

Autoreferat przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych w związku z ubieganiem się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

# **Analiza strukturalna glikozydów za pomocą metod teoretycznych i eksperymentalnych**

Dr Tomasz Gubica



Zakład Chemii Fizycznej

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Warszawa 2015

**Spis treści:**

1. Posiadany dyplom i stopień naukowy *str. 3*
2. Zatrudnienie w jednostkach naukowych *str. 3*
3. Wskazanie osiągnięcia naukowego w związku z ubieganiem się o nadanie stopnia doktora habilitowanego *str. 3*
  - 3.1. Tytuł osiągnięcia naukowego *str. 3*
  - 3.2. Lista artykułów tworzących jednotematyczny cykl publikacji wraz z podaniem wkładu własnego *str. 3*
  - 3.3. Omówienie osiągnięcia naukowego *str. 7*
    - 3.3.1. Wprowadzenie *str. 7*
    - 3.3.2. Badania własne *str. 8*
    - 3.3.3. Podsumowanie *str. 16*
4. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych *str. 17*
  - 4.1. Lista artykułów przed uzyskaniem stopnia doktora wraz z podaniem wkładu własnego *str. 18*
  - 4.2. Lista artykułów po uzyskaniu stopnia doktora niebędących przedmiotem rozprawy habilitacyjnej wraz z podaniem wkładu własnego *str. 20*
5. Czynny udział w konferencjach naukowych *str. 21*
6. Współpraca z jednostkami naukowymi *str. 23*
7. Granty *str. 23*
8. Recenzowanie *str. 23*
9. Osiągnięcia dydaktyczne *str. 24*
  - 9.1. Kierownictwo i opieka nad pracami magisterskimi *str. 24*
  - 9.2. Kierownictwo i opieka nad pracami licencjackimi *str. 24*
  - 9.3. Prowadzenie zajęć dydaktycznych *str. 25*
  - 9.4. Autorstwo materiałów dydaktycznych *str. 25*
10. Działalność popularyzatorska *str. 25*
11. Podsumowanie dorobku naukowego *str. 26*

## 1. Posiadany dyplom i stopień naukowy

Magister, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa 2002.

Tytuł pracy magisterskiej: *Próba syntezy pochodnych ureidokwasów*

promotor: prof. dr hab. Jan Izdebski

Doktor nauk chemicznych, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa 2007.

Tytuł rozprawy doktorskiej: *Studia nad strukturą i oddziaływaniem nitrofenylowych pochodnych sacharydów z cyklodekstrynami w wybranych procesach fizykochemicznych*

promotor: prof. dr hab. Andrzej Temeriusz

## 2. Zatrudnienie w jednostkach naukowych

10/2007 – 01/2010    specjalista naukowo-techniczny  
Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

02/2010 – 09/2010    adiunkt  
Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

10/2010 – nadal      adiunkt  
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej,  
Warszawski Uniwersytet Medyczny

## 3. Osiągnięcie naukowe

**3.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:** *Analiza strukturalna glikozydów za pomocą metod teoretycznych i eksperymentalnych*

**3.2.** Niniejsze osiągnięcie naukowe składa się z ośmiu jednotematycznych oryginalnych artykułów naukowych w czasopismach z listy filadelfijskiej o łącznym współczynniku IF **16,553**.

**H.1.** K. Paradowska, **T. Gubica**, A. Temeriusz\*, M.K. Cyrański, I. Wawer. “<sup>13</sup>C CP MAS NMR and crystal structure of methyl glycopyranosides” *Carbohydrate Research* **2008**, 343, 2299-2307. **IF<sub>2008</sub> 1,960**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań

- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- interpretacji wyników otrzymanych z pomiarów dyfrakcji rentgenowskiej pojedynczych kryształów (XRD) i proszków (PXRD)
- redakcji całego tekstu publikacji

Udział własny szacuję na 60%.

**H.2. T. Gubica**, A. Temeriusz\*, K. Paradowska, A. Ostrowski, P. Klimentowska, M.K. Cyrański. "Single-crystal and powder X-ray diffraction and solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR of *p*-nitrophenyl glycopyranosides, the derivatives of D-galactose, D-glucose, and D-mannose" *Carbohydrate Research* **2009**, *344*, 1734-1744. **IF**<sub>2009</sub> **2,025**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- udziale w interpretacji wyników uzyskanych za pomocą: XRD i PXRD oraz spektroskopii NMR techniką dla ciała stałego (ssNMR)
- redakcji całego tekstu publikacji

Udział własny szacuję na 60%.

**H.3. T. Gubica\***, D.K. Stępień, A. Temeriusz, K. Paradowska, E. Głowacka, M.K. Cyrański, A. Ostrowski. "Solid-state structure of *N-o*-, *N-m*-, and *N-p*-nitrophenyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-xylopyranosylamines" *Carbohydrate Research* **2011**, *346*, 2491-2498. **IF**<sub>2011</sub> **2,332**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- udziale w interpretacji wyników uzyskanych za pomocą: XRD, PXRD oraz ssNMR
- wykonaniu obliczeń teoretycznych i ich interpretacji (optymalizacja struktur i oszacowanie stałych ekranowania)
- redakcji całego tekstu publikacji

Udział własny szacuję na 55%.

**H.4. 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- $\beta$ -D-xylopyranosides” *Journal of Molecular Structure* **2012**, 1007, 227-234. **IF**<sub>2012</sub> **1,404**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- wykonaniu obliczeń teoretycznych i ich interpretacji (optymalizacja struktur i oszacowanie stałych ekranowania)
- zarejestrowaniu widm <sup>15</sup>N CP/MAS NMR
- udziale w interpretacji wyników uzyskanych za pomocą: XRD, PXR, ssNMR oraz skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC)
- redakcji całego tekstu publikacji

Udział własny szacuję na 55%.

**H.5. T. Gubica\***, D.K. Stępień, D.M. Pisklak, A. Ostrowski, M.K. Cyrański. “Single-crystal and powder X-ray diffraction, <sup>13</sup>C CP/MAS NMR, and DFT-GIAO calculations of methyl 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranoside and methyl 2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranoside” *Journal of Molecular Structure* **2013**, 1036, 407-413. **IF**<sub>2013</sub> **1,599**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- wykonaniu obliczeń teoretycznych i ich interpretacji (optymalizacja struktur i oszacowanie stałych ekranowania)
- udziale w interpretacji wyników uzyskanych za pomocą: XRD, PXR oraz ssNMR
- redakcji całego tekstu publikacji

Udział własny szacuję na 75%.

**H.6. T. Gubica\***, J. Bukowicki, D.K. Stępień, A. Ostrowski, D.M. Pisklak, M.K. Cyrański. “Solid-state structure of methyl 2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-galactopyranoside and methyl 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-galactopyranoside” *Journal of Molecular Structure* **2013**, 1037, 49-56. **IF**<sub>2013</sub> **1,599**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- udziale w interpretacji wyników uzyskanych za pomocą: XRD, PXRD oraz ssNMR
- udziale w interpretacji obliczeń teoretycznych (analiza konformacyjna i optymalizacja struktur)
- redakcji całego tekstu publikacji

Udział własny szacuję na 60%.

**H.7. T. Gubica\***, Ł. Szeleszczuk, D.M. Pisklak, D.K. Stępień, M.K. Cyrański, M. Kańska. “Reliable evaluation of molecular structure of methyl 3-*O*-nitro- $\alpha$ -D-glucopyranoside and its intermediates by means of solid-state NMR spectroscopy and DFT optimization in the absence of appropriate crystallographic data” *Tetrahedron* **2014**, 70, 1910-1917. **IF**<sub>2013</sub> **2,817**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- udziale w obliczeniach teoretycznych (optymalizacja struktur i oszacowanie stałych ekranowania)
- interpretacji wszystkich uzyskanych wyników (ssNMR, XRD oraz optymalizacja metodami DFT)
- redakcji całego tekstu publikacji

Udział własny szacuję na 70%.

**H.8. J. Bukowicki, T. Gubica\***, Ł. Szeleszczuk. “Time-effective and reliable solid-state structure evaluation of selected peracetylated  $\beta$ -maltose derivatives by means of grid search, genetic algorithm and DFT calculations” *Tetrahedron* **2014**, 70, 4008-4016. **IF**<sub>2013</sub> **2,817**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań

- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- interpretacji obliczeń teoretycznych (analiza konformacyjna i optymalizacja struktur) oraz pomiarów ssNMR
- redakcji całego tekstu publikacji

Udział własny szacuję na 70%.

### **3.3. Omówienie osiągnięcia naukowego**

#### **3.3.1. Wprowadzenie**

Praca chemika organika nie kończy się wraz z przeprowadzeniem syntezy i oczyszczeniem produktu końcowego. Nie mniej istotne od samej syntezy i izolacji jest potwierdzenie czystości i składu otrzymanych związków. Kolejnym etapem charakterystyki związków organicznych jest określenie struktury cząsteczki. Chemik organik chcąc określić strukturę cząsteczki zwykle wykorzystuje spektroskopię NMR oraz informacje uzyskane na podstawie mechanizmu reakcji. Idealna sytuacja jest wtedy, kiedy można określić przestrzenną strukturę cząsteczki (długości wiązań, kąty płaskie i torsyjne) za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej pojedynczych kryształów (XRD). Dzięki tej technice można, mówiąc kolokwialnie, zobaczyć cząsteczkę i sieć krystaliczną. Jest to zatem najlepszy z możliwych sposobów na potwierdzenie struktury cząsteczki.

Niestety, technika XRD jest bardzo wymagająca i tylko dla niewielu substancji można ją zastosować. Pierwsze kryterium, które musi spełniać substancja, aby w ogóle rozpatrywać możliwość przeprowadzenia dla niej pomiaru XRD to krystaliczna postać. Drugim warunkiem, nie mniej ważnym od poprzedniego, jest otrzymanie odpowiedniego monokryształu.

Pomimo swoich niewątpliwych zalet, metoda XRD ogranicza się niestety tylko do analizy jednego monokryształu, którego wybór jest często przypadkowy. Związki organiczne w stałym stanie skupienia dość często występują w różnych formach polimorficznych, które mogą tworzyć różne kryształy. Nie wszystkie odmiany polimorficzne muszą być krystaliczne, niektóre z nich mogą mieć postać amorficzną.

Polimorfizm jest zjawiskiem szczególnie ważnym w farmacji z powodu różnej biodostępności (ze względu na zróżnicowaną rozpuszczalność) poszczególnych postaci związków organicznych o właściwościach biologicznych. W celu potwierdzenia lub wykluczenia istnienia odmian polimorficznych można posłużyć się dyfrakcją rentgenowską proszków (PXRD) jak również spektroskopią NMR dla ciała stałego (ssNMR). W pomiarach PXRD jak i ssNMR, w przeciwieństwie do XRD, bada się próbki makroskopowe. Zatem łączne wykorzystanie tych technik gwarantuje otrzymanie pełnej charakterystyki strukturalnej związków organicznych.

Warto dodać, że metody PXRD i ssNMR nie są aż tak wymagającymi technikami jak XRD. Podstawowym warunkiem jaki musi spełniać substancja, aby można było wykonać dla niej analizę proszkową lub zarejestrować widmo ssNMR, to stały stan skupienia.

Niezwykle rzadko w oryginalnych pracach badawczych wykorzystuje się wszystkie powyższe metody pomiarowe (dyfrakcję rentgenowską (XRD i PXRD) oraz spektroskopię ssNMR) w celu uzyskania pełnej charakterystyki związków organicznych. Bardzo często ignoruje się również fakt, że te techniki badawcze są wzajemnie komplementarne. Na przykład w przypadku braku możliwości wykonania pomiarów XRD można posłużyć się dostępnymi na ogół technikami PXRD i ssNMR jak również modelowaniem molekularnym w celu uzyskania przestrzennej struktury cząsteczek.

W swoim osiągnięciu naukowym pokazałem różne sposoby wzajemnego wykorzystania XRD, PXRD, ssNMR i modelowania molekularnego. Korzystałem z komplementarności tych metod eksperymentalnych i teoretycznych w sytuacjach, kiedy łączne ich wykorzystanie było niemożliwe. Takie podejście badawcze do opisu właściwości strukturalnych związków organicznych jest nowością naukową.

### 3.3.2. Badania własne

Wszystkie publikacje stanowiące moje osiągnięcie naukowe są powiązane tematycznie. Jednak w każdym artykule stawiam indywidualne cele badawcze, zatem każda publikacja jest odrębną i domkniętą całością. W związku z czym zdecydowałem się omówić każdą pracę oddzielnie.

**H.1.** K. Paradowska, **T. Gubica**, A. Temeriusz\*, M.K. Cyrański, I. Wawer. “<sup>13</sup>C CP MAS NMR and crystal structure of methyl glycopyranosides” *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 2299-2307.

W pracy tej zamierzałem przeprowadzić pełną analizę strukturalną wszystkich aldopentoz, czyli liksozy, arabinozy, ksylozy i rybozy. Jak wiadomo, cukry te ulegają mutarotacji. Zatem zdecydowałem się zablokować hydroksylową grupę hemiacetalową natywnych aldopentoz tworząc najprostsze acetale, czyli glikozydy metylu. Miałem wtedy pewność co do budowy cząsteczki badanych związków. Na szczęście, budowa cząsteczki tych glikozydów była bardzo zbliżona do wyjściowych związków. Zajmowałem się zatem:  $\alpha$ -D-liksopiranozydem (**1**),  $\beta$ -D-liksopiranozydem (**2**),  $\alpha$ -L-arabinopiranozydem (**3**),  $\beta$ -L-arabinopiranozydem (**4**),  $\alpha$ -D-ksylopiranozydem (**5**),  $\beta$ -D-ksylopiranozydem (**6**) oraz  $\beta$ -D-rybopiranozydem (**7**). Wykluczyłem z badań  $\alpha$ -D-rybopiranozyd metylu ze względu na to, że związek ten występuje w postaci oleju.



Komórki elementarne kryształów związków **1-4** oraz **6** i **7** zawierały jedną niezależną cząsteczkę. Jedynie komórka elementarna związku **5** zbudowana była z dwóch niezależnych struktur. Na podstawie tych danych (otrzymanych z pomiarów XRD) należałoby oczekiwać, że w pierwszym przypadku liczba sygnałów w widmach  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR będzie odpowiadać liczbie atomów węgla w cząsteczce. Tylko w przypadku związku **5** powinno obserwować się podwojenie sygnałów w widmie ssNMR. Przewidywanie to jednak nie sprawdziło się dla związków **4** i **7**. Sygnały w widmach  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR dla związków **4** i **7** występowały odpowiednio w postaci dubletów i tripletów. Na tym etapie badań trudno byłoby jednoznacznie wytłumaczyć ten fenomen, szczególnie w przypadku związku **7**. Jeżeli ta próbka zawierała trzy nierównocenne magnetycznie cząsteczki, to związek **7** mógłby składać się z trzech polimorfów, z których każdy miałby jedną niezależną cząsteczkę w komórce elementarnej kryształu. Problem ten został rozwiązany przy pomocy PXRD. Dzięki zastosowaniu tej techniki, stwierdziłem, że: (i) związek **4** składa się z dwóch polimorfów, z których każdy posiada jedną niezależną cząsteczkę w komórce elementarnej kryształu; (ii) związek **5** tworzy tylko jedną formę krystaliczną zgodną z pomiarem XRD; oraz (iii) związek **7** występuje w dwóch formach krystalicznych, z których jedna (niezmierzona za pomocą XRD) zawiera dwie niezależne cząsteczki w komórce elementarnej kryształu.

Porównanie przesunięć chemicznych w widmach NMR w roztworze z widmami  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR dla związków **1-7** potwierdziło, że grupa metoksylova jest o wiele bardziej mobilna w roztworze niż w sieci krystalicznej. Warto dodać, że na wartość różnicy pomiędzy przesunięciami chemicznymi w roztworze i w ciele stałym mają też wpływ, oprócz efektów konformacyjnych, oddziaływania międzycząsteczkowe w sieci krystalicznej. W przypadku dostępności danych z XRD bez trudu można wskazać położenie międzycząsteczkowych wiązań wodorowych. W pracy tej udowodniłem, że na podstawie korelacji pomiędzy obliczonymi stałymi ekranowania a eksperymentalnymi przesunięciami chemicznymi ( $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR) można określić położenie wiązań wodorowych bez potrzeby stosowania XRD.

**H.2. T. Gubica**, A. Temeriusz\*, K. Paradowska, A. Ostrowski, P. Klimentowska, M.K. Cyrański.

“Single-crystal and powder X-ray diffraction and solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR of *p*-nitrophenyl glycopyranosides, the derivatives of D-galactose, D-glucose, and D-mannose” *Carbohydr. Res.* **2009**, *344*, 1734-1744.

Obiektem badań strukturalnych w tej pracy były glikozydy *p*-nitrofenylu:  $\alpha$ -D-galaktopiranozyd (**1**),  $\beta$ -D-galaktopiranozyd (**2**),  $\alpha$ -D-glukopiranozyd (**3**),  $\beta$ -D-glukopiranozyd (**4**),  $\alpha$ -D-mannopiranozyd (**5**) i  $\beta$ -D-mannopiranozyd (**6**). Związki te stosuje się jako markery w badaniach nad aktywnością odpowiednich enzymów (glikozydaz), które hydrolizują wiązania glikozydowe.

Glikozydy *p*-nitrofenylu są bezbarwne. Natomiast *p*-nitrofenol, uwolniony w wyniku hydrolizy wywołanej przez glikozydazy, ma intensywne zabarwienie. Dlatego też proces ten można monitorować spektrofotometrycznie.

Struktury krystalograficzne (XRD) dla związków **3** i **5** były już opisane w literaturze. W tej pracy udało się zmierzyć kryształy związków **1** i **2**. Komórki elementarne kryształów związków **1**, **3** i hemihydratu **5** zawierały dwie niezależne cząsteczki. Podczas gdy komórki elementarne kryształów związku **2** i solwatu etanolu **5** miały jedną niezależną cząsteczkę. W widmach  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR dla związków **1-6** tylko sygnały w przypadku związku **2** występowały w postaci singletów. Zatem związek **2** powinien występować tylko w jednej formie krystalicznej, do której należał monokryształ wzięty do badań krystalograficznych. Z pomiarów PXRD wynikało jednak, że związek **2** zawiera dwie formy krystaliczne. Jedna z nich była zgodna z pomiarem XRD. Z kolei drugi, nieznan polimorf występował w małych ilościach, dlatego nie został on wykryty w pomiarach ssNMR.

Liczba linii rezonansowych w widmach  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR dla związków **1** i **3-6** przekroczyła liczbę atomów węgla w cząsteczkach tych związków. Trudno było jednak jednoznacznie stwierdzić (ze względu na niezbyt dobrą jakość widm ssNMR dla tych związków) ile nierównocennych magnetycznie molekuł występowało w każdej próbce. Pomocne okazały się pomiary PXRD. Dzięki nim potwierdziłem, że makroskopowe próbki składają się z jednej formy krystalicznej, do której należą monokryształy związków **1**, **3** i hemihydratu **5** wzięte do pomiarów XRD. Zatem próbki te zawierały po dwie nierównocenne magnetycznie molekuly. Ponadto pomiary ssNMR wykazały, że związek **4** występuje jako solwat etanolu.

**H.3. T. Gubica\***, D.K. Stępień, A. Temeriusz, K. Paradowska, E. Głowacka, M.K. Cyrański, A. Ostrowski. "Solid-state structure of *N*-*o*-, *N*-*m*-, and *N*-*p*-nitrophenyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-xylopyranosylamines" *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 2491-2498.

Pochodne *N*-fenylo- $\beta$ -D-ksylopiranozyloaminy są inhibitorami procesów enzymatycznych oraz znajdują zastosowanie jako środki grzybobójcze. Oczywiście nie wszystkie pochodne tego związku są znane. W związku z czym zsyntetyzowałem nowe nitrowe pochodne fenyloksylozyloaminy w celu określenia ich aktywności biologicznej. Otrzymałem trzy izomery: *orto* (**1**), *meta* (**2**) i *para* (**3**) *N*-nitrofenylo-2,3,4-tri-*O*-acetylo- $\beta$ -D-ksylopiranozyloaminy.

Scharakteryzowałem szczegółowo właściwości strukturalne związków **1-3** za pomocą XRD, PXRD i  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR. Najciekawszy rezultat uzyskałem dla związku **1**. Pochodna ta wykazywała przejścia polimorficzne wraz ze zmianą temperatury. Zmiany fazowe następowały w temperaturze 180K i 210K. Udało się określić struktury krystalograficzne trzech polimorfów (w

trzech różnych temperaturach). Metoda XRD wykazała, że komórka elementarna kryształu związku **1** może składać się z: czterech, trzech lub jednej niezależnej cząsteczki w zależności od temperatury, w której przeprowadzony był pomiar. Niestety nie miałem możliwości zarejestrowania widm ssNMR ani przeprowadzenia pomiarów PXRd w temperaturze poniżej 210K. Pomiarów te były przeprowadzone w temperaturze pokojowej.

**H.4. 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- $\beta$ -D-xylopyranosides" *J. Mol. Struct.* **2012**, *1007*, 227-234.

W pracy tej, oprócz standardowo wykorzystywanych przeze mnie metod eksperymentalnych, zastosowałem również skaningową kalorymetrię różnicową (DSC) oraz spektroskopię  $^{15}\text{N}$  CP/MAS NMR. Ksylozydy, które badałem w tej pracy, są analogami tlenowymi ksylozyloamin, które opisane były w poprzednim artykule. Ze względu na podobieństwo w budowie cząsteczek obu grup związków (ksylozydów i ksylozyloamin), spodziewałem się, że i w tym przypadku można zaobserwować zmianę formy krystalicznej zależną od temperatury. Dlatego też wszystkie ksylozydy nitrofenylu poddałem najpierw pomiarom DSC. Tylko dla izomeru *meta* zaobserwowałem pojedynczy sygnał w temperaturze ok. 127K. Mała intensywność tego sygnału sugerowała, że oba polimorfy mają zbliżoną energię. I rzeczywiście, pomiary XRD przeprowadzone dla izomeru *meta* potwierdziły podobne upakowanie w sieci krystalicznej obu form krystalicznych. Komórka elementarna kryształu izomeru *meta* zawierała odpowiednio cztery i jedną niezależną cząsteczkę w temperaturze 100K i 295K.

Grupa nitrowa, obecna we wszystkich izomerach (*orto*, *meta* i *para*) ksylozydów nitrofenylu, nie była koplanarna z płaszczyzną pierścienia benzenowego. Szczególnie mocno skrzywiona była ona w przypadku izomeru *orto* (ok.  $45^\circ$ ), najmniej zaś dla izomeru *meta* (ok.  $3-5^\circ$ ). Zaplanowałem sprawdzić, czy kąt skrzywienia grupy nitrowej koreluje z wartościami przesunięć chemicznych w widmach  $^{15}\text{N}$  CP/MAS NMR. Nie zaobserwowałem jednak żadnej korelacji. Postanowiłem również obliczyć teoretyczne stałe ekranowania ( $\sigma$ ) dla atomu azotu dla izolowanych cząsteczek. W tym przypadku zaobserwowałem wyraźną korelację pomiędzy kątem skrzywienia grupy nitrowej i wartościami  $\sigma$ . Mogę zatem przypuszczać, że oddziaływania w sieci krystalicznej bardziej wpływają na wartość przesunięcia chemicznego dla atomów azotu w grupie nitrowej niż sprzężenie tej grupy z pierścieniem benzenowym. Sprzężenie grupy nitrowej z pierścieniem benzenowym jest najefektywniejsze, kiedy jest ona koplanarna z płaszczyzną wyznaczoną przez układ aromatyczny.

**H.5. T. Gubica\***, D.K. Stępień, D.M. Pisklak, A. Ostrowski, M.K. Cyrański. “Single-crystal and powder X-ray diffraction,  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR, and DFT-GIAO calculations of methyl 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranoside and methyl 2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranoside” *J. Mol. Struct.* **2013**, *1036*, 407-413.

Obiektem badań w tej pracy były dwa rzadkie disacharydy zbudowane z galaktozy i glukozy. Te dwie jednostki monosacharydowe były połączone nietypowymi wiązaniami glikozydowymi:  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 2) (związek **1**) i  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) (związek **2**). Tego typu disacharydy mogą stać się cennym środkiem dietetycznym, tak jak palatynoza. Związek ten jest również nietypowym disacharydem, izomerem sacharozy, w którym glukoza i fruktoza połączone są wiązaniem  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) glikozydowym. Dzięki nietypowemu połączeniu jednostek monosacharydowych w palatynozie, jest ona wolniej hydrolizowana w porównaniu do sacharozy. Dlatego też palatynoza ma dużo mniejszy indeks glikemiczny w porównaniu do sacharozy. Dodatek palatynozy do napojów dla sportowców dostarcza glukozę powoli i w sposób ciągły.

Przed rozpoczęciem badań biologicznych, postanowiłem najpierw dokładnie opisać właściwości strukturalne związków **1** i **2**. Dla związku **1** udało się rozwiązać jego strukturę za pomocą XRD. Trudności sprawiał związek **2**, gdyż jego kryształy były zbliżnione. Mimo wielu prób, nie udało się ustalić struktury związku **2** za pomocą XRD. Wyznaczono jedynie parametry komórki elementarnej, która składa się z dwóch niezależnych cząsteczek. Natomiast komórka elementarna kryształu związku **1** zbudowana jest z trzech niezależnych cząsteczek. Pomiarzy PXRDR wykazały, że próbka **1** tworzy jedną formę krystaliczną odpowiadającą danym uzyskanym z XRD. Natomiast próbka **2** składa się z dwóch lub trzech polimorfów. Jednakowa intensywność składowych multipletów w widmie  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR dla związku **2** sugeruje, że zawartość poszczególnych form krystalicznych w tej próbce jest zbliżona.

Przy atomie węgla C-6 glukozy w jednej z niezależnych cząsteczek związku **1**, widoczne było nieuporządkowanie (na podstawie XRD). Fakt ten znalazł swoje potwierdzenie w spektroskopii ssNMR. Otóż teoretycznie obliczone przesunięcie chemiczne dla tego atomu było wyraźnie większe niż analogiczna wartość eksperymentalna. Pozostałe wartości teoretycznych i eksperymentalnych przesunięć chemicznych dobrze ze sobą korelowały ( $R^2 > 0,99$ ).

**H.6. T. Gubica\***, J. Bukowicki, D.K. Stępień, A. Ostrowski, D.M. Pisklak, M.K. Cyrański. “Solid-state structure of methyl 2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-galactopyranoside and methyl 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-galactopyranoside” *J. Mol. Struct.* **2013**, 1037, 49-56.

W tej pracy zająłem się również nietypowymi disacharydami zbudowanymi z glukozy i galaktozy, które były połączone wiązaniami glikozydowymi  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) (związek **1**) i  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 2) (związek **2**). Różnica w budowie tych rzadkich disacharydów, w porównaniu z poprzednim artykułem, polegała na odwrotnym położeniu obu jednostek monosacharydowych.

Celem tej pracy było sprawdzenie czy obliczenia teoretyczne mogą przewidzieć właściwości strukturalne związków **1** i **2**. Za pomocą mechaniki molekularnej (pole siłowe MM3) wspomaganej algorytmem genetycznym i obliczeniami DFT utworzyłem tzw. mapy adiabatyczne. Na mapach tych przedstawiona była energia poszczególnych konformacji (w postaci izolacji) w funkcji dwóch kątów torsyjnych ( $\varphi$  i  $\psi$ ) wokół wiązania glikozydowego łączącego glukozę z galaktozą. Warto dodać, że w tym artykule po raz pierwszy zastosowany został algorytm genetyczny do przeszukiwania przestrzeni konformacyjnej sfunkcjonalizowanych disacharydów. Użycie tego narzędzia obliczeniowego pozwoliło bardzo wydajnie skrócić czas obliczeń. Na mapie adiabatycznej związku **1** widoczne było jedno głębokie minimum energetyczne oraz trzy lokalne minima. Podobnie dla związku **2** uzyskałem cztery minima energetyczne. Przy czym dwa najgłębsze minima miały podobną energię, ale różniły się znacząco konformacją. Taka obserwacja może tłumaczyć fakt, że cząsteczki związku **2** nie są w stanie utworzyć sieci krystalicznej i dlatego związek ten występuje w formie amorficznej (rezultat ten potwierdzony przez PXRD i ssNMR).

Położenie globalnego minimum energetycznego na mapie adiabatycznej związku **1** odbiegało niewiele od kątów  $\varphi$  i  $\psi$  wyznaczonych w pomiarze XRD. Konformacja o najniższej energii oraz struktura uzyskana na podstawie XRD różniły się nieznacznie położeniem grup egzocyklicznych.

Porównanie przesunięć chemicznych w widmach  $^{13}\text{C}$  NMR zarejestrowanych w roztworze i w ciele stałym dla związku **1** doprowadziło mnie do wniosku, że reszta glukozy, w przeciwieństwie do galaktozy, ma większą labilność konformacyjną w kryształach. Hipoteza ta ma też swoje uzasadnienie w strukturze XRD, gdyż atomy w reszcie glukozy mają większe elipsoidy drgań niż w przypadku galaktozy.

**H.7. T. Gubica\***, Ł. Szeleszczuk, D.M. Pisklak, D.K. Stępień, M.K. Cyrański, M. Kańska.  
“Reliable evaluation of molecular structure of methyl 3-*O*-nitro- $\alpha$ -D-glucopyranoside and its intermediates by means of solid-state NMR spectroscopy and DFT optimization in the absence of appropriate crystallographic data” *Tetrahedron* **2014**, 70, 1910-1917.

W pracy tej opisałem m.in. syntezę nowego azotanu glukozy (3-*O*-nitro- $\alpha$ -D-glukopiranozyd metylu (**5**)), który może stać się nowym lekiem w chorobach sercowo-naczyniowych. Związek ten otrzymałem w czteroetapowej syntezie wychodząc z  $\alpha$ -D-glukopiranozydu metylu (**1**). Najpierw wprowadziłem zabezpieczenie dwóch grup hydroksylowych przy atomach węgla C-4 i C-6 w **1** i w ten sposób uzyskałem 4,6-*O*-etylideno- $\alpha$ -D-glukopiranozyd metylu (**2**). Pozostałe dwie wolne grupy hydroksylowe przy atomach węgla C-2 i C-3 w związku **2** zestryfikowałem i uzyskałem 2,3-di-*O*-nitro-4,6-*O*-etylideno- $\alpha$ -D-glukopiranozyd metylu (**3**). Następnie zhydrolizowałem selektywnie ugrupowanie estrowe przy atomie węgla C-2 w związku **3** i otrzymałem 3-*O*-nitro-4,6-*O*-etylideno- $\alpha$ -D-glukopiranozyd metylu (**4**). Końcowym etapem syntezy było zdjęcie zabezpieczenia z grup hydroksylowych przy atomach węgla C-4 i C-6 w związku **4**.

Postaram się teraz wyjaśnić, dlaczego otrzymany przeze mnie po raz pierwszy związek **5** zasługuje na szczególne zainteresowanie. Otóż wszystkie azotany organiczne stosowane w farmakoterapii bez względu na rodzaj ugrupowania organicznego mają jednakowy mechanizm działania. Kluczowe jest bowiem powstanie tlenku azotu (NO), który jest aktywnym metabolitem wszystkich tego typu leków. Pomimo że w leczeniu stosuje się dużo różnych azotanów organicznych, wciąż sensowne jest wprowadzanie na rynek nowych reprezentantów tej klasy leków. Wielu pacjentów wymaga przewlekłego stosowania azotanów organicznych. Wraz z kontynuacją leczenia, osłabia się działanie tych leków. Zwiększenie dawki zwykle nie rozwiązuje tego problemu, gdyż nasilają się wtedy objawy uboczne. Najlepszym sposobem, żeby nie dopuścić do powstania tolerancji na dany azotan organiczny, jest zamiana na inny tego typu lek. Tak jak wspomniałem powyżej, azotany organiczne same w sobie nie posiadają właściwości terapeutycznych, substancją odpowiedzialną za aktywność biologiczną jest NO. Moim zdaniem reszta organiczna, która pozostaje po wytworzeniu NO z odpowiedniego azotanu, powinna być przynajmniej mało toksyczna. Taki warunek spełniony jest chociażby dla nitrogliceryny, ponieważ reszta organiczna (gliceryna) nie jest substancją toksyczną. Podobna sytuacja miałaby miejsce w przypadku rozpatrywanego azotanu glukozy (**5**). Związek **1**, który prawdopodobnie powstałby po uwolnieniu NO ze związku **5**, jest nieszkodliwy. A co najważniejsze, ze względu na duże podobieństwo strukturalne związku **5** do glukozy, oczekiwałbym, że związek ten mógłby być rozpoznawany przez transportery glukozy. Wtedy to biodostępność związku **5** byłaby bardzo wysoka.

Oprócz przeprowadzenia syntezy związku **5**, zamierzałem również wykonać pomiary XRD dla związków **2-5**. (Pomiar XRD dla związku **1** został już wcześniej opublikowany). Niestety, mimo licznych prób, nie udało się otrzymać odpowiedniego monokryształu związku **5**. Z kolei związek **2** jest bardzo higroskopijny, zatem pomiar XRD byłby niezwykle trudny, o ile w ogóle możliwy, do przeprowadzenia. Natomiast bez większych problemów udało się otrzymać dobrej jakości monokryształy związków **3** i **4**, dla których wykonano pomiary XRD.

Jedyna różnica w budowie cząsteczek związków **5** i **1** oraz **2** i **4** polega odpowiednio na obecności i braku grupy azotanowej. Postanowiłem zatem wykorzystać struktury krystalograficzne związków **1** i **4** wprowadzając i usuwając odpowiednio grupę azotanową. Otrzymane w ten sposób struktury potraktowałem jako geometrie wyjściowe do dalszej optymalizacji za pomocą metod DFT. Podejście takie, oczywiście, nie gwarantowało otrzymania wiarygodnych struktur związków **5** i **2**. W celu weryfikacji nowo otrzymanych przestrzennych struktur wykorzystałem spektroskopię  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR. Obliczyłem dla struktur związków **5** i **2** teoretyczne przesunięcia chemiczne i porównałem je z eksperymentalnymi przesunięciami.  $R^2$  dla tych korelacji wynosił odpowiednio 0,984 i 0,998. W związku z czym uznałem, że otrzymane struktury są wiarygodne. Struktura przestrzenna związku **5** jest ważna, ponieważ poszerza informacje strukturalne o tej obiecującej pochodnej glukozy. Z kolei struktura cząsteczki związku **2** przypomina bardzo ważny hydro- i organożelator, tj. 4,6-*O*-benzylideno- $\alpha$ -D-glukopiranozyd metylu. Właściwości żelujące tego związku wynikają ze specyficznego ułożenia grup hydroksylowych przy atomach węgla C-2 i C-3, dzięki czemu mogą tworzyć się usieciowania w strukturze hydrożelu. Okazuje się, że w związku **2** występuje jednakowe ułożenie wymienionych wyżej grup hydroksylowych. Nic więc dziwnego, że związek **2**, podobnie do 4,6-*O*-benzylideno- $\alpha$ -D-glukopiranozydu metylu, wykazuje duże powinowactwo do wody.

**H.8.** J. Bukowicki, **T. Gubica\***, Ł. Szeleszczuk. “Time-effective and reliable solid-state structure evaluation of selected peracetylated  $\beta$ -maltose derivatives by means of grid search, genetic algorithm and DFT calculations” *Tetrahedron* **2014**, 70, 4008-4016.

W pracy tej zamierzałem poprawić metodę analizy konformacyjnej opisaną w artykule H.6 w ten sposób, aby maksymalnie skrócić czas obliczeń i jednocześnie uzyskać lepszą zgodność między strukturą teoretyczną i eksperymentalną (XRD). W związku z czym zastosowałem lepiej sparametryzowane pole siłowe (MMFF94 zamiast MM3) oraz wykorzystywałem różne wartości stałych dielektrycznych. Ponadto nie starałem się uzyskać pełnych map adiabatycznych. Jedynie obszary o mniejszej energii poddałem głębszej analizie. Te zabiegi sprawiły, że w relatywnie

krótkim czasie obliczeń uzyskałem prawie idealną zgodność konformacji teoretycznej ze strukturą XRD dla peracetylowanej  $\beta$ -maltozy (**1**).

Zaplanowałem również otrzymać wiarygodne konformacje dla dwóch innych peracetylowanych pochodnych  $\beta$ -maltozy (glikozydu metylu (**2**) i tioglikozydu etylu (**3**)), dla których nie udało się otrzymać odpowiednich monokryształów. W celu potwierdzenia wiarygodności uzyskanych struktur posłużyłem się spektroskopią  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR. Korelacje pomiędzy teoretycznymi i eksperymentalnymi przesunięciami chemicznymi były nawet lepsze niż w przypadku związku **1**. Zatem udało mi się zastąpić pomiar XRD dla związków **2** i **3** metodami teoretycznymi.

### 3.3.3. Podsumowanie

Określenie struktury cząsteczki za pomocą XRD jest obecnie najlepszą metodą służącą do ustalenia połączeń poszczególnych atomów. Dane o strukturze cząsteczki potwierdzają w sposób jednoznaczny budowę chemiczną nowo otrzymanego związku. Znajomość najtrwalszej konformacji cząsteczki jest szczególnie istotna w dokowaniu, tj. obliczeniach mających na celu określenie najlepszego dopasowania molekularnego między ligandem a receptorem, enzymem lub innymi białkowymi molekułami. Trudno przecenić obecnie rolę dokowania w farmacji *in silico*. Zatem znajomość odpowiednich struktur cząsteczek, w tym najtrwalszych konformacji, jest niezwykle pożądana.

Wśród związków, które zsyntetyzowałem podczas realizacji mojej rozprawy habilitacyjnej, są potencjalne inhibitory enzymów i środki dietetyczne oraz obiecujący azotan glukozy. Znajomość struktury i konformacji cząsteczek tych substancji jest zatem bardzo potrzebna do wstępnej oceny ich aktywności. Napotkałem, niestety, trudności w wykonaniu analizy XRD w kilku przypadkach. Opracowałem jednak skuteczną metodologię, która pozwala zastąpić pomiary XRD za pomocą obliczeń DFT i spektroskopii ssNMR.

Zakres moich badań będących przedmiotem habilitacji obejmował: syntezę organiczną, pomiary fizykochemiczne i obliczenia teoretyczne. Moim osiągnięciem było przeprowadzenie wieloetapowych syntez i otrzymanie 27 glikozydów. Ponadto określiłem, w nowatorski sposób, właściwości strukturalne 31 glikozydów. Kolejnym celem mojej rozprawy habilitacyjnej było wykazanie, że metody eksperymentalne (XRD, PXRD, ssNMR i DSC) oraz teoretyczne (modelowanie molekularne i algorytm genetyczny) wzajemnie się uzupełniają i pozwalają otrzymać wiarygodne informacje strukturalne nawet w trudnych eksperymentalnie przypadkach. W publikacjach habilitacyjnych zajmowałem się pochodnymi sacharydów. Sądzę jednak, że zastosowana przeze mnie metodologia badań nie ogranicza się do cukrów i ma charakter ogólny.



W moim osiągnięciu naukowym zaprezentowałem nowe podejście w dziedzinie badań strukturalnych. Nie spotkałem się bowiem w literaturze naukowej z tak postawionym celem badawczym.

#### **4. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych**

Moja praca doktorska miała charakter interdyscyplinarny. Zajmowałem się bowiem syntezą nitrofenylowych pochodnych sacharydów o zróżnicowanej złożoności molekularnej, jak również badaniami strukturalnymi i elektrochemicznymi otrzymanych związków. Zsyntetyzowane przeze mnie związki były pochodnymi mono-, di- i oligosacharydów sprzężonymi z izomerami nitrofenolu oraz nitroaniliny.

Chociaż większość z otrzymanych przeze mnie związków była opisana w literaturze chemicznej, to prawie zawsze starałem się udoskonalić drogę syntezy lub zastosować nowe metody otrzymywania. Warto dodać, że podczas realizacji mojej pracy doktorskiej uzyskałem sześć nowych związków w tym trzy pochodne cyklodekstryn.

Po uzyskaniu znaczącej liczby pochodnych sacharydów, zająłem się badaniami strukturalnymi otrzymanych związków. Dla dwunastu zsyntetyzowanych glikozydów i glikozyloamin wykonano pomiary dyfrakcji rentgenowskiej pojedynczych kryształów oraz zarejestrowano widma NMR techniką dla ciała stałego. Uzyskane rezultaty badań strukturalnych pozwoliły mi na właściwą interpretację wyników pomiarów elektrochemicznych, które przeprowadziłem dla większości otrzymanych związków.

W wyniku przeprowadzonych przeze mnie badań elektrochemicznych (woltamperometria cykliczna i chronokulometria) mogłem ustalić wpływ struktury nieelektroaktywnego fragmentu cząsteczki na właściwości elektrochemiczne całej elektroaktywnej molekuly. Grupa nitrofenylowa, obecna w każdym otrzymanym przeze mnie związku, stanowiła dobry elektrochemiczny wskaźnik do sprawdzenia wpływu struktury cząsteczki na jej właściwości elektrochemiczne.

W trakcie realizacji pracy doktorskiej zająłem się również dodatkową tematyką badawczą, którą kontynuuję do chwili obecnej. Badam wpływ natywnych i modyfikowanych cyklodekstryn na reakcje chemiczne z udziałem aminokwasów katalizowane przez odpowiednie enzymy. Tematyka ta nie została włączona do mojej pracy doktorskiej, jak i nie stanowi części prezentowanego osiągnięcia naukowego.

Zarówno natywne jak i modyfikowane cyklodekstryny mogą tworzyć kompleksy inkluzyjne z aromatycznymi aminokwasami. Mogą one również tworzyć kompleksy z produktami enzymatycznego rozkładu aminokwasów. Co więcej, cyklodekstryny oddziałują również z samymi enzymami prowadząc do zwiększenia lub osłabienia ich aktywności katalitycznej. Określenie wpływu cyklodekstryn na przebieg reakcji enzymatycznych może przyczynić się np. do rozwoju

nowych metod leczenia fenyloketonurii. Jak wiadomo, na to schorzenie genetyczne nie ma skutecznych leków. Jediną dostępną metodą terapii jest odpowiednia dieta uboga w fenyloalaninę. Taka dieta jest jednak uciążliwa dla pacjentów, stąd poszukiwania alternatywnych metod leczenia. Donoszono w literaturze [R.M. Shah, A.P. D'mello. *Int. J. Pharm.* 2007, 331, 107-115], że enzym amoniakoliza fenyloalaninowa (PAL) poddany obróbce z wybranymi cyklodekstrynami jest o wiele bardziej odporny na hydrolizę podczas stosowania doustnego. Enzym ten rozkłada fenyloalaninę do kwasu cynamonowego, który jest o wiele mniej toksyczny niż kwas fenylopirogronowy powstający również z fenyloalaniny, ale w organizmach osób chorych. Zatem podanie doustne tak przygotowanego enzymu PAL (bardziej odpornego na rozkład niż w postaci natywnej) niesie nadzieję dla chorych na fenyloketonurię na większy komfort leczenia.

W swoich badaniach stwierdziłem, że obiecującymi cyklodekstrynami do zastosowań w fenyloketonurii jest natywna  $\beta$ -cyklodekstryna i heksakis(2,3-di-*O*-metylo)- $\alpha$ -cyklodekstryna. W obecności tych dwóch cyklodekstryn zaobserwowałem zwiększoną aktywność enzymu PAL.

#### 4.1. Lista artykułów przed uzyskaniem stopnia doktora:

1. A. Temeriusz\*, **T. Gubica**, P. Rogowska, K. Paradowska, M.K. Cyrański. "Crystal structure and solid state  $^{13}\text{C}$  NMR analysis of nitrophenyl 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-gluco- and D-galactopyranosides" *Carbohydrate Research* **2005**, 340, 1175-1184. **IF<sub>2005</sub> 1,669**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- opracowaniu pełnej charakterystyki analitycznej otrzymanych związków
- redakcji części tekstu publikacji

Mój udział szacuję na 45%.

2. A. Temeriusz\*, **T. Gubica**, P. Rogowska, K. Paradowska, M.K. Cyrański. "Crystal structure and solid state  $^{13}\text{C}$  NMR analysis of *N-p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-ribofuranosylamine, *N-p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-xylofuranosylamine, and solid state  $^{13}\text{C}$  NMR analysis of *N-p*-nitrophenyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-lyxofuranosylamine and *N-p*-nitrophenyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-arabinofuranosylamine" *Carbohydrate Research* **2005**, 340, 2645-2653. **IF<sub>2005</sub> 1,669**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- opracowaniu pełnej charakterystyki analitycznej otrzymanych związków

- redakcji części tekstu publikacji

Mój udział szacuję na 45%.

3. **T. Gubica**, E. Boroda, A. Temeriusz\*, M. Kańska. "Effects of Native and Permethylated Cyclodextrins on the Catalytic Activity of L-Tryptophan Indole Lyase" *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **2006**, 54, 283-288. **IF<sub>2006</sub> 1,251**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- udziale w określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- udziale w wykonaniu pomiarów kinetyki enzymatycznej
- interpretacji wyników
- redakcji całego tekstu publikacji

Mój udział szacuję na 70%.

4. A. Temeriusz\*, **T. Gubica**, P. Rogowska, K. Paradowska, M.K. Cyrański. "Crystal structure and solid-state <sup>13</sup>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* **2006**, 341, 2581-2590. **IF<sub>2006</sub> 1,703**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- redakcji całego tekstu publikacji

Mój udział szacuję na 70%.

5. **T. Gubica**, J. Stroka, A. Temeriusz\*. "Synthesis and electrochemical study of nitrophenyl derivatives of β-cyclodextrin" *Journal of Physical Organic Chemistry* **2007**, 20, 375-383. **IF<sub>2007</sub> 1,594**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- udziale w określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- wykonaniu badań elektrochemicznych
- redakcji części tekstu publikacji

Mój udział szacuję na 70%.

#### **4.2. Lista artykułów po uzyskaniu stopnia doktora niebędących przedmiotem rozprawy habilitacyjnej:**

1. **T. Gubica**, E. Winnicka, A. Temeriusz\*, M. Kańska. "The influence of selected *O*-alkyl derivatives of cyclodextrins on the enzymatic decomposition of L-tryptophan by L-tryptophan indole-lyase" *Carbohydrate Research* **2009**, *344*, 304-310. **IF<sub>2009</sub> 2,025**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- udziale w wykonaniu pomiarów kinetyki enzymatycznej
- interpretacji wyników
- redakcji całego tekstu publikacji

Mój udział szacuję na 70%.

2. **T. Gubica**, A. Temeriusz\*, P. Pawłowski, J. Stroka. "Molecular structure of nitrophenyl *O*-glycosides in relation to their redox potentials" *Journal of Physical Organic Chemistry* **2010**, *23*, 853-858. **IF<sub>2010</sub> 1,478**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- udziale w wykonaniu badań elektrochemicznych
- interpretacji wyników
- redakcji całego tekstu publikacji

Mój udział szacuję na 75%.

3. **T. Gubica\***, A. Pełka, K. Pałka, A. Temeriusz, M. Kańska. "The influence of cyclomaltooligosaccharides (cyclodextrins) on the enzymatic decomposition of L-phenylalanine catalyzed by phenylalanine ammonia-lyase" *Carbohydrate Research* **2011**, *346*, 1855-1859. **IF<sub>2011</sub> 2,332**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań

- udziale w przeprowadzeniu syntezy organicznej
- udziale w wykonaniu pomiarów kinetyki enzymatycznej
- interpretacji wyników
- redakcji całego tekstu publikacji

Mój udział szacuję na 70%.

4. **T. Gubica\***, J. Stroka, A. Temeriusz, M. Kańska. "Cyclic voltammetry of nitrophenyl *N*-glycosides on mercury electrode" *Journal of Physical Organic Chemistry* **2011**, 24, 1229-1234. **IF**<sub>2011</sub> **1,963**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- wykonaniu badań elektrochemicznych
- udziale w interpretacji wyników
- redakcji całego tekstu publikacji

Mój udział szacuję na 80%.

5. **T. Gubica\***, M. Mazur, Ł. Szeleszczuk, A. Temeriusz, M. Kańska. "The influence of native and methylated  $\beta$ -cyclodextrin on the electroreduction of nitrophenyl glycosides" *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2013**, 699, 40-47. **IF**<sub>2013</sub> **2,871**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na:

- określeniu celu naukowego i zaplanowaniu badań
- przeprowadzeniu syntezy organicznej
- wykonaniu badań elektrochemicznych
- udziale w interpretacji wyników
- redakcji części tekstu publikacji

Mój udział szacuję na 60%.

## 5. Czynny udział w konferencjach naukowych

1. XLVI Zjazd PTChem i SITPChem, Lublin **2003**

P. Rogowska, **T. Gubica**, M.K. Cyrański, T.M. Krygowski, A. Temeriusz, K. Paradowska.  
„Synteza i badania strukturalne *N*-glikopiranozydów” *poster*

2. International Conference on Electrode Processes, Szczyrk **2004**  
**T. Gubica**, P. Pawłowski, J. Stroka, A. Temeriusz. “Electrochemical Study of Nitrophenyl *O*-Glycopyranosides Reduction on the Mercury Electrode” *poster*
3. 13<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium, Bratislava, Slovakia **2005**  
**T. Gubica**, E. Boroda, A. Temeriusz, M. Kańska. ”Effects of Native and Permethylated Cyclodextrins on the Catalytic Activity of L-Tryptophan Indole Lyase” *poster*
4. 13<sup>th</sup> International Cyclodextrin Symposium, Torino, Italy **2006**  
**T. Gubica**, J. Stroka, A. Temeriusz. “Synthesis and Study of Electrochemical Behaviour of New Nitrophenyl Derivatives of  $\beta$ -Cyclodextrin” *poster*
5. 3<sup>rd</sup> ERA Chemistry “Flash” Conference, Killarney, Ireland **2008**  
E. Winnicka, **T. Gubica**, M. Kańska, A. Temeriusz. “The Influence of Selected Alkyl Derivatives of Cyclodextrins on the Catalytic Activity of L-Tryptophan Indole Lyase” *poster*
6. 19<sup>th</sup> IUPAC Conference on Physical Organic Chemistry, Santiago de Compostela, Spain **2008**  
**T. Gubica**, P. Pawłowski, J. Stroka, A. Temeriusz, Z. Galus. “The Influence of Molecular Structure of Nitrophenyl *O*-Glycopyranosides on their Electrochemical Properties” *komunikat ustny*
7. 51. Zjazd PTChem i SITPChem, Opole **2008**  
**T. Gubica**, J. Stroka, A. Temeriusz. „Woltamperometria cykliczna na elektrodzie rtęciowej (WKER) nitrofenyloowych glikozyloamin” *komunikat ustny*
8. 10<sup>th</sup> Latin American Conference on Physical Organic Chemistry, Florianópolis, Brazil **2009**  
**T. Gubica**, A. Temeriusz, K. Paradowska, A. Ostrowski, P. Klimientowska, M.K. Cyrański. “Structural analysis of *p*-nitrophenyl glycosides” *wykład*
9. 26<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium, Madrid, Spain **2012**  
**T. Gubica**, A. Temeriusz, D.K. Stępień, J. Bukowicki, A. Ostrowski, D.M. Pisklak, M.K. Cyrański. “Comprehensive structural analyses of disaccharides with unusual linkage” *komunikat ustny*
10. 17<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium, Tel-Aviv, Israel **2013**  
**T. Gubica**, M. Mazur, Ł. Szeleszczuk, A. Temeriusz, M. Kańska. “The influence of native and methylated  $\beta$ -cyclodextrin on the electroreduction of nitrophenyl glycosides” *komunikat ustny*
11. 27<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium, Bangalore, India **2014**  
**T. Gubica**, Ł. Szeleszczuk, D.M. Pisklak, D.K. Stępień, M.K. Cyrański. “Reliable evaluation of molecular structure of carbohydrates by CP/MAS NMR spectroscopy and DFT optimization in the absence of crystallographic data” *komunikat ustny*

## 6. Współpraca z jednostkami naukowymi

1. Zespół prof. dr hab. Michała K. Cyrańskiego. Pracownia Krystalochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski. Pomiary dyfrakcji rentgenowskiej pojedynczych kryształów.
2. Zespół prof. dr hab. Marianny Kańskiej. Pracownia Chemii Biomolekuł, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski. Badania nad aktywnością katalityczną enzymów w obecności cyklodekstryn.
3. Dr hab. Maciej Mazur. Pracownia Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski. Pomiary elektrochemiczne.
4. Dr Andrzej Ostrowski. Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska. Pomiary dyfrakcji rentgenowskiej proszków.

## 7. Granty

1. Grant promotorski KBN (1 T09A 001 30) „Synteza i badania elektrochemiczne nitrofenylowych pochodnych sacharydów w obecności natywnej i permetylowanej  $\beta$ -cyklodekstryny”. Czas realizacji: 18 miesięcy (2006-2007). Kierownik grantu: prof. dr hab. Andrzej Temeriusz. W grantcie tym pełniłem rolę głównego wykonawcy.
2. Grant Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego „Młodzi Naukowcy” (FW28/PM1/11) „Synteza i kompleksowe badania strukturalne pochodnych sacharydów stosowanych w enzymologii”. Czas realizacji: 2 lata (2011-2012). W grantcie tym pełniłem rolę kierownika i głównego wykonawcy.

## 8. Recenzowanie

Od roku 2009 do chwili obecnej przygotowałem recenzje: 7 prac oryginalnych, 5 prac przeglądowych i 2 podręczników akademickich w następujących czasopismach: *Carbohydrate Research* (IF<sub>2013</sub> 1,966) (3×), *Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego WUM* (4×), *Przemysł Chemiczny* (IF<sub>2013</sub> 0,367) (2×), *Trends in Food Science and Technology* (IF<sub>2013</sub> 4,651) (1×), *Monatshefte für Chemie* (IF<sub>2013</sub> 1,347) (1×), *Current Pharmaceutical Analysis* (IF<sub>2013</sub> 0,771) (1×), *Molbank* (1×) oraz *Nutrition and Dietary Supplements* (1×).

## 9. Osiągnięcia dydaktyczne

### 9.1. Kierownictwo i opieka nad pracami magisterskimi

1. „Synteza pochodnych 6-monoamino- $\beta$ -cyklodekstryny” A. Bartodziej (r. akad. 2003/2004)
2. „Elektrochemiczne właściwości nitrofenyloglikopiranozydów” P. Pawłowski (r. akad. 2003/2004)
3. „Badanie reakcji elektrodowych nitrofenyloglikopiranozydów metodami elektrochemicznymi” M. Stasiewicz (r. akad. 2004/2005)
4. „Wpływ *per*(2,3,6-tri-*O*-2'-metoksyetylo)- $\alpha$ -cyklodekstryny na katalityczną aktywność L-tryptofan indol liazy” M. Rackiewicz (r. akad. 2005/2006)
5. „Oddziaływania pomiędzy modyfikowanymi cyklodekstrynami a L-tryptofan indol liazą” A. Minkowska (r. akad. 2006/2007)
6. „Zmiana aktywności L-tryptofan indol liazy w obecności modyfikowanych cyklodekstryn” K. Ferszt (r. akad. 2006/2007)
7. „Wpływ pochodnych cyklodekstryn na reologiczne właściwości mikro- i nanoproszków ceramicznych” I. Żeglińska (r. akad. 2007/2008)
8. „Wpływ natywnych i selektywnie *O*-metylowanych pochodnych cyklodekstryn na aktywność katalityczną enzymu liazy fenyloalaninowej” A. Pełka (r. akad. 2009/2010)
9. „Synteza i rentgenowska analiza strukturalna wybranych pochodnych 2,3,4-tri-*O*-acetylo- $\beta$ -D-ksylopiranozyloaminy oraz 2,3,4-tri-*O*-acetylo- $\beta$ -D-ksylopiranozydu” E. Głowacka (r. akad. 2011/2012)
10. „Analiza konformacyjna pochodnych maltozy za pomocą algorytmu genetycznego i spektroskopii NMR dla ciała stałego” M. Mądra (r. akad. 2012/2013)

### 9.2. Kierownictwo i opieka nad pracami licencjackimi

1. „Próby syntezy i charakterystyki kompleksów inkluzyjnych L-fenyloalaniny z cyklodekstrynami” K. Szubstarska (r. akad. 2009/2010)
2. „Próby syntezy i charakterystyki kompleksów inkluzyjnych L-tryptofanu z cyklodekstrynami” K. Walicka (r. akad. 2009/2010)
3. „Próby syntezy i charakterystyki kompleksów inkluzyjnych L-tyrozyny z cyklodekstrynami” M. Wajk (r. akad. 2009/2010)



### 9.3. Prowadzenie zajęć dydaktycznych

Zajęcia dydaktyczne prowadzone na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego:

1. Pracownia Chemii Organicznej I (r. akad. 2002/2003)
2. Pracownia z Syntezy Organicznej (r. akad. 2003/2004)
3. Proseminarium z Podstaw Chemii Organicznej (r. akad. 2004/2005)
4. Pracownia Identyfikacji Związków Organicznych (od r. akad. 2007/2008 do 2009/2010)
5. Proseminarium z Identyfikacji Związków Organicznych (od r. akad. 2007/2008 do 2009/2010)
6. Pracownia Chemii Organicznej dla studentów Wydziału Biologii UW (r. akad. 2007/2008)

Zajęcia dydaktyczne prowadzone na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego:

1. Ćwiczenia Laboratoryjne z Chemii Fizycznej (kierunek: farmacja) (od r. akad. 2010/2011 do chwili obecnej; kierownik przedmiotu od r. akad. 2011/2012 do chwili obecnej)
2. Ćwiczenia Laboratoryjne z Chemii Fizycznej (kierunek: analityka medyczna) (r. akad. 2010/2011 i od 2013/2014 do chwili obecnej)
3. Ćwiczenia Rachunkowe z Chemii Fizycznej (kierunek: farmacja) (r. akad. 2014/2015)

### 9.4. Autorstwo materiałów dydaktycznych

Jestem redaktorem i współautorem skryptu dla studentów farmacji i analityki medycznej:

**T. Gubica**, K. Gulik, M.K. Jamróz, S. Kaźmierski, K. Łastawska, K. Paradowska, D.M. Pisklak, Ł. Szeleszczuk, S. Warycha, K. Zawada, A. Zimniak: Ćwiczenia laboratoryjne z chemii fizycznej. Wydanie V. Warszawa: Oficyna Wydawnicza Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, 2012 r., ISBN-978-83-7637-212-9.

### 10. Działalność popularyzatorska

1. Przygotowanie pokazu ciekawych doświadczeń chemicznych w Laboratorium Dydaktyki Chemii (Wydział Chemii UW) dla uczniów gimnazjów (2001 r.).
2. Przygotowanie pokazu ciekawych doświadczeń chemicznych podczas V Festiwalu Nauki na Wydziale Chemii UW (2001 r.).
3. Prowadzenie warsztatów dla uzdolnionej młodzieży w ramach Krajowego Funduszu na Rzecz Dzieci (Wydział Chemii UW, 2010 r.)

4. Wygłoszenie wykładu „Wykorzystanie spektroskopii NMR do badań strukturalnych pochodnych sacharydów” dla Studenckiego Koła Naukowego „Free Radical” na Wydziale Farmaceutycznym WUM (2012 r.).
5. Wygłoszenie wykładu „Miażdż cyklodekstryn z amoniakolizacją fenyloalaninową nadzieją dla chorych na fenylketonurię” podczas seminarium dla nauczycieli szkół warszawskich „Co wspomaga nasze zdrowie, czyli o suplementach diety” zorganizowanym na Wydziale Farmaceutycznym WUM (2014 r.).

## 11. Podsumowanie dorobku naukowego

Liczba wszystkich artykułów: **18**

Liczba artykułów po doktoracie: **13**

(Jestem pierwszym autorem w 13 artykułach oraz autorem korespondencyjnym w 9 artykułach)

Sumaryczny współczynnik IF (zgodnie z rokiem opublikowania): **35,108**

Liczba wszystkich/niezależnych cytowań: **57/32** (wg bazy Web of Science®)

Indeks Hirscha: **5** (wg bazy Web of Science®)

J. Gubica