krochmal-Marczak, B. Sawicka, J. Supski, T. Cebulak, **K. Paradowska**; Nutrition value of the sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) cultivated in south – eastern Polish conditions; International Journal of Agronomy and Agricultural Research (IJAAR), 4(4), (**2014**), pp. 169-178

P27. **K. Paradowska**, A. Zielińska, N. Krawiec; Skład i właściwości antyoksydacyjne barwnych frakcji wyodrębnionych z pszczelego pyłku kwiatowego; Postępy Fitoterapii, 4, (**2014**), pp. 17-23 (**MNiSW**$_{2014}$ – **5**)

P28. D. K. Stępień, M. K. Cyrański, Ł. Dobrzycki, P. Wałejko, A. Baj, S. Witkowski, **K. Paradowska**, I. Wawer; The effect of rotating substituent in 2,2,5,7,8-pentamethylchroman derivatives. X-ray, ^{13}C CPMAS analysis and DFT analysis; Journal of Molecular Structure, 1076, (**2014**), pp. 512–517 (**IF**$_{2014}$ – **1,602**)

P29. A. Skrzypczak, N. Przystupa, A. Zgadzaj, A. Parzonko, K. Sykłowska-Baranek, **K. Paradowska,** G. Nałęcz-Jawecki; Antigenotoxic, anti-photogenotoxic and antioxidantactivities of naturalnaphthoquinoneshikonin and acetylshikonin and Arnebiaeuchromacallusextractsevaluated by the umu-test and EPR method, Toxicology in Vitro 30 (**2015**), pp. 364–372 (**IF**$_{2015}$ – **3,338**)

P30. D. Pietrzyk, **K. Paradowska**, I. Wawer, I. Diakonova, Phytochemical study of cosmetics for hair coloring, Annals of Mechnikov Institute, 2 (**2015**) 1 www.imiamn.org.ua /journal.htm УДК 615.322:54.062:543.42

P31. J. J. Sajkowska-Kozielewicz, P. Kozielewicz, M. N. Barnes, I. Wawer, **K. Paradowska**; Antioxidant, cytotoxic, and antiproliferative activities and total polyphenol contents of the extracts of *Geissospermum reticulatum* bark; Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2016 (**2016**), pp. 1-8 (**IF**$_{2016}$ – **4,492**)

P32. K. Paradowska, M. Czerniejewska, A. Zielińska, J. J. Sajkowska-Kozielewicz; Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów z suszonych owoców Goji; Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 4(107) (**2016**) pp. 115 – 124 (**MNiSW**$_{2016}$ – **13**)

P33. J. J. Sajkowska-Kozielewicz, P. Kozielewicz, K Makarova, I. Wawer, **K. Paradowska**; Analysis of impact of cytotoxic and antioxidant activities of the Jerusalem Balsams using chemometric methods" Planta Medica 82(S 01), (2016); pp. S1 – S381 (**IF**$_{2016}$ – **1,99**)

P34. J. J. Sajkowska-Kozielewicz, P. Kozielewicz, N. M. Barnes, I. Wawer, **K. Paradowska**, „Cytotoxic, anti-radical and reducing properties of ethanol bark extracts of Geissospermum reticulatum", Planta Medica 82(S 01), (2016); pp. S1 – S381 (**IF**$_{2016}$ – **1,99**)

P35. J.J. Sajkowska-Kozielewicz*, K. Gulik, K. Makarova, K. Paradowska, „Antioxidant Properties and Stability of Geissospermum Reticulatum Tinctures: Lag Phase ESR and Chemometric Analysis", Acta Physica Polonica A 132, (2017); pp. 68 – 72 (**IF**$_{2017}$ – **0,497**)

P36. P. Wałejko, K. Paradowska, Ł. Szeleszczuk, S. Wojtulewski, A. Baj, "Racemic crystals of trolox derivatives compared to their chiral counterparts: Structural studies using solid-state NMR, DFT calculations and X-ray diffraction", Journal of Molecular Structure 1156, (2018); pp. 290 – 300 (**IF**$_{2018}$ – **1,753**)

Prace popularno-naukowe (PP)

PP37. J. J. Sajkowska, **K. Paradowska**; Wielokierunkowe działanie witaminy D; Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, 1, (**2014**), pp. 1-6 (MNiSW=1)

PP38 P. Siudem, J. Bukowicki, M. Łaźniewski, **K. Paradowska**; Zastosowanie dokowania molekularnego w badaniach naturalnych związków bioaktywnych na przykładzie kapsaicyny; Farmacja Polska, 70(5), (**2014**) pp. 288-291 (MNiSW=3)

PP39. D. Łaszczyca, **K. Paradowska**, K. Makarova; Zanieczyszczenie środowiska Bisfenolem A; BIULETYN Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego WUM, 1, (**2015**), pp. 1-5 (MNiSW=5)

PP40. J. J. Sajkowska, P. Kozielewicz, **K. Paradowska**; Aktualny stan wiedzy dotyczący witaminy D i jej niedoborów, Wybrane substancje: znaczenie dla organizmu oraz możliwe zastosowania; Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL, (**2015**), pp. 7-26 ISBN 978-83-65272-02-7

PP41. P. Siudem, I. Wawer, **K. Paradowska**; Konopie i kannabinoidy; Farmacja Współczesna, 8, (**2015**), pp. 1-8 (MNiSW=5)

PP42. M. Adamowicz, K. Makarova, **K. Paradowska**; Wpływ atrazyny i jej produktów rozpadu na środowisko oraz organizm ludzki; Ekologia i Technika, 23(6), (**2015**), pp. 323-330 (MNiSW=3)

PP43. J. J. Sajkowska-Kozielewicz, K. Gulik, P. Kozielewicz K. Makarova, **K. Paradowska**, I. Wawer; Nowoczesne metody badania związków biologicznie czynnych w

preparatach pochodzenia roślinnego; monografia Materiały naukowe z II Międzynarodowej Konferencji „Rośliny zielarskie, kosmetyki naturalne i żywność funkcjonalna" Krosno, 6-7 maja (2015), pp. 377-402

PP44. I. Wawer, **K. Paradowska**; Perspektywy fitoterapii i jej nauczanie; Współczesne Problemy Nauk Medycznych. Kształcenie Podyplomowe, 5(1), (**2015**), pp. 47-54

PP45. I. Wawer, **K. Paradowska**; Aloes: składniki o działaniu immunomodulującym i przeciwcukrzycowym, Lek w Polsce, Miesięcznik dla farmaceutów i lekarzy, 26(3/4), (**2016**), pp. 64-69 (MNiSW=4)

PP46. P. Siudem, **K. Paradowska**, I. Wawer; Lecznicze właściwości konopi; Farmacja Polska,72(7), (**2016**), pp. 427-433 (MNiSW=8)

PP47. A. Mazurek, **K. Paradowska**; Liposomy - główne kierunki badań i zastosowań; Farmacja Polska 72(8), (**2016**), pp. 2-7 (MNiSW=8)

PP48. I. Wawer, **K. Paradowska**; Suplementy diety w profilaktyce i leczeniu; Współczesne Problemy Nauk Medycznych. Kształcenie Podyplomowe, 6(2), (**2016**), pp. 24-31

PP49. I. Wawer, M. D. Pisklak, **K. Paradowska**, Ł. Szeleszczuk; Magiczny NMR w Farmacji; Współczesne Problemy Nauk Medycznych. Kształcenie Podyplomowe, 5(1), (**2016**), pp. 47-54

PP50. I. Wawer, **K. Paradowska**; Suplementacja diety w cukrzycy; Gabinet Prywatny, 24(04), (**2017**), pp. 108-115 (MNiSW=5)

Sumaryczny *impact factor* publikacji naukowych:

IF= 61,711 MNiSW=868 IC=573,85

Liczba cytowań publikacji
Wg Web of Science z dn.27.09.2017: (bez autocytowań) =**206**

Indeks Hirscha
Wg Web of Science z dn. 27.09.2017 = **10**

Katarzyna Paradowska
Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy
Zakład Chemii Fizycznej
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Warszawski Uniwersytet Medyczny