

# AUTOREFERAT

**„LASEROWA FOTOLIZA BŁYSKOWA W BADANIACH POCHODNYCH  
BENZOFENONU JAKO SENSYBILIZATORÓW RODNIKOWYCH  
PROCESÓW FOTOCHEMICZNYCH O ZNACZENIU BIOLOGICZNYM”**

dr Tomasz Pędziński



## 1. Informacje podstawowe

### Dane osobowe

Imię i nazwisko: Tomasz Pędziński  
Data urodzenia: 23/04/1972  
Miejsce urodzenia: Poznań, Polska

### Wykształcenie

2003 doktor nauk chemicznych, praca doktorska pt. „*Badanie właściwości fotofizycznych i fotochemicznych pochodnych akrydyny w roztworach. Procesy przeniesienia energii i przeniesienia elektronu*”  
promotor: prof. dr hab. Bronisław Marciniak

1997 magister chemii, praca magisterka pt. „*Badanie luminescencji estrów szczawianowych w roztworach*”  
promotor: prof. dr hab. Marian Elbanowski

### Przebieg kariery zawodowej

2005 - obecnie adiunkt na **Wydziale Chemii UAM**

2011 - obecnie **Wielkopolskie Centrum Zaawansowanych Technologii (WCZT)**,  
koordynator projektu ds. infrastruktury badawczej, starszy specjalista

2015 staż naukowy (1 miesiąc) w Radiation Laboratory, **University of Notre Dame**, IN, USA

2012-2015 kierownik projektu **NCN OPUS2**  
tytuł projektu: “Indukowane fotochemicznie procesy rodnikowe w cząsteczkach aminokwasów i biologicznie aktywnych peptydów zawierających metioninę”

2010-2012 p. o. kierownika projektu COST (dofinansowanie udziału w projekcie międzynarodowym COST Action CM0603)

2010-2011 kierownik projektu CLIO IC 016-10/11 – **University Paris-Sud**, Orsay, Francja  
tytuł: “One-electron oxidation of methionine amino acid in solution, of methionine residue in peptides and of larger peptides containing methionine: toward predicting the oxidation products of the Prion protein”

2009 staż naukowy (2 miesiące) w Radiation Laboratory, **University of Notre Dame**, IN, USA

2005-2007	kierownik projektu (40 tys. EUR) – <b>Marie Curie European Reintegration Grant (ERG)</b>
2002-2005	<b>stypendium Marie Curie</b> - podoktorski staż naukowy (2,5 roku) <b>Optimare GmbH</b> , Wilhelmshaven, Niemcy
2000-2001	<b>stypendium Fulbrighta</b> (6 miesięcy) – Radiation Laboratory, <b>University of Notre Dame</b> , IN, USA
2000	<b>stypendium Fulbrighta</b> (3 miesiące) – <b>Stanford University</b> (Academic Orientation for Foreign Graduate Students)

## 2. Wykaz publikacji

Łączna liczba publikacji wg Web of Science (WoS): **31 (30 po doktoracie)**

Liczba publikacji stanowiących osiągnięcie: **12**

Liczba cytowań: 181 (wg WoS)

Liczba cytowań bez autocytowań: 160 (wg WoS)

Indeks H: **9** (wg WoS)

Sumaryczny IF (z 12 prac stanowiących osiągnięcie): **36,405**

Ilość punktów wg listy MNIŚW (z prac stanowiących osiągnięcie): **350**

**H1.** Pedzinski T., Kazmierczak F., Filipiak P., Marciniak B. *“Oxidation studies of a novel peptide model N-acetyl-3-(methylthio)propylamine”* Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 2016/2017 DOI: 10.1016/j.jphotochem.2016.12.032

IF (bieżący 5-letni wg WoS): 2,573

Ilość punktów wg listy MNIŚW: 25

Udział osobisty: **80%**

**H2.** Ignasiak M., Houee-Levin C., Kciuk G., Marciniak B., Pedzinski T. *“A reevaluation of the photolytic properties of 2-hydroxybenzophenone-based UV sunscreens. Are the chemical sunscreens inoffensive?”* A European Journal of Chemical Physics and Physical Chemistry (ChemPhysChem) 2015, 16, 628-633

IF (bieżący 5-letni wg WoS): 3,130

Ilość punktów wg listy MNIŚW: 35

Udział osobisty: **65%**

**H3.** Džeba I, Pedzinski T, Mihaljević B. *“Photophysical and photochemical properties of resveratrol”* Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 2015, 299, 118-124

IF: 2,573

Ilość punktów wg listy MNIŚW: 25

Udział osobisty: **60%**

**H4.** Pedzinski T., Bobrowski K., Ignasiak M., Kciuk G., Hug G.L., Lewandowska-Andralojc A., Marciniak B. *"3-Carboxybenzophenone (3-CB) as an efficient sensitizer in the photooxidation of methionyl-leucine in aqueous solutions: Spectral, kinetic and acid-base properties of 3-CB derived transients"* Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 2014, 287, 1-7

IF: 2,573

Ilość punktów wg listy MNiSW: 25

Udział osobisty: **70%**

**H5.** Ignasiak M., Pedzinski T., Rusconi F., Filipiak P., Bobrowski K., Houee-Levin C., Marciniak B. *"Photosensitized Oxidation of Methionine-Containing Dipeptides. From the Transients to the Final Products"* Journal of Physical Chemistry B 2014, 118, 8549-58

IF: 3,265

Ilość punktów wg listy MNiSW: 30

Udział osobisty: **60%**

**H6.** Filipiak P., Hug G.L., Bobrowski K., Pedzinski T., Kozubek H., Marciniak B. *"Sensitized Photooxidation of S-Methylglutathione in Aqueous Solution: Intramolecular (SO) and (SN) Bonded Species"* Journal of Physical Chemistry B 2013, 117, 2359-68

IF: 3,265

Ilość punktów wg listy MNiSW: 30

Udział osobisty: **30%**

**H7.** Dzeba I, Pedzinski T, Mihaljevic B. *"Reaction kinetics of resveratrol with tert-butoxyl radicals"* Radiation Physics and Chemistry 2012, 81, 1294-6

IF: 1,348

Ilość punktów wg listy MNiSW: 25

Udział osobisty: **60%**

**H8.** Dzeba I, Pedzinski T, Mihaljevic B. *"Laser flash photolysis study of the photochemistry of resveratrol in acetonitrile"* Free Radical Biology and Medicine, Supplement 1, 2012, 53, S140-S141

IF: 5,982

Ilość punktów wg listy MNiSW: 40

Udział osobisty: **60%**

**H9.** Lewandowska-Andralojc A., Hug G.L., Hoerner G., Pedzinski T., Marciniak B. *"Unusual photobehavior of benzophenone triplets in hexafluoroisopropanol. Inversion of the triplet character of benzophenone"* Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 2012, 244, 1-8

IF: 2,573

Ilość punktów wg listy MNiSW: 25

Udział osobisty: **40%**

**H10.** Ignasiak M., Scuderi D., de Oliveira P., Pedzinski T., Rayah Y., Houee-Levin C. *"Characterization by mass spectrometry and IRMPD spectroscopy of the sulfoxide group in oxidized methionine and related compounds"* Chemical Physics Letters 2011, 502, 29-36

IF: 1,839

Ilość punktów wg listy MNiSW: 25

Udział osobisty: **30%**



**H11.** Pedzinski T., Markiewicz A., Marciniak B. „*Photosensitized oxidation of methionine derivatives. Laser flash photolysis studies*” *Research on Chemical Intermediates* 2009, 35, 497-506  
IF: 1,712

Ilość punktów wg listy MNiSW: 25

Udział osobisty: **85%**

**H12.** Hoerner G., Hug G.L., Pogocki D., Filipiak P., Bauer W., Grohmann A., Lammermann A., Pedzinski T., Marciniak B. “*Head-to-tail interactions in tyrosine/benzophenone dyads in the ground and the excited state: NMR and laser flash photolysis studies*” *Chemistry: A European Journal* 2008, 14, 7913-29

IF: 5,572

Ilość punktów wg listy MNiSW: 40

Udział osobisty: **35%**

### **3. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników prac przedstawionych do habilitacji**

#### **3.1 Wprowadzenie i cel rozprawy habilitacyjnej**

W ramach przedstawionego cyklu 12 powiązanych tematycznie publikacji, przeprowadzono szereg badań przy użyciu laserowych technik czasowo-rozdzielczych (m. in. fotoliza błyskowa) pochodnych benzofenonu (BP) jako sensybilizatorów rodnikowych procesów fotochemicznych. **Celem naukowym niniejszej pracy habilitacyjnej było szczegółowe opisanie oraz udowodnienie mechanizmów istotnych biologicznie reakcji fotochemicznych, przy użyciu zaawansowanych technik spektroskopowych.** Benzofenon (BP) jest od wielu lat powszechnie stosowany w fotochemii, przede wszystkim ze względu na dość dobrze poznane właściwości fotochemiczne i fotofizyczne niektórych jego pochodnych. W niniejszej pracy, obok niektórych znanych pochodnych (BP, 4-karboksy benzofenon (4CB)) zastosowano też nowe, rzadko dotąd stosowane sensybilizatory (m.in. 3-karboksy benzofenon (3CB), 2-hydroksy benzofenon (2-HOBP)), szczegółowo przebadano ich właściwości fotochemiczne i fotofizyczne w różnych rozpuszczalnikach oraz, dzięki zastosowaniu technik absorpcji przejściowej, zaproponowano kilka nowatorskich mechanizmów reakcji fotosensybilizowanych przez wzbudzone cząsteczki pochodnych BP.

Przedstawiony powyżej cykl 12 powiązanych tematycznie artykułów (H1-H12) obejmuje **prace opublikowane w latach 2008 – 2016**, w których zastosowano techniki absorpcji przejściowej (a także inne techniki laserowe i związane z chemią radiacyjną) do badań mechanizmów reakcji rodnikowych. Cykl rozpoczyna praca H12 (prace przedstawiono w kolejności od najnowszej do najstarszej) [1] podsumowująca wyniki mojej pracy badawczej rozpoczętej w 2005 roku i opisująca oddziaływania wewnątrzcząsteczkowe zachodzące w układach benzofenon-tyrozyna i benzofenon-metionina. Oprócz wewnątrzcząsteczkowych procesów przeniesienia elektronu i przeniesienia atomu wodoru badanych **metoda fotolizy błyskowej**, w pracy tej przedstawiono też wyniki pomiarów NMR oraz symulacji dynamiki cząsteczkowej układów BP-aminokwas zarówno w stanie wzbudzonym jak i podstawowym. Kolejna praca H11 [2] opisuje jakościowo i ilościowo proces fotosensybilizowanego przez wzbudzony stan trypletowy 4CB utleniania pochodnych metioniny. W pracy tej na szczególną uwagę zasługuje jednak również szczegółowy opis zbudowanego przeze mnie (we współpracy z dr J. Karolczakiem i dr

hab. G. Burdzińskim z Wydziału Fizyki UAM) w latach 2005–2008 **laserowego spektrometru absorpcji przejściowej**, który został wykorzystany do prac badawczych wykonanych w następnych latach (i jest również intensywnie wykorzystywany przez innych pracowników Wydziału Chemii UAM, o czym świadczą liczne prace opublikowane dzięki wykorzystaniu tej unikalnej aparatury).

Kolejna praca H9 [3] opisuje szczegółowo wpływ rozpuszczalnika na konfigurację elektronową wzbudzonej cząsteczki benzofenonu ( $n\pi^*$ ,  $\pi\pi^*$ ). oraz kinetykę procesów fotochemicznych zachodzących w wybranych rozpuszczalnikach. W pracy tej zaproponowano mechanizmy wygaszania trypletu BP (m. in. przez anizol) oraz opisano ich kinetykę. Udało się zidentyfikować jednoczesną obecność zarówno wzbudzonego stanu  $n\pi^*$  jak i  $\pi\pi^*$  BP w heksafluoroizopropanolu (HFIP) przy użyciu techniki absorpcji przejściowej.

Bardzo obiecująca w badaniach procesów fotosensybilizowanego utleniania związków organicznych okazała się rozpuszczalna w wodzie pochodna BP – 3-karboksy-benzofenon (3CB) (praca H4) [4]. Związek ten, pomimo jego komercyjnej dostępności, nie był dotychczas powszechnie stosowany jako sensybilizator, stąd powstała konieczność bardzo szczegółowego przebadania właściwości 3CB i tworzonych przez tą cząsteczkę rodników, wyznaczenia ich molowych współczynników absorpcji, równowagi kwasowo-zasadowej ( $pK_a$ ) rodników ketylowych, itp. Ponadto, w pracy H4 udowodniono efektywność 3CB jako sensybilizatora procesu utleniania peptydu Met-Leu. 3CB został następnie wykorzystany w badaniach reakcji utleniania peptydów Met-Lys i Lys-Met, których wyniki przedstawiono w pracy H5 [5], w której obok identyfikacji i scharakteryzowania produktów przejściowych (np. indywiduum przejściowe z trójelektronowym wiązaniem S.:N, rodniki centrowane na atomie węgla  $\alpha$ S) zidentyfikowano też tworzone w tej reakcji trwałe modyfikacje peptydów. Wyniki przedstawione w tej pracy były kontynuacją i rozszerzeniem wcześniejszych, prowadzonych przeze mnie wspólnie z ówczesną doktorantką (dr Martą Ignasiak, w której przewodzie doktorskim pełniłem rolę bezpośredniego opiekuna oraz promotora pomocniczego) badań procesu utleniania peptydów zawierających metioninę i prowadzonych metodą spektrometrii mas sprzężonej z zaawansowaną techniką spektroskopii w podczerwieni IRMPD (Infra-Red Multi-Photon Dissociation) i prowadzonych w ramach kierowanego przeze mnie projektu na Uniwersytecie Paris-Sud w Orsay (H10 [6]). Istotnym osiągnięciem tej pracy było przedstawienie eksperymentalnego dowodu oraz zaproponowanie mechanizmu powstawania sulfotlenku metioniny w warunkach beztlenowych (przy udziale wody). Metoda laserowej fotolizy błyskowej z detekcją spektrofotometryczną została też zastosowana do badań większych peptydów zawierających najbardziej narażony na czynniki utleniające atom siarki, tj. S-metylo-glutationu w roztworach wodnych H6 [7]. W pracy tej opisano szczegółowo proces utleniania tego peptydu w zależności od pH roztworu i zaproponowano mechanizm reakcji, uwzględniający m. in. co najmniej trzy indywidua przejściowe z wiązaniami trójelektronowymi: międzycząsteczkowy (S.:S)<sup>+</sup>, oraz wewnątrzcząsteczkowe (S.:N) i (S.:O). Pochodne benzofenonu oraz zastosowanie nanosekundowej oraz femtosekundowej absorpcji przejściowej w badaniach fotofizycznych i fotochemicznych ważnej biologicznie cząsteczki resweratrolu stanowią niejako odrębną tematykę prowadzonych przeze mnie badań, realizowana przy współpracy z Instytutem Rudjera Boskovic'a z Zagrzebia w Chorwacji. Prace te prowadzone były pod moją opieką przez doktorantkę Ivę Dzebę i dotyczyły badań antyutleniających właściwości resweratrolu H8 [8], jego właściwości fotofizycznych H3 [9] oraz fotochemicznych H7 [10]. Nowym kierunkiem badań, związanym jednak nadal ściśle z metodami czasowo-rozdzielczymi i ich zastosowaniem w badaniach procesów fotochemicznego utleniania peptydów i białek są rozpoczęte przeze mnie badania pochodnych benzofenonu wykorzystywanych w przemyśle kosmetycznym jako

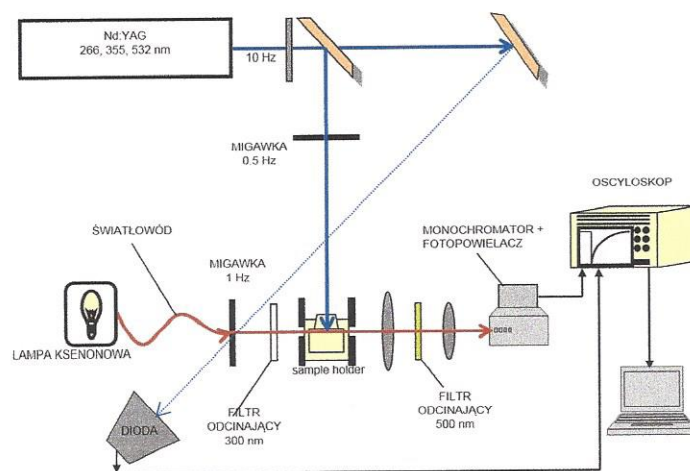


aktywne składniki chemicznych filtrów przeciwsłonecznych. Już pierwsze uzyskane wyniki prowadzonych badań pokazały potencjał stosowanych metod (nanosekundowej i femtosekundowej absorpcji przejściowej) jak również potencjalnie szkodliwa rolę jaką mogą odgrywać wolne rodniki generowane w wyniku pochłaniania promieniowania słonecznego UVA i UVB przez niektóre filtry przeciwsłoneczne. Wyniki te zostały niedawno opublikowane w pracy H2 [11] w ChemPhysChem. Ten ciekawy kierunek badań mam zamiar kontynuować w najbliższej przyszłości, m. in. w ramach złożonego w ostatnim konkursie NCN projektu OPUS pt. „Czy chemiczne filtry przeciwsłoneczne są bezpieczne?”.

### 3.2 Laserowa fotoliza błyskowa w badaniach procesów utleniania aminokwasów i peptydów (praca nr H11 wg spisu prac wchodzących w skład osiągnięcia w punkcie 2)

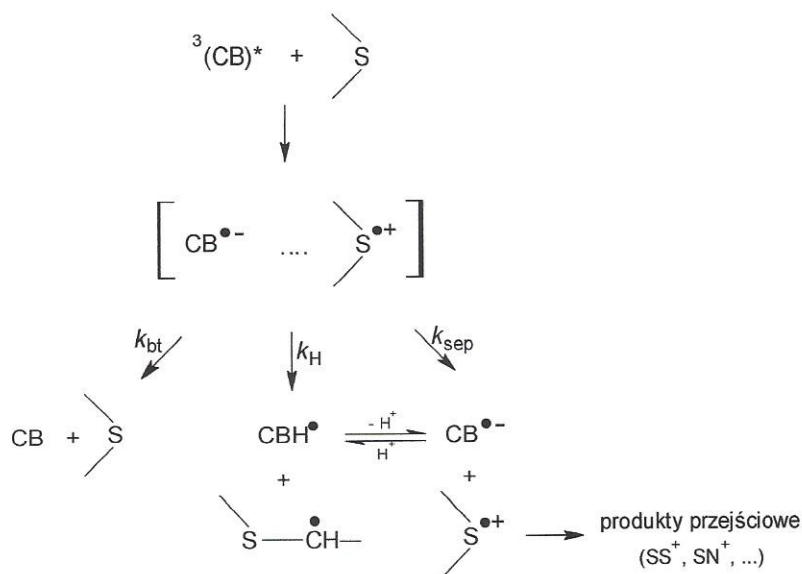
Technika laserowej fotolizy błyskowej należy do szerszej grupy metod stosowanych w spektroskopii zwanej metodami pompa-sonda (*pump-probe methods*), w których próbka zostaje wzbudzona za pomocą lasera impulsowego (pompa), a następnie, dzięki synchronizacji komputerowej, monitorowane są spektrofotometrycznie (sonda) zmiany w absorbancji roztworu w czasie, wywołane przez laserowy impuls wzbudzający. Metoda fotolizy błyskowej została zastosowana do badania reakcji rodnikowych po raz pierwszy w 1950 roku [12] przez Georga Portera z Uniwersytetu w Cambridge, późniejszego Noblisty z 1967 roku [13]. Od skonstruowania przez Theodora Mainmana pierwszego lasera w roku 1960 [14], rozwój tej techniki zdecydowanie przyspieszył [15] i trwa do dziś [5,16,17], co przejawia się przede wszystkim większą czułością, szybkością i wygodą pracy nowoczesnych aparatów.

W prowadzonych w ramach niniejszej rozprawy badaniach, technika ta okazała się niezwykle pomocna w jakościowym i ilościowym opisie procesów fotosensybilizowanego przez wzbudzony stan trypletowy wybranych pochodnych benzofenonu utleniania wybranych związków organicznych. Dzięki skonstruowaniu własnego spektrometru do fotolizy błyskowej (co było moim głównym celem w pierwszych latach po zatrudnieniu mnie na stanowisku adiunkta w roku 2005), zbudowany aparat został niejako przetestowany w badaniach reakcji fotosensybilizowanego przez tryplet 4CB utleniania metioniny i jej pochodnych [2]. W pracy tej szczegółowo opisano nowy **laserowy spektrometr absorpcji przejściowej**, który został wykorzystany w większości prac badawczych stanowiących osiągnięcie i opisanych w niniejszym autoreferacie. Schemat wspomnianego aparatu przedstawiono na rys. 1 poniżej. Układ ten pracuje w tzw. trybie kinetycznym i najważniejsze jego elementy stanowią: (i) laser impulsowy Nd:YAG (pompa); (ii) impulsowa lampa ksenonowa (sonda); (iii) monochromator; (iv) fotopowielacz; (v) elektronika (szybki oscyloskop cyfrowy, generator opóźnień oraz generator impulsów TTL, dioda synchronizująca, przesłony) oraz komputer służący do rejestracji i obróbki zebranych danych eksperymentalnych.



Rys. 1 Schemat układu pomiarowego laserowej fotolizy błyskowej (H2).

W pracy tej opisano ponadto kinetykę tworzenia produktów przejściowych powstałych w wyniku wygaszania trypletu 4CB przez cząsteczkę N-Ac-Met-OCH<sub>3</sub> (ester metylowy acetylowanej metioniny). Po przeniesieniu elektronu z cząsteczki wygaszacza na wzbudzona cząsteczkę 4CB, pierwotnym procesem jest utworzenie anionorodnika 4CB<sup>•-</sup> oraz kationorodnika centrowanego na atomie siarki >S<sup>•+</sup>. Powstałe „w klatce rozpuszczalnika” (*solvent cage*) produkty przejściowe mogą następnie ulegać następującym reakcjom: (i) powrotne przeniesienie elektronu, (ii) rozpad pary jonowej, (iii) przeniesienie protonu. Schematycznie mechanizm ten przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2 Mechanizm reakcji tworzenia produktów przejściowych w fotolizie pochodnych benzofenonu w obecności pochodnych metioniny.

Ważnym elementem zaproponowanego mechanizmu reakcji jest stabilizacja powstałego kationorodnika >S<sup>•+</sup> poprzez utworzenie dwucentrowych, trójelektronowych wiązań:



międzycząsteczkowego  $>S\cdot S<$  oraz wewnątrzcząsteczkowego  $>S\cdot N<$ . Dzięki stabilizacji, powstały kationorodnik (będący silnym kwasem Lewisa) nie ulega natychmiastowej deprotonacji. Czas życia trójelektronowych indywiduów zależy od pH roztworu, stężenia aminokwasu lub peptydu, a także jego sekwencji i wynosi od kilku do nawet kilkuset mikrosekund, a głównym produktem jego rozpadu jest rodnik tioalkilowy zlokalizowany na atomie węgla, ulegający następnie reakcji rekombinacji z utworzeniem dimeru lub adduktu z rodnikiem ketylowym pochodnej benzofenonu (dokładny mechanizm tworzenia produktów trwałych zostanie omówiony w dalszej części autoreferatu).

### 3.3 Benzofenon i jego pochodne jako sensybilizatory procesów fotochemicznych (H4, H9, H11, H12)

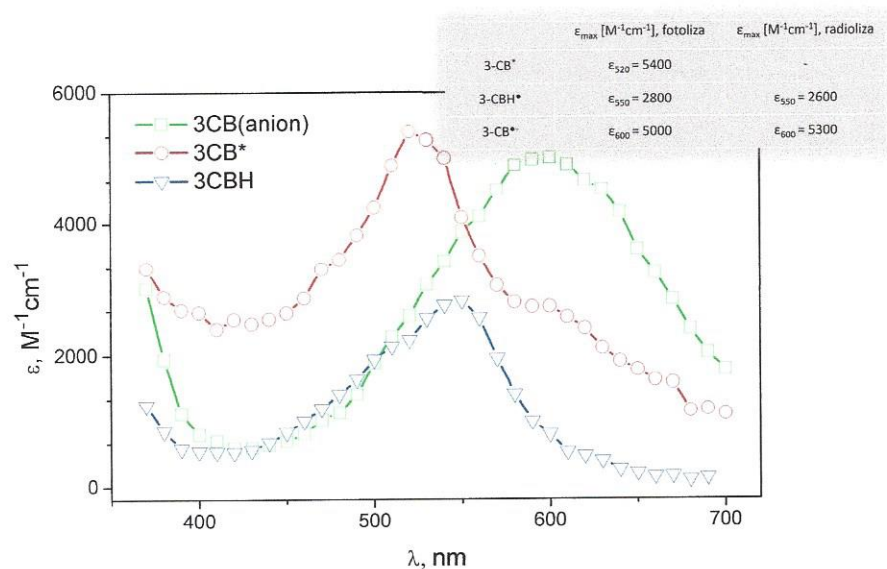
Jak wspomniano w rozdziale 3.2, eksperymenty fotolizy błyskowej benzofenonu zapoczątkował jeszcze w latach 50-tych XX wieku G. Porter [12,18,19], a jego prace stały się inspiracją dla innych znakomych fotochemików, jak J.C. Scaiano [20-22], M. Miranda [23,24] czy Gordon L. Hug [3,25,26] którzy z kolei wywarli znaczący wpływ na badania prowadzone w Polsce m. in. przez prof. B. Marciniaka [27-34], a także moje autorskie badania, stanowiące osiągnięcie naukowe. Najszerzej stosowanym sensybilizatorem procesów fotochemicznych jest prawdopodobnie benzofenon (BP), który jednak nie jest rozpuszczalny w wodzie, stąd w badaniach procesów o znaczeniu biologicznym, szerzej stosowana jest jego pochodna 4CB [2,30,35,36], wykazująca bardzo podobne to BP właściwości fotofizyczne, przede wszystkim praktycznie 100% wydajność kwantową tworzenia trypletu. Z drugiej strony, widma absorpcyjne rodników generowanych w wyniku fotoredukcji 4CB pokrywają się częściowo z widmami absorpcji przejściowej indywiduów generowanych w wyniku utleniania pochodnych metioniny, co utrudnia analizę otrzymanych eksperymentalnie widm absorpcji, będących zwykle sumą absorbancji wielu indywiduów.

#### *3CB jako fotosensybilizator*

3-karboksybenzofenon (3CB) (H4, [4]) został zastosowany jako alternatywa dla bardziej popularnego sensybilizatora 4CB [37]. Jego względna przewaga nad 4CB polega na tym, iż powstające z 3CB rodniki ( $3CB^{\cdot-}$ ,  $3CBH^{\cdot}$ ) wykazują znacząco mniejszą absorbancję (niższe wartości molowych współczynników absorpcji) w zakresie spektralnym 370-420 nm. Jest to o tyle istotne, że właśnie w tym zakresie spektralnym leżą maksima absorpcji trójelektronowych indywiduów  $(S\cdot N)^+$  i  $(S\cdot O)$ , jako spodziewanych produktów reakcji utleniania peptydów zawierających atom siarki. Zastosowanie 3CB jako alternatywy dla 4CB pozwala na dokładniejszą analizę kinetyki zmian absorbancji we wspomnianym zakresie spektralnym. Molowe współczynniki absorpcji rodników wygenerowanych z 3CB oraz ich widma absorpcji przejściowej, uzyskane metodą fotolizy błyskowej oraz potwierdzone przy zastosowaniu komplementarnej metody radiolizy impulsowej, przedstawia rys. 3.

Wyznaczono ponadto stałą równowagi  $pK_a$  rodnika ketylowego wynoszącą 9,5 ( $3CB^{\cdot-} + H^+ \rightleftharpoons 3CBH^{\cdot}$ ), a także stałe szybkości protonacji i deprotonacji tych rodników w roztworach wodnych. Przydatność 3CB jako fotosensybilizatora w badaniu wspomnianych wyżej procesów została udowodniona w badaniu procesu fotoutleniania Met-Leu w roztworach wodnych. Badany peptyd Met-Leu wygasza wzbudzony stan trypletowy  $3CB^*$  ze stałą szybkości  $1,9 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  w procesie przeniesienia elektronu. Dzięki zastosowaniu widm wzorcowych przedstawionych na rys. 3, a także widm wzorcowych rodników pochodnych metioniny, obliczono precyzyjnie stężenia tych indywiduów po różnych czasach opóźnienia po błysku lasera. Przykładowo, obliczone (i zmieniające się w czasie) stężenia po 200 ns, dla

roztworu wodnego zawierającego 3CB (4 mM) i Met-Leu (6 mM) w pH=11,7 wynoszą:  $[(S \cdot N)^+] = 1,9 \mu\text{M}$ ,  $[(S \cdot S)^+] < 10^{-8} \text{ M}$ ,  $[3\text{CB}^*] = 4,0 \mu\text{M}$  i  $[3\text{CB}^{*-}] = 4.8 \mu\text{M}$ .



**Rys. 3** Widma absorpcji przejściowej trypletu 3CB oraz rodników 3CB<sup>\*-</sup> i 3CBH<sup>\*</sup>, uzyskane metodą radiolizy impulsowej oraz tabelka przedstawiająca molowe współczynniki absorpcji z fotolizy błyskowej i radiolizy.

#### Wpływ rozpuszczalnika na reaktywność <sup>3</sup>BP\*

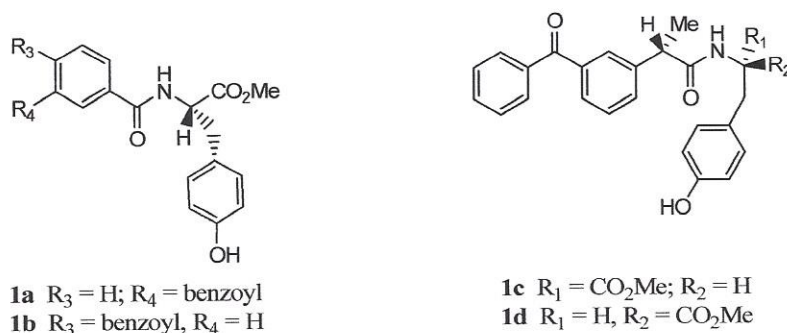
Szczegółowe przebadanie wpływu właściwości rozpuszczalnika na konfigurację elektronową wzbudzonej cząsteczki benzofenonu ( $n\pi^*$ ,  $\pi\pi^*$ ) oraz na kinetykę procesów fotochemicznych doprowadziło do dość zaskakujących obserwacji [3,38], które uwiarygodniły się szczególnie w przypadku użycia heksafluoroizopropanolu (HFIP) jako rozpuszczalnika. Jest dobrze udokumentowanym w literaturze faktem, że wzbudzone ketony aromatyczne posiadające w najniższym stanie wzbudzonym konfigurację  $\pi\pi^*$ , są zwykle mniej reaktywne w reakcjach oderwania atomu wodoru w porównaniu ze związkami w konfiguracji  $n\pi^*$ . Przykładowo, oderwanie atomu wodoru od 2-propanolu przez benzofenon ( $T_1$ ,  $n\pi^*$ ) odbywa się ze stałą szybkości  $k_q = 1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , podczas gdy 4-fenylbenzofenon reaguje z 2-propanolem z szybkością  $k_q = 5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [39]. Duża reaktywność trypletów w konfiguracji  $n\pi^*$  jest najprawdopodobniej konsekwencją deficytu elektronowego na karbonylowym atomie tlenu. Typowa konfiguracja wzbudzonych stanów  $S_1$  i  $T_1$  BP w niemal wszystkich rozpuszczalnikach to  $n\pi^*$ . Inwersja tego stanu, czyli zamiana najniższej leżącego stanu wzbudzonego z  $n\pi^*$  na  $\pi\pi^*$ , była dotąd obserwowana tylko w ekstremalnie kwasowym środowisku (85%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 98%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) [40]. W wyniku przeprowadzonych przeze mnie badań w heksafluoroizopropanolu, zidentyfikowano prawdopodobną obecność obu konfiguracji wzbudzonego stanu  $T_1$  BP ( $\pi\pi^*$  i  $n\pi^*$ ). Badania metodą laserowej fotolizy błyskowej stosując jako rozpuszczalnik mieszaninę acetonitrylu i HFIP wykazały, iż względna intensywność nowego pasma absorpcji przejściowej (ok. 400 nm) jest silnie związana ze stężeniem HFIP. Absorpcja najniższego wzbudzonego stanu trypletowego  $\pi\pi^*$  dominuje przy dużych stężeniach HFIP, natomiast „typowa” absorpcja tryplet-tryplet z maksimum w okolicach 520 nm dominuje w rozpuszczalnikach nieprotoczących (AcN). Konsekwencją wspomnianej inwersji stanów są zmiany w reaktywności BP w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika. Zgodnie z oczekiwaniami, stała



szybkości wygaszania 3BP\* przez izopropanol ma zdecydowanie mniejszą wartość, gdy dominującą formą staje się  $\pi\pi^*$  (przy większym stężeniu HFIP). Z drugiej strony, wykazano, że reaktywność trypletu BP wobec anizolu, gdzie dominującą reakcją jest przeniesienie elektronu na cząsteczkę BP, jest znacznie większa dla rozpuszczalników tworzących silne wiązania wodorowe (np. HFIP) [3,38].

#### Oddziaływania wewnątrzcząsteczkowe BP-tyrozyna

W celu przebadania oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych pomiędzy wzbudzoną cząsteczką BP, a obecną w jej najbliższym sąsiedztwie cząsteczką aminokwasu, zsyntetyzowano serię nowych związków o ogólnej strukturze BP-Tyr [1], które przedstawiono na rys. 4:

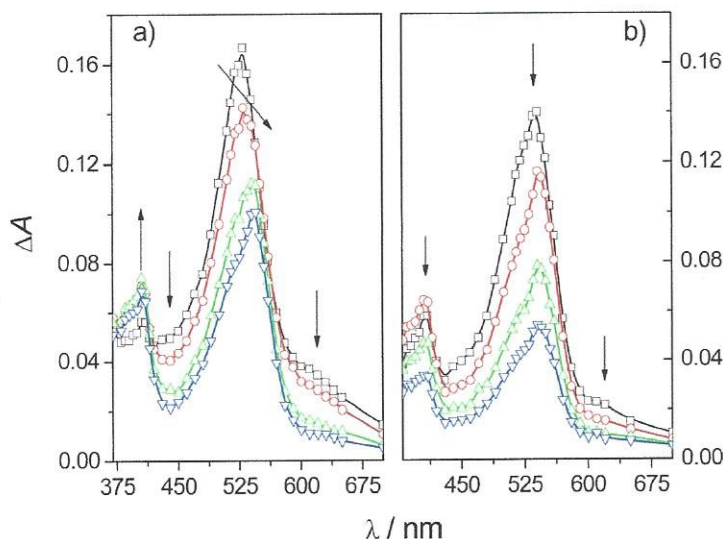


**Rys. 4** Wzory strukturalne związków 1a-1d (podstawionych pochodnych BP) użytych do badań procesów wewnątrzcząsteczkowego oddziaływania chromoforów w stanie wzbudzonym.

Do badań fotochemicznych powyższych struktur zastosowana została technika fotolizy błyskowej ze wzbudzeniem 355 oraz 266 nm. Dzięki temu, możliwe było bezpośrednie wzbudzenie zarówno silnie absorbującego pasma  $\pi\pi^*$  ( $\lambda_{\text{max}} = 250 \text{ nm}$ ,  $\epsilon_{250} = 16\,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) przy użyciu wzbudzenia 266 nm, jak i znacznie słabiej absorbującego pasma  $n\pi^*$  ( $\lambda_{\text{max}} = 340 \text{ nm}$ ,  $\epsilon_{340} = 100\text{-}200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) przy wzbudzeniu 355 nm. Natychmiast po błysku lasera wzbudzającego, pojawia się silny sygnał absorpcji przejściowej, niezależnie od długości fali wzbudzenia. Wzbudzenie 355 nm pozwala na selektywną absorpcję przez benzofenon, podczas gdy użycie długości fali 266 nm wzbudza zarówno BP, jak i część tyrozynową (Tyr) cząsteczki, co skutkuje pojawieniem się krótkożyjącego, ujemnego sygnału absorpcji przejściowej, przypisanego fluorescencji Tyr. Selektywne wzbudzenie pasma  $n\pi^*$  (355 nm) wymaga jednak użycia dość dużego stężenia związku, z uwagi na niewielki współczynnik absorpcji tego przejścia, czego skutkiem jest obserwacja nie tylko oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych, ale także wygaszania międzycząsteczkowego. Dzięki zastosowaniu wzbudzenia 266 nm, wzbudzamy silnie absorbujące przejście elektronowe  $\pi\pi^*$ , co umożliwia użycie dużo niższych stężeń badanego związku, i w konsekwencji uniknięcie niepożądanych procesów dwucząsteczkowych.

Zanikowi absorpcji przejściowej związków 1c i 1d towarzyszy przesunięcie spektralne maksimum absorpcji z 525 nm do 540 nm oraz pojawienie się nowego pasma przy 405 nm. Jest to typowe przesunięcie obserwowane dla procesu przeniesienia atomu wodoru z utworzeniem rodnika ketylowego BPH\*, natomiast pasmo absorpcji przejściowej z maksimum przy 405 nm jest typowe dla rodnika tyrozylowego (TyrO\*). Opisywana wyżej ewolucja widm absorpcji w czasie sugeruje przeniesienia atomu wodoru ( $\text{H}^*$ ) ze wzbudzonej cząsteczki Tyr na BP (rys. 5). Dodatkowo, należy wspomnieć iż czas życia stanu trypletowego BP wynosił dla związków 1c i 1d ok. 50-100 ns i był w bardzo niewielkim stopniu zależny od stężenia związku.

Związki oznaczone jako 1a i 1b, okazały się zdecydowanie mniej reaktywne w porównaniu z 1c i 1d. Zaobserwowano, że czasy życia stanu trypletowego były w tym wypadku zdecydowanie dłuższe (rzędu kilku mikrosekund) oraz zależały silnie od stężenia związku, co jasno sugeruje proces tzw. samowygazania (proces międzycząsteczkowy), jako dominującą drogę dezaktywacji stanu wzbudzonego w przypadku 1a i 1b.



**Rys. 5** Widma absorpcji przejściowej uzyskane metodą nanosekundowej laserowej fotolizy błyskowej przy wzbudzeniu 355 nm odtlenionych roztworów (2 mM): a) związku 1c; b) związku 1d w AcN. Widma zarejestrowane po czasach opóźnienia: 17, 27, 50 i 75 ns po błysku lasera.

Podsumowując, zarówno badania konfiguracji związków 1a-d w stanie podstawowym (techniką NMR oraz na podstawie obliczeń teoretycznych DFT) jak i pomiary dynamiki dezaktywacji stanów wzbudzonych wskazują na bliskość centrów reakcyjnych już w stanie podstawowym w przypadku izomerów 1c i 1d (izomery optyczne (S) i (R)), jednakże różnice w szybkości dezaktywacji ich stanów wzbudzonych wskazują na istotną stereoselektywność dezaktywacji ich stanów wzbudzonych (rys. 5) [41].

### 3.4 Radiacyjne i fotochemiczne utlenianie wybranych peptydów

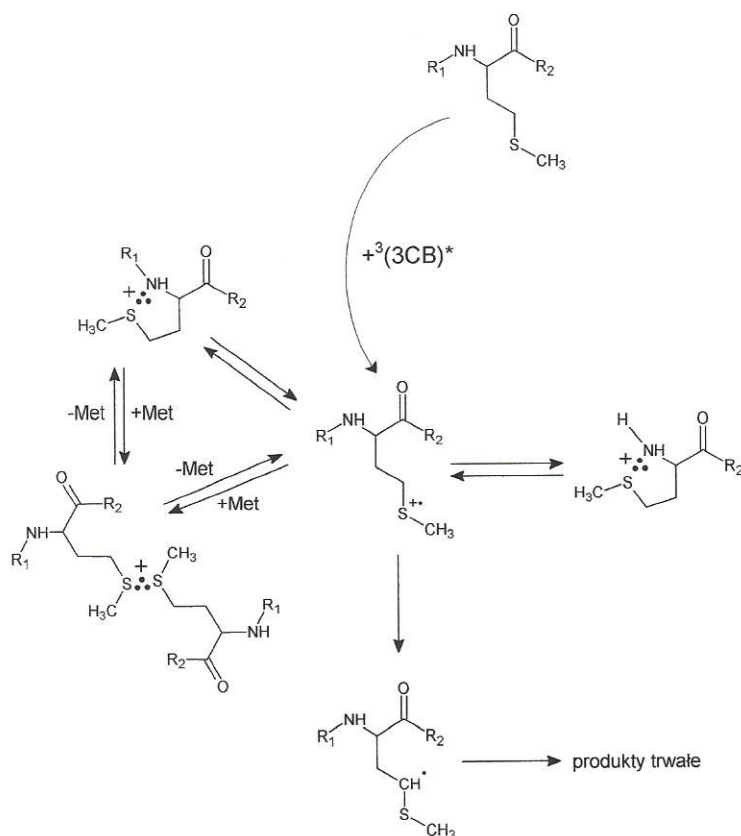
(prace H1, H4, H5, H6, H10)

W ciągu ostatnich kilku dekad mechanizmy utleniania aminokwasów, peptydów i białek były przedmiotem wielu badań, głównie z uwagi na istotę biologiczną tych procesów [42,43]. Wśród licznych badań poświęconych utlenianiu peptydów na szczególną uwagę zasługują te, w których utlenianiu ulega aminokwas zawierający atom siarki (metionina lub cysteina). Pomimo stosunkowo dużej ilości prac poświęconych tej tematyce, stosunkowo niewiele zajmuje się identyfikacją zarówno produktów przejściowych (wolnych rodników) wraz z wyjaśnieniem mechanizmów reakcji którym te rodniki ulegają, prowadzących do powstania produktów trwałych (prowadzących w konsekwencji do bardzo istotnych biologicznie trwałych modyfikacji białek).

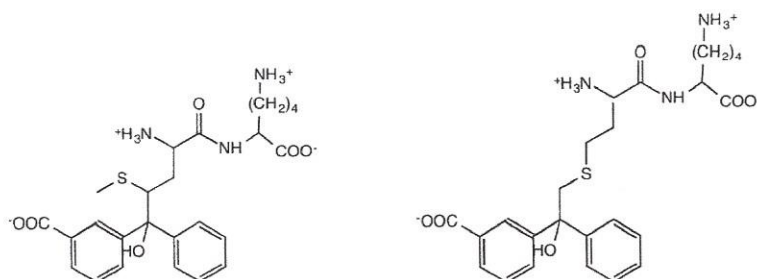


### *Utlenianie metionilo-lizyny (Met-Lys) i lizylo-metioniny (Lys-Met)*

Jednoelektronowe utlenianie metioniny w modelowych peptydach zachodzi dość łatwo przy wykorzystaniu  $^3\text{CB}^*$  jako sensybilizatora lub silnie utleniających rodników hydroksylowych  $^{\bullet}\text{OH}$  ( $E^0 = 1,9 \text{ V vs NHE}$  przy  $\text{pH} = 7$  [44]) z procesu radiolizy wody. W niniejszym rozdziale, przebadano szczegółowo procesy utleniania dwóch peptydów Met-Lys i Lys-Met za pomocą technik czasowo-rozdzielczych, pozwalających na charakteryzację produktów przejściowych (fotoliza błyskowa, radioliza impulsowa) oraz za pomocą technik charakteryzujących produkty trwałe reakcji utleniania (spektrometria mas, IRMPD-MS [6]). Badania fotochemiczne przeprowadzono przy wykorzystaniu dobrze poznanego wcześniej trypletu 3CB [4] jako fotosensybilizatora procesu utleniania (3CB jako akceptor elektronu). Zgodnie z poniższym schematem (rys. 6) reakcji, pierwotnymi produktami przejściowymi procesu przeniesienia elektronu są, niezależnie od pH roztworu i użytego w reakcji peptydu, anionorodnik  $^3\text{CB}^{\bullet-}$  oraz kationorodnik zlokalizowany na atomie siarki  $>\text{S}^{\bullet+}$ . Stała szybkości tej dwucząsteczkowej reakcji została wyznaczona na podstawie równania Sterna-Volmera i wynosi, w zależności od użytego peptydu i środowiska pH, od  $1,3$  do  $2,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . Przeniesienie elektronu następuje w ramach tzw. kompleksu spotkaniowego  $[^3\text{CB}^{\bullet-} \dots >\text{S}^{\bullet+}]$ , po czym możliwe są następujące drogi reakcji: (i) powrotne przeniesienie elektronu, (ii) separacja utworzonych rodników, (iii) przeniesienie atomu wodoru „w klatce rozpuszczalnika” od metioniny do  $^3\text{CB}^{\bullet-}$  oraz, wyłącznie w przypadku sprotonowanej N-końcowej metioniny (czyli np. dla peptydu Met-Lys w  $\text{pH}=6$ ), przeniesienie protonu z grupy aminowej  $-\text{NH}_3^+$  do utworzonego anionorodnika  $^3\text{CB}^{\bullet-}$ . Utworzony kationorodnik [45-47] ulega dość szybkiej reakcji deprotonacji z uwagi na dużą kwasowość protonów w pozycji  $\alpha$  do utlenionego atomu siarki z utworzeniem względnie stabilnego rodnika centrowanego na atomie węgla (rodnik  $\alpha\text{S}$ ). Proces ten zachodzi jednak wolniej niż można by się tego spodziewać, wskutek stabilizacji kationorodnika  $>\text{S}^{\bullet+}$  poprzez utworzenie wewnątrzcząsteczkowego wiązania trójelektronowego  $(\text{S} \cdot \cdot \text{N})^{\bullet+}$  lub międzycząsteczkowego  $(\text{S} \cdot \cdot \text{S})^{\bullet+}$ . Oba utworzone indywidua pozostają jednak w równowadze z reaktywnym kationorodnikiem  $>\text{S}^{\bullet+}$ , prowadząc w konsekwencji do utworzenia rodnika  $\alpha\text{S}$ . Rodnik ten z kolei, w obecności rodników  $^3\text{CB}^{\bullet-}$  (lub  $^3\text{CBH}^{\bullet}$  w zależności od pH roztworu) ulega reakcji rekombinacji z utworzeniem stabilnego adduktu, jako produktu końcowego omawianej reakcji. Wydajność kwantowa utworzenia adduktu jest dość wysoka i została oszacowana na 70-90% (należy ponadto wspomnieć, iż istnieje kilka izomerów powstałego adduktu, co wykazały analizy chromatograficzne, jednakże ich dokładna charakterystyka wymaga dalszych badań). Addukt ( $^3\text{CB}$ -Met-Lys) udało się zidentyfikować przy użyciu metody HPLC połączonej z detekcją UV-Vis oraz MS ( $m/z = 504$ ), poddając analizie odtlenioną próbkę naświetloną przy użyciu lasera ciągłego 355 nm (stanowisko do naświetlań stacjonarnych zostało przeze mnie zbudowane w ramach otrzymanego w 2011 roku grantu NCN OPUS, który umożliwił m. in. zakup lasera Coherent OPSL 355 nm (*Optically-Pumped Solid State Laser*)). Obok wspomnianego adduktu, zidentyfikowano także śladowe ilości dimerów powstałych z rekombinacji rodników powstałych z redukcji 3CB oraz utleniania peptydów. Podsumowując, wykazano po raz pierwszy, że utworzone w wyniku sensybilizowanego utleniania peptydów rodniki, w tym w szczególności rodnik  $\alpha\text{S}$ , prowadzą do reakcji rekombinacji z utworzeniem trwałych produktów. Scharakteryzowano ponadto rodnikowe indywidua przejściowe biorące udział w reakcji oraz zaproponowano szczegółowy mechanizm procesu.



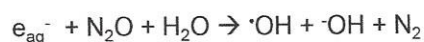
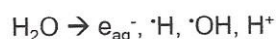
**Rys. 6** Proponowany mechanizm reakcji fotosensybilizowanego przez  ${}^3(3CB)^*$  utleniania peptydów Met-Lys/Lys-Met w roztworach wodnych.



**Rys. 7** Proponowane wzory strukturalne otrzymanych w wyniku reakcji fotochemicznej izomerów 3CB-Met-Lys (podobne związki otrzymano w wyniku reakcji utleniania peptydu Met-Lys).

Omówiony wyżej szczegółowo mechanizm fotosensybilizowanego utleniania Met-Lys i Lys-Met pozostawia jednak bez odpowiedzi bardzo ważne pytanie o możliwe drogi reakcji utworzonych rodników w nieobecności rodników 3CB. Przebadanie mechanizmu tego procesu umożliwiłaby technika radiolizy impulsowej, a także bezpośrednie naświetlanie roztworów wodnych peptydów promieniowaniem jonizującym  $\gamma$ . Wspomniana radioliza wody prowadzi w odpowiednio dobranych warunkach (roztwór nasycony  $N_2O$ ) do wygenerowania działających silnie utleniająco rodników  ${}^{\bullet}OH$ :

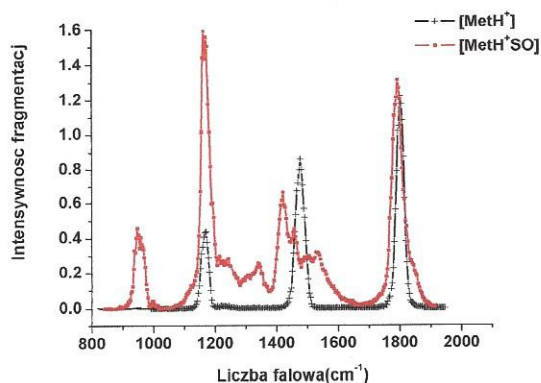




Wykorzystanie w prowadzonych badaniach techniki radiolizy impulsowej z detekcją spektrofotometryczną umożliwia identyfikację rodników, których ze względu na obecność silnie absorbującego w bliskim UV benzofenonu nie można zarejestrować metodą fotolizy błyskowej (np. rodniki  $\alpha$ -alkilotioalkilowe ( $\alpha\text{S}$ )). Wszystkie eksperymenty radiolizy impulsowej przeprowadzone były w wodnych roztworach nasyconych podtlenkiem azotu  $\text{N}_2\text{O}$ , co zgodnie z powyższym schematem umożliwia usunięcie tworzonych podczas radiolizy uwodnionych elektronów oraz podwojenie ilości (a właściwie tzw. wydajności chemoradiacyjnej) generowanych rodników  $\cdot\text{OH}$ . Widmo absorpcji przejściowej (uzyskane metodą radiolizy impulsowej) Met-Lys dla roztworu o  $\text{pH} = 6$  wykazało po ok. 300 ns od impulsu generującego proces radiolizy obecność pasma absorpcji z maksimum ok. 340 nm, pochodzącego od rodnika  $>\text{S}^{\bullet}\text{-OH}$ . To krótko żyjące pasmo absorpcji zanikało tworząc pasmo dwa inne pasma absorpcji przy 390 nm i 290 nm. Przypisane one zostały odpowiednio kationorodnikowi ( $\text{S}^{\bullet}\text{:N}$ )<sup>+</sup> tworzonemu w wyniku wewnątrzcząsteczkowej stabilizacji  $>\text{S}^{\bullet+}$  z peptydową grupą aminową ( $\lambda_{\text{max}} = 390 \text{ nm}$ ) oraz rodnikom  $\alpha\text{S}$  ( $\lambda_{\text{max}} = 290 \text{ nm}$ ) tworzonym w wyniku deprotonacji  $>\text{S}^{\bullet+}$ . Widma absorpcji przejściowej tego peptydu uzyskane dla roztworów o  $\text{pH} = 10$  nie wykazywały znaczących różnic w porównaniu z tymi zarejestrowanymi w neutralnym  $\text{pH}$ . Dla odwrotnej sekwencji peptydu (Lys-Met), w której metionina posiada wolną grupę karboksylową, widma radiolizy impulsowej wykazały znaczne różnice w porównaniu z Met-Lys. Pasma absorpcji przy 290 nm ( $\alpha\text{S}$ ) miało zdecydowanie większą intensywność, natomiast nie zaobserwowano pasma z maksimum absorpcji przy 390 nm. Rozkład widm na składowe spektralne (programem DECOM [30,36,48]) wykazał, obok wydajnego tworzenia rodnika  $\alpha\text{S}$ , także tworzenie innych rodników, świadczących o procesie dekarboksylacji peptydu.

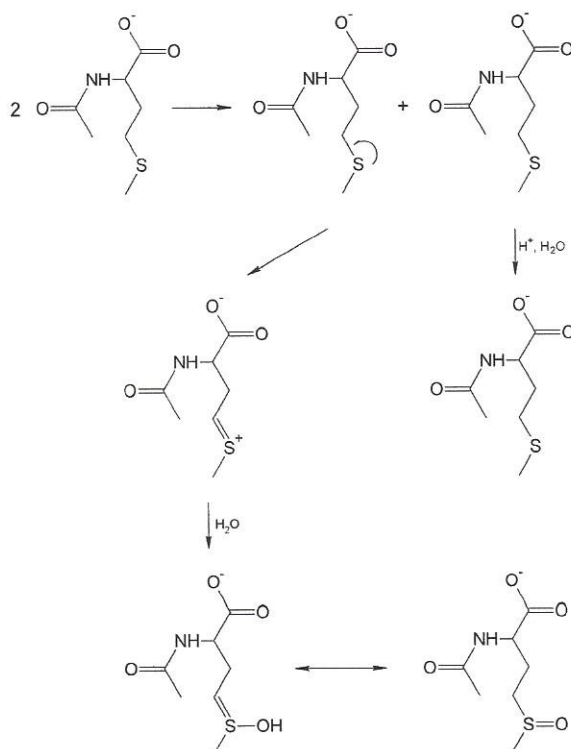
Analizę produktów trwałych powstałych w wyniku napromieniowania roztworów wodnych peptydów Met-Lys i Lys-Met w źródle gamma przeprowadzono wykorzystując metody chromatograficzne (HPLC), spektrometrię mas (m. in. ESI QTOF) i spektroskopię IRMPD. Napromieniowanie roztworu Met-Lys nasyconego  $\text{N}_2\text{O}$  w  $\text{pH}$  neutralnym i zasadowym prowadzi do pojawienia się piku w widmie masowym o masie większej o 16 Da ( $m/z = 294$ ) w porównaniu z masą peptydu. Może to sugerować pojawienie się atomu tlenu w strukturze uzyskanego produktu. Fragmentacja jonu  $m/z = 294$  wykazuje obecność jonów fragmentacyjnych świadczących o utracie  $\text{CH}_3\text{SOH}$  z reszty metioninowej, a także fragment odpowiadający utlenionej części metioninowej ( $\text{MetS=O}$ )<sup>+</sup>. Na podstawie analizy widm masowych, produkt o  $m/z = 294$  przypisany został sulfotlenkowi  $[\text{Met}(\text{S=O})\text{-Lys}]^{\text{H}^+}$ . Jest to o tyle interesujące, że roztwory peptydów naświetlane były w atmosferze beztlenowej (odtlenione i nasycone  $\text{N}_2\text{O}$ ). Dodatek katalazy (enzymu usuwającego wydajnie  $\text{H}_2\text{O}_2$  tworzony jako wtórny produkt radiolizy wody) do naświetlanych próbek spowodował co prawda obniżenie wydajności tworzenia sulfotlenku, jednakże jego wydajność chemoradiacyjna była nadal znacznie wyższa niż wydajność nadtlenu wodoru tworzonych podczas radiolizy. Eksperyment ten pozwolił na wykluczenie możliwości tworzenia się sulfotlenku na drodze utleniania dwuelektronowego, np. w obecności śladów tlenu. Struktura produktu została potwierdzona poprzez wykonanie widm w podczerwieni z wykorzystaniem spektroskopii IRMPD (rys. 8). Widmo IRMPD

sulfotlenku zawiera dodatkowe pasmo w porównaniu z widmem nieutlenionej Met-Lys, w zakresie ok.  $900\text{ cm}^{-1}$ , które odpowiada drganiom rozciągającym S=O.



**Rys. 8** Porównanie eksperymentalnych widm IRMPD otrzymanych dla  $[\text{MetH}^+]$  (kolor czarny) i  $[\text{MetH}^+\text{SO}]$  (kolor czerwony) w zakresie spektralnym  $800\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ .

Analiza widm MS produktów utleniania radiacyjnego odwrotnej sekwencji peptydu (Lys-Met) również wykazała obecność pików o  $m/z = 294$  (różnica 16 Da w porównaniu z peptydem). Na podstawie analizy fragmentacyjnej MS oraz widm IRMPD został on zidentyfikowany jako sulfotlenek Lys-MetS=O.



**Rys. 9** Proponowany mechanizm dysproporcjonacji rodnika  $\alpha$ -alkilotioalkilowego ( $\alpha\text{S}$ ) prowadzący do utworzenia cząsteczki sulfotlenku MetS=O.



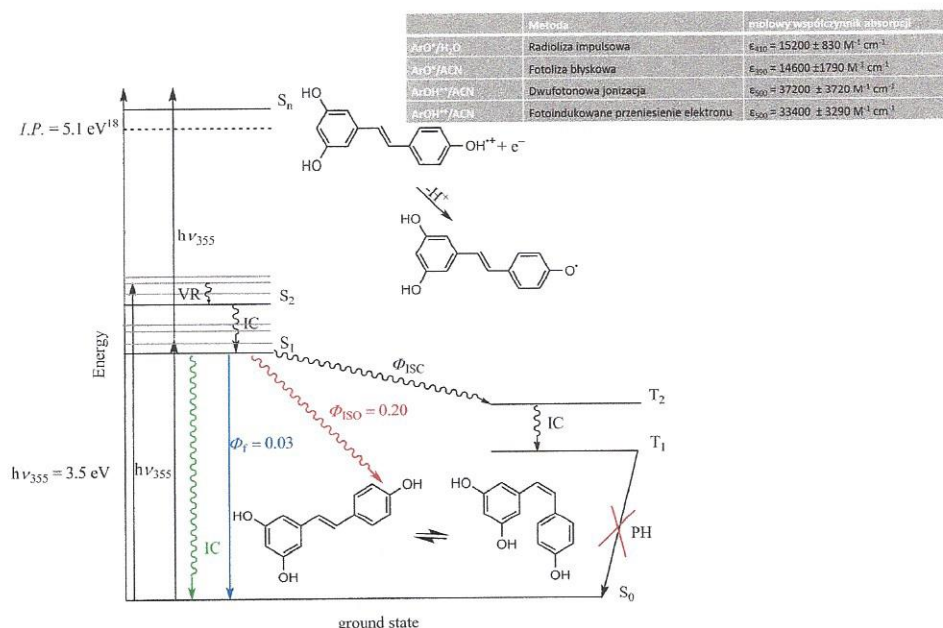
Na podstawie wyżej opisanych wyników eksperymentalnych zaproponowano ogólny dla wszystkich przebadanych peptydów mechanizm tworzenia sulfotlenku metioniny, polegający na reakcji dwucząsteczkowej dysproporcjonacji rodnika  $\alpha$ -alkiltioalkilowego ( $\alpha S$ ). Mechanizm ten, przedstawiony na rys. 9, tłumaczy m. in. tworzenie produktu będącego wynikiem utleniania dwuelektronowego, choć pierwotnym procesem inicjującym jest proces utleniania jednoelektronowego (poprzez reakcję z rodnikiem hydroksylowym  $\cdot OH$ ). Powyższe wyniki zostały dodatkowo potwierdzone w pracy H1, w której przebadano proces radiacyjnego utleniania związku modelowego 3-AcMTPA (N-acetylowana metionina z usuniętą grupą karboksylową). Wykazano, że utlenianie tego związku prowadzi do powstania rodnika typu  $\alpha S$ , który następnie ulega dimeryzacji oraz dysproporcjonacji, prowadząc do utworzenia trwałych produktów, których struktury udowodniono wykorzystując metodę LC-TOF-MS (H1, [49]).

Nanosekundowa fotoliza błyskowa wraz z 4-karboksybenzofenonem (4CB) jak fotosensybilizatorem, została wykorzystana w badaniach mechanizmu procesu utleniania istotnego biologicznie peptydu S-metylo-glutationu (S-Me-Glu) [7]. Celem tej części badań było zbadanie wpływu grup sąsiadujących (*neighboring group effect*) na mechanizm utleniania peptydów zawierających grupę tioeterową. Szczegółowy mechanizm został zaproponowany i szczegółowo omówiony w pracy [7]. W zasadowym środowisku (pH = 11) zidentyfikowano 9-członowy pierścień (S: $\cdot$ N)<sup>+</sup> jako indywidualne przejściowe prowadzące do procesu dekarboksylacji peptydu. W pH = 5,5, nie zarejestrowano rodników typu (S: $\cdot$ N)<sup>+</sup>, natomiast postuluje się stabilizację kationorodnika >S<sup>•+</sup> poprzez utworzenie 5-członowego pierścienia (S: $\cdot$ O) jako możliwej alternatywy dla tworzenia 5-członowego (S: $\cdot$ N)<sup>+</sup> z atomem azotu z wiązania peptydowego.

### **3.5 Zastosowanie fotolizy błyskowej w badaniach fotofizycznych i fotochemicznych resweratrolu (prace H3, H7, H8)**

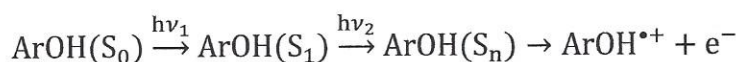
Resweratrol (ArOH) to naturalnie występujący organiczny związek chemiczny – pochodna polifenolowa stilbenu – trans-3,5,4'-trihydroksystilben. Jego aktywność biologiczna związana jest z działaniem przeciwnowotworowym i przeciwzapalnym. Zastosowanie resweratrolu jako czynnika przeciwutleniającego jest również powodem dużego zainteresowania naukowców właściwościami tego związku. Właściwości przeciwutleniające resweratrolu są związane ściśle z budową cząsteczkową tego związku, tj. jego podobieństwem strukturalnym do stilbenu oraz obecnością grup fenolowych. Jest dość zaskakującym faktem, iż stosunkowo niewiele prac dotyczy opisu właściwości fotofizycznych oraz kinetyki pierwotnych procesów fotochemicznych jakim ulega resweratrol.

Wyznaczone w ramach prowadzonych badań [8-10] (prace H3, H7 i H8 będące częścią osiągnięcia naukowego) właściwości resweratrolu to: wydajności kwantowe dezaktywacji stanów wzbudzonych, mechanizm fotojonizacji (często mylonej w literaturze z tworzeniem stanu trypletowego), czasy życia stanów wzbudzonych (za pomocą femtosekundowej absorpcji przejściowej), molowe współczynniki absorpcji tworzonego z resweratrolu rodników oraz kinetyka ich zaniku w różnych rozpuszczalnikach. Schematycznie właściwości te przedstawiono na rys. 10.

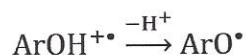


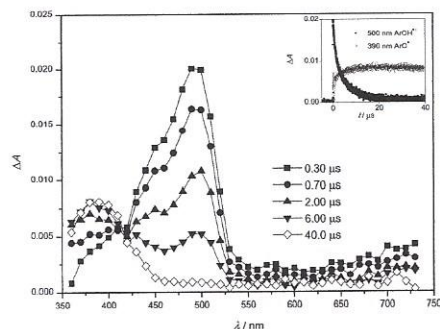
**Rys. 10** Podstawowe właściwości fotofizyczne i fotochemiczne resweratrolu (ArOH). Tabela przedstawia wyznaczone molowe współczynniki absorpcji rodników uzyskanych z ArOH.

Szczególnie ciekawe wydaje się dwufotonowy proces tworzenia kationorodnika ArOH<sup>•+</sup>, który obserwuje się nawet przy stosunkowo małych energiach lasera wzbudzającego (głównie w eksperymentach fotolizy błyskowej,  $E_{355} \approx 3 \text{ MJ}$ ). ArOH<sup>•+</sup> generowany jest poprzez tzw. rezonansową absorpcję dwóch fotonów (REMPI):



W pierwszym kroku cząsteczka ArOH zostaje wzbudzona do stanu  $S_1$ , a następnie stan ten absorbuje kolejny foton, wzbudzając cząsteczkę do wyższego stanu  $S_n$ , prowadząc do jonizacji z utworzeniem kationorodnika. Jak ilustruje rys. 11, natychmiast po wzbudzeniu pojawia się absorpcja przejściowa z maksimum ok. 500 nm, zanikająca z czasem życia ok. 4  $\mu\text{s}$ . Zanikowi tego pasma absorpcji towarzyszy pojawienie się (z tą samą kinetyką) nowego pasma z  $\lambda_{\text{max}} = 400 \text{ nm}$ . Kształt tego pasma jest bardzo charakterystyczny dla rodnika fenoksylogo i został przypisany rodnikowi ArO<sup>•</sup> resweratrolu. Najbardziej prawdopodobną drogą generacji tego rodnika jest deprotonacja utworzonego w wyniku jonizacji kationorodnika ArOH<sup>•+</sup> z utworzeniem rodnika fenoksylogo ArO<sup>•</sup> resweratrolu:



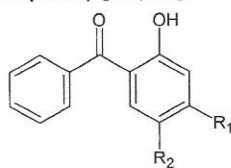


**Rys. 11** Widmo absorpcji przejściowej ArOH (1 mM,  $\lambda_{wzb} = 355$  nm,  $E = 50$  mJ) w odtlenionym acetonitrylu. Wkładka: kinetyka zmian absorpcji ArOH<sup>•+</sup> oraz ArO<sup>•</sup>.

### 3.6 Pochodne benzofenonu jako chemiczne filtry przeciwstoneczne

(praca H2)

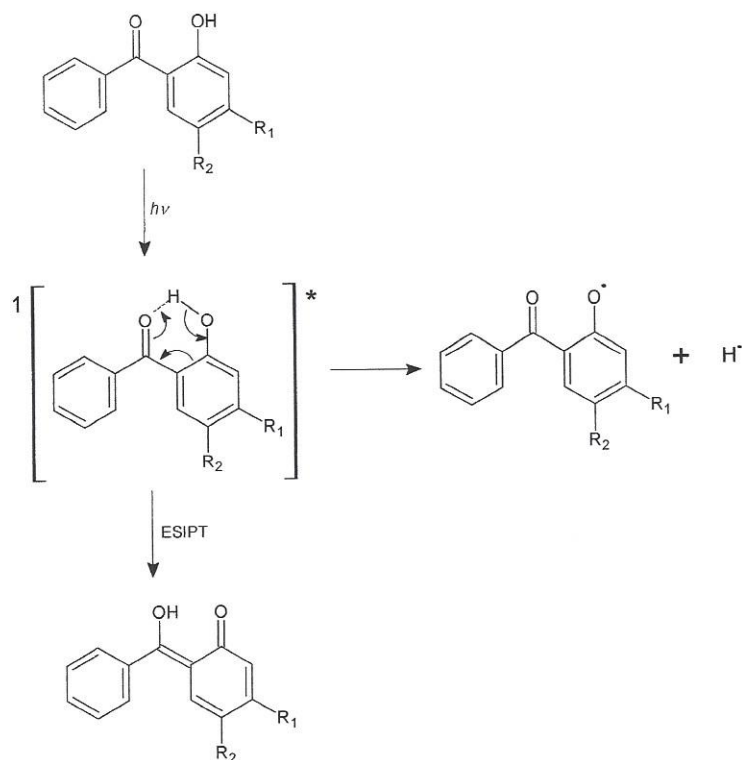
Niektóre pochodne benzofenonu, ze względu na swoje unikalne właściwości, znalazły zastosowanie w przemyśle kosmetycznym oraz farmaceutycznym jako tzw. chemiczne filtry przeciwstoneczne. W badaniach skupiono się na 3 pochodnych (rys. 12): 2-hydroksybenzofenon (2-HOBP), sulisobenzon (SB) oraz oksybenzon (OXB) [11,50].



**Rys. 12** Ogólna struktura pochodnych benzofenonu stosowanych jako filtry przeciwstoneczne. 2-HOBP: R1, R2 = H; SB: R1 = OCH<sub>3</sub>, R2 = SO<sub>3</sub>H; OXB: R1 = OCH<sub>3</sub>, R2 = H.

Zarejestrowane widma absorpcji przejściowej ( $\lambda_{wzb} = 340$  nm) badanych pochodnych w różnych rozpuszczalnikach ukazują pojawienie się szerokiego pasmo w zakresie 500 – 600 nm, które przypisane zostało wzbudzonemu stanowi singletowemu. Jednocześnie, zanik absorpcji przejściowej zarejestrowany dla maksimum  $\lambda = 500$  nm wykazuje, iż absorbcja przejściowa nie zanika do zera, co sugeruje tworzenie innego indywiduum o stosunkowo długim czasie życia. Maksimum absorpcji przejściowej tego indywiduum w okolicach 400 nm oraz brak reaktywności wobec tlenu wykluczona możliwość tworzenia stanu trypletowego. Indywiduum to przypisane zostało rodnikowi fenoksyłowemu, co potwierdziły kolejne eksperymenty wykonane techniką nanosekundowej fotolizy błyskowej oraz radiolizy impulsowej (dzięki której rodnik ten mógł być selektywnie wygenerowany, a następnie jego widmo porównane z tym uzyskanym w eksperymentach fotolizy błyskowej). Udowodniony mechanizm dezaktywacji przedstawiono na rys. 13. Wyniki badań fotofizycznych innych filtrów chemicznych były przedmiotem opublikowanej niedawno pracy [50] i mam zamiar kontynuować je w najbliższej przyszłości.





**Rys. 13** Sugerowany, uogólniony mechanizm dezaktywacji wzbudzonego stanu singletowego pochodnych 2-hydroksybenzofenonu.

### 3.7 Podsumowanie i perspektywy

Program badawczy stanowiący osiągnięcie naukowe obejmował szereg badań mechanizmów reakcji rodnikowych utleniania wybranych związków organicznych o znaczeniu biologicznym prowadzonych głównie przy użyciu metod spektroskopii czasowo-rozdzielczej. Celem prowadzonych badań było poszerzenie wiedzy w dziedzinie badań nad fotosensybilizowanym utlenianiem aminokwasów, peptydów i innych związków organicznych o znaczeniu biologicznym. Do najistotniejszych wyników prowadzonych prac badawczych należy zaliczyć:

- skonstruowanie laserowego spektrometru absorpcji przejściowej z możliwością wzbudzenia przy dł. fali 355 i 266 nm, przystawką temperaturową umożliwiającą pracę w zakresie od -20 do +50 st. C oraz możliwością wykonywania widm w zakresie UV-Vis oraz NIR – osiągnięcie to nie ma skali globalnej, jednakże jest warte podkreślenia, gdyż jest to pierwszy tego typu układ pomiarowy na Wydziale Chemii UAM oraz jeden z nielicznych w kraju;

- szczegółowe przebadanie właściwości fotofizycznych i fotochemicznych 3-karboksybenzofenonu oraz zastosowanie 3CB jako fotosensybilizatora procesów utleniania wybranych peptydów;

- udowodnienie mechanizmu fotolitycznego oraz radiolitycznego (poprzez rodniki OH) utleniania wybranych związków organicznych z grupą tioeterową;

- udowodnienie mechanizmu radiacyjnego utleniania związku modelowego 3-AcMTPA (praca H1) wraz z udowodnieniem struktury głównych produktów trwałych utleniania

- zaproponowanie mechanizmu powstawania trwałych modyfikacji peptydów (np. Met-Lys) dzięki połączeniu technik czasowo-rozdzielczych (radioliza impulsowa) oraz stacjonarnych (LC-TOF-MS);

- udowodnienie mechanizmu ultraszybkiej dezaktywacji stanu wzbudzonego oksybenzonu (związek stosowany w przemyśle kosmetycznym) przy użyciu techniki femtosekundowej laserowej absorpcji przejściowej.

W perspektywie najbliższych kilku lat mam zamiar skupić się na kontynuowaniu badań dotyczących utleniania białek i peptydów na nowych, obiecujących układach modelowych (np. 3-MTPA, 3-AcMTPA) metodami spektroskopii laserowej. Ponadto, zamierzam prowadzić badania ultraszybkiej dezaktywacji oraz fotostabilności związków stosowanych jako chemiczne filtry przeciwsłoneczne. Temat ten jest w ostatnich latach szeroko opisywany w literaturze głównie dzięki rozwojowi i upowszechnieniu technik ultraszybkiej spektroskopii laserowej. Dzięki dostępowi do nowoczesnej i unikalnej infrastruktury badawczej jestem w stanie prowadzić badania w tej dziedzinie na najwyższym światowym poziomie.

#### 4. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych oraz dydaktycznych

Większa część mojej kariery naukowo-badawczej związana jest ze współpracą z prof. Bronisławem Marciniakiem i Zakładem Fizyki Chemicznej Wydziału Chemii UAM. Współpraca ta rozpoczęła się nieformalnie jeszcze w roku 1996 podczas pisania pracy magisterskiej pod kierunkiem prof. Mariana Elbanowskiego (i pod opieką naukową prof. Stefana Lisa), a bardziej formalnie po przyjęciu mnie na studia doktoranckie w październiku 1997 roku.

W roku 2000, będąc słuchaczem studium doktoranckiego na Wydziale Chemii UAM otrzymałem **stypendium Fulbright'a** (Fulbright Junior Award) w ramach którego przebywałem w prestiżowych, amerykańskich uczelniach (3 miesiące na **Uniwersytecie Stanforda** oraz 5 miesięcy na Uniwersytecie Notre Dame). Szczególnie pobyt na **Uniwersytecie w Notre Dame pod kierunkiem dr. Gordona Huga** zaowocował napisaniem dużej części mojej pracy doktorskiej, a także pozwolił mi na zapoznanie się z technikami spektroskopii czasowo-rozdzielczej stosowanymi w badaniach chemicznych (rozdział w doktoracie poświęcony eksperymentom z techniką nanosekundowej laserowej fotolizy błyskowej).

Jeszcze przed obroną pracy doktorskiej uzyskałem **stypendium Marie-Curie** w ramach którego wyjechałem na blisko trzyletni staż do innowacyjnej firmy **Optimare GmbH w Wilhelmshaven** (firma typu spin-off, działająca w ścisłej współpracy naukowej z **Uniwersytetem w Poczdamie**). Pobyt w firmie Optimare finansowany był w ramach 5. Programu Ramowego Komisji Europejskiej (**grant Marie Curie Industry Host Fellowship**, 24 miesiące + 8 miesięcy pracy po zakończeniu stypendium). Praca naukowa odbywała się pod kierunkiem **prof. Hansa-Gerda Lohmannsrobenna** oraz dr. Reinera Schulze i dotyczyła konstrukcji miniaturowego lasera barwnikowego z podwajaniem częstości jako źródła jonów dla spektrometru IMS (Ion Mobility Spectrometer). Warto podkreślić, że technika IMS jest obecnie coraz powszechniej stosowana przez producentów spektrometrów mas (AB Sciex, Waters, Agilent).

Blisko trzyletnia praktyka odbyta zagranicą umożliwiła aplikowanie o tzw. grant „powrotowy”, tj. **Europejski Grant Reintegracyjny** w ramach 6. Programu Ramowego UE. Uzyskanie tego dwuletniego



grantu w roku 2005 (na kwotę 40 tys. Euro) umożliwiło rozpoczęcie budowy pierwszego na Wydziale Chemii laserowego spektrometru absorpcji przejściowej. Aparat ten skonstruowano przy współudziale pracowników Wydziału Fizyki UAM (dr. J. Karolczaka i dr G. Burdzińskiego). W następnych latach, przy wykorzystaniu mojego doświadczenia zdobytego podczas stażu podoktorskiego i zdobytemu tam „know-how”, skonstruowałem wspólnie z pracownikami Zakładu Fizyki Chemicznej UAM także inne układy laserowe służące do pomiarów absorpcyjnych, emisyjnych, a także do naświetlań fotochemicznych.

W roku 2009 podjąłem się napisania wniosku, a następnie kierowałem projektem współfinansowanym przez MNiSzW w ramach dofinansowania współpracy międzynarodowej tzw. akcji COST. Projekt stanowił dofinansowanie (w wysokości ok. 370 tys. PLN) udziału naszej grupy badawczej w projekcie europejskim COST Chemistry CM0603. Pozyskany grant umożliwił doposażenie aparaturowe, a także rozpoczęcie prac badawczych m. in. na spektrometrze absorpcji przejściowej, a także rozwijanie współpracy naukowej krajowej i międzynarodowej.

W roku 2011 otrzymałem grant **NCN OPUS** na realizację projektu „**Indukowane fotochemiczne procesy rodnikowe w cząsteczkach aminokwasów i biologicznie aktywnych peptydów zawierających metioninę**” (374,3 tys. PLN). Grant ten pozwolił mi na kontynuację prac badawczych związanych z mechanizmami utleniania peptydów i białek metodami spektroskopii laserowej.

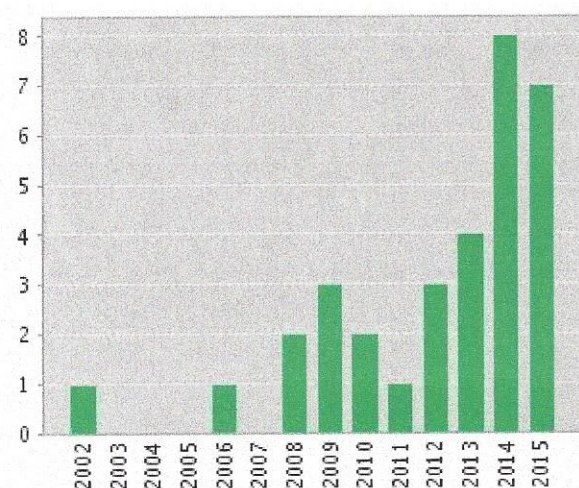
Podczas pracy na Wydziale Chemii UAM jestem mocno zaangażowany w proces dydaktyczny, prowadząc zajęcia z następujących przedmiotów: Podstawy chemii fizycznej, Fizyka chemiczna, Fotochemia środowiska. Ponadto, od wielu lat prowadzę zajęcia oraz pełnię rolę opiekuna naukowego studentów przebywających na naszym wydziale w ramach programu **Erasmus Mundus SERP Chem** (<http://www.serp-chem.eu/>). W ramach tego programu prowadzę 60 godzin rocznie autorskich seminariów oraz zajęć laboratoryjnych z przedmiotów: „**Dynamics of photochemical reactions in chemistry, biology and medicine**” (semestr 2) oraz „**Applied photochemistry and luminescence spectroscopy**” (semestr 3). Pełniłem też rolę współpromotora dwóch prac magisterskich (Abdul Rahman ABID, Blanca Delia MUNOZ GUTIERREZ) w ramach programu SERP Chem.

W roku 2016 postanowiliśmy wnioskować o przedłużenie tego prestiżowego programu Erasmus Mundus w ramach tego samego konsorcjum 4 uczelni. Złożony projekt, którego jako przedstawiciel UAM jestem współautorem, został bardzo dobrze oceniony przez ekspertów (89,5/100 punktów) co pozwoliło na uzyskanie finansowania na kolejne 5 lat trwania projektu.

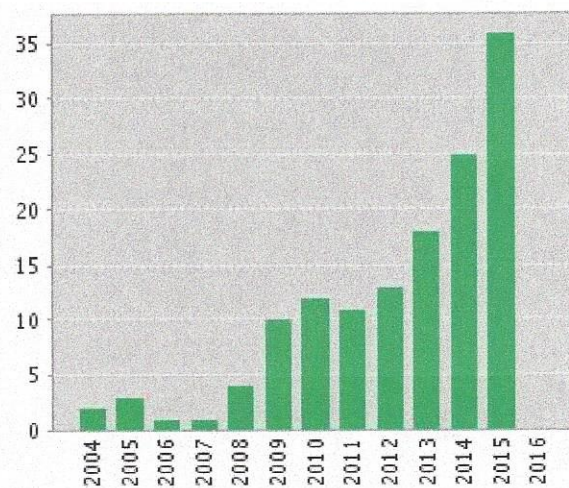
Pracę na Wydziale Chemii UAM od 2011 roku łączę z pracą na rzecz **Wielkopolskiego Centrum Zaawansowanych Technologii (WCZT)**. W fazie realizacji projektu zajmowałem się koordynacją zakupów infrastruktury badawczej (organizacja przetargów, negocjacje z dostawcami, nadzór nad instalacją sprzętu), natomiast obecnie pełnię rolę opiekuna naukowego zespołu pracowni chromatografii i spektrometrii mas WCZT.

Podsumowując, praca na Wydziale Chemii UAM, praca na rzecz WCZT oraz odbyte liczne, zagraniczne staże i szkolenia pozwalają mi uważać się za specjalistę w dziedzinie spektroskopii laserowej (zarówno absorpcyjnej jak i emisyjnej), technik czasowo-rozdzielczych, a także w spektrometrii mas (w tym LC-MS).

Publikacje



Cytowania



Od roku 2005 (czyli od właściwego początku mojej pracy badawczej po uzyskaniu stopnia naukowego doktora) opublikowałem 31 prac naukowych w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym (wg Web of Science), co daje średnią ok. 3 publikacji/rok z wyraźną tendencją wzrostową (o czym świadczy wyraźnie rosnąca ilość corocznych cytowań, a także fakt opublikowania 14 prac w ostatnich 2 latach). Powyższe wykresy dorobku publikacyjnego pokazują syntetycznie przebieg mojej dotychczasowej kariery naukowo-badawczej.

Tomasz Rędkowski



## 5. Literatura cytowana

- [1] Hoerner G, Hug GL, Pogocki D, Filipiak P, Bauer W, Grohmann A, Laemmermann A, Pedzinski T, Marciniak B. Head-to-tail interactions in tyrosine/benzophenone dyads in the ground and the excited state: NMR and laser flash photolysis studies. *Chemistry-a European Journal* 2008;14(26):7913-7929.
- [2] Pedzinski T, Markiewicz A, Marciniak B. Photosensitized oxidation of methionine derivatives. Laser flash photolysis studies. *Research on Chemical Intermediates* 2009;35(4):497-506.
- [3] Lewandowska-Andralojc A, Hug GL, Hoerner G, Pedzinski T, Marciniak B. Unusual photobehavior of benzophenone triplets in hexafluoroisopropanol. Inversion of the triplet character of benzophenone. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* 2012;244:1-8.
- [4] Pedzinski T, Bobrowski K, Ignasiak M, Kciuk G, Hug GL, Lewandowska-Andralojc A, Marciniak B. 3-Carboxybenzophenone (3-CB) as an efficient sensitizer in the photooxidation of methionyl-leucine in aqueous solutions: Spectral, kinetic and acid-base properties of 3-CB derived transients. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* 2014;287:1-7.
- [5] Ignasiak MT, Pedzinski T, Rusconi F, Filipiak P, Bobrowski K, Houee-Leyin C, Marciniak B. Photosensitized Oxidation of Methionine-Containing Dipeptides. From the Transients to the Final Products. *Journal of Physical Chemistry B* 2014;118(29):8549-8558.
- [6] Ignasiak M, Scuderi D, de Oliveira P, Pedzinski T, Rayah Y, Levin CH. Characterization by mass spectrometry and IRMPD spectroscopy of the sulfoxide group in oxidized methionine and related compounds. *Chemical Physics Letters* 2011;502(1-3):29-36.
- [7] Filipiak P, Hug GL, Bobrowski K, Pedzinski T, Kozubek H, Marciniak B. Sensitized Photooxidation of S-Methylglutathione in Aqueous Solution: Intramolecular (S therefore O) and (S therefore N) Bonded Species. *Journal of Physical Chemistry B* 2013;117(8):2359-2368.
- [8] Dzeba I, Pedzinski T, Mihaljevic B. Reaction kinetics of resveratrol with tert-butoxyl radicals. *Radiation Physics and Chemistry* 2012;81(9):1294-1296.
- [9] Džeba I, Pedzinski T, Mihaljević B. Photophysical and photochemical properties of resveratrol. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2015;299(0):118-124.
- [10] Dzeba I, Pedzinski T, Mihaljević B. Laser flash photolysis study of the photochemistry of resveratrol in acetonitrile. *Free Radical Biology and Medicine* 2012;53, Supplement 1(0):S140-S141.
- [11] Ignasiak MT, Houée-Levin C, Kciuk G, Marciniak B, Pedzinski T. A Reevaluation of the Photolytic Properties of 2-Hydroxybenzophenone-Based UV Sunscreens: Are Chemical Sunscreens Inoffensive? *Chemphyschem* 2015;16(3):628-633.
- [12] Porter G. Flash Photolysis and Spectroscopy. A New Method for the Study of Free Radical Reactions. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences* 1950;200(1061):284-300.
- [13] Nobelprize.org. The Nobel Prize in Chemistry 1967. <[http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1967/](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1967/)>.
- [14] Maiman TH. Stimulated Optical Radiation in Ruby. *Nature* 1960;187(4736):493-494.
- [15] George MV, Kumar CV, Scaiano JC. Photochemistry and photooxidation of tetraphenyl-p-dioxin. *The Journal of Physical Chemistry* 1979;83(19):2452-2455.
- [16] Hug GL, Bobrowski K, Kozubek H, Marciniak B. Photooxidation of methionine derivatives by the 4-carboxybenzophenone triplet state in aqueous solution. Intracomplex proton transfer involving the amino group. *Photochemistry and Photobiology* 1998;68(6):785-796.
- [17] Hug GL, Bobrowski K, Kozubek H, Marciniak B. pH effects on the photooxidation of methionine derivatives by the 4-carboxybenzophenone triplet state. *Nukleonika* 2000;45(1):63-71.
- [18] Porter G, Tchir MF. FLASH PHOTOLYSIS OF AN ORTHO-ALKYL-BENZOPHENONE. *Journal of the Chemical Society D-Chemical Communications* 1970(20):1372-&.



- [19] Porter G, Tchir MF. PHOTOENOLIZATION OF ORTHO-SUBSTITUTED BENZOPHENONES BY FLASH PHOTOLYSIS. *Journal of the Chemical Society a -Inorganic Physical Theoretical* 1971(23):3772-&.
- [20] Scaiano JC. SOLUTION PHOTOCHEMISTRY OF ORTHO-HYDROXYBENZOPHENONE AT LOW-TEMPERATURES. *Chemical Physics Letters* 1982;92(1):97-99.
- [21] Scaiano JC, Abuin EB, Stewart LC. Photochemistry of benzophenone in micelles. Formation and decay of radical pairs. *Journal of the American Chemical Society* 1982;104(21):5673-5679.
- [22] Scaiano JC, Netto-Ferreira JC, Becknell AF, Small RD. The mechanism of photocure of inherently photosensitive polyimides containing a benzophenone group. *Polymer Engineering & Science* 1989;29(14):942-944.
- [23] Cuquerella MC, Lhiaubet-Vallet V, Cadet J, Miranda MA. Benzophenone Photosensitized DNA Damage. *Accounts of Chemical Research* 2012;45(9):1558-1570.
- [24] Boscá F, Miranda MA. New Trends in Photobiology (Invited Review) Photosensitizing drugs containing the benzophenone chromophore. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 1998;43(1):1-26.
- [25] Lewandowska-Andralojc A, Kazmierczak F, Hug GL, Hörner G, Marciniak B. Photoinduced CC-coupling Reactions of Rigid Diastereomeric Benzophenone-Methionine Dyads. *Photochemistry and Photobiology* 2013;89(1):14-23.
- [26] Chattopadhyay SK, Das PK, Hug GL. PHOTOPROCESSES IN DIPHENYLPOLYENES - OXYGEN AND HEAVY-ATOM ENHANCEMENT OF TRIPLET YIELDS. *Journal of the American Chemical Society* 1982;104(17):4507-4514.
- [27] Bobrowski K, Marciniak B, Hug GL. 4-Carboxybenzophenone-Sensitized Photooxidation of Sulfur-Containing Amino-Acids - Nanosecond Laser Flash-Photolysis and Pulse-Radiolysis Studies. *Journal of the American Chemical Society* 1992;114(26):10279-10288.
- [28] Bobrowski K, Hug GL, Marciniak B, Kozubek H. 4-Carboxybenzophenone-sensitized photooxidation of sulfur-containing amino acids in alkaline aqueous solutions. Secondary photoreactions kinetics. *Journal of Physical Chemistry* 1994;98(2):537-544.
- [29] Bobrowski K, Marciniak B, Hug GL. A Reinvestigation of the Mechanism of Photoreduction of Benzophenones by Alkyl Sulfides. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* 1994;81(3):159-168.
- [30] Marciniak B, Hug GL, Kozubek H, Bobrowski K. Mechanism of 4-carboxybenzophenone-sensitized photooxidation of methionine-containing dipeptides and tripeptides in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry* 1995;99(36):13560-13568.
- [31] Marciniak B, Hug GL, Rozwadowski J, Bobrowski K. EXCITED TRIPLET-STATE OF N-(9-METHYLPURIN-6-YL)PYRIDINIUM CATION AS AN EFFICIENT PHOTSENSITIZER IN THE OXIDATION OF SULFUR-CONTAINING AMINO-ACIDS - LASER FLASH AND STEADY-STATE PHOTOLYSIS STUDIES (VOL 117, PG 127, 1995). *Journal of the American Chemical Society* 1995;117(16):4726-4727.
- [32] Hug GL, Bobrowski K, Kozubek H, Marciniak B. Photo-oxidation of methionine-containing peptides by the 4-carboxybenzophenone triplet state in aqueous solution. Competition between intramolecular two-centered three-electron bonded (S therefore S)(+) and (S therefore N)(+) formation. *Photochemistry and Photobiology* 2000;72(1):1-9.
- [33] Wrzyszczyński A, Pietrzak M, Bartoszewicz J, Kozubek H, Hug GL, Marciniak B, Paczkowski J. Unexpected Hofmann elimination in the benzophenone-(phenylthio)acetic tetrabutylammonium salt photoredox system. *Journal of the American Chemical Society* 2003;125(37):11182-11183.
- [34] Marciniak B, Bobrowski K, Hug GL. QUENCHING OF TRIPLET-STATES OF AROMATIC KETONES BY SULFUR-CONTAINING AMINO-ACIDS IN SOLUTION - EVIDENCE FOR ELECTRON-TRANSFER. *Journal of Physical Chemistry* 1993;97(46):11937-11943.
- [35] Marciniak B, editor. *Metody badania mechanizmów reakcji foto-chemicznych*. Poznań: Wydawnictwo Naukowe UAM; 1999.



- [36] Marciniak B, Bobrowski K, Hug GL. Quenching of triplet states of aromatic ketones by sulfur-containing amino acids in solution. Evidence for electron transfer. *Journal of Physical Chemistry* 1993;97(46):11937-11943.
- [37] Bobrowski K, Marciniak B. The Kinetics of the Acid-Base-Equilibrium of 4-Carboxybenzophenone Ketyl Radical - a Pulse-Radiolysis Study. *Radiation Physics and Chemistry* 1994;43(4):361-364.
- [38] Lewandowska A, Hug GL, Horner G, Pedzinski T, Filipiak P, Marciniak B. Efficient Photochemical Oxidation of Anisole in Protic Solvents: Electron Transfer driven by Specific Solvent-Solute Interactions. *Chemphyschem* 2010;11(10):2108-2117.
- [39] Turro NJ, Ramamurthy V, Scaiano JC. *Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules. Photochemistry and Photobiology* 2012;88(4):1033-1033.
- [40] Leermakers PA, Rusakowicz R, Byers GW. Electronically excited aromatic carbonyl compounds in hydrogen bonding and acidic media. *Journal of the American Chemical Society* 1971;93(13):3263-3266.
- [41] Miranda MA, Lahoz A, Martinez-Manez R, Bosca F, Castell JV, Perez-Prieto J. Enantioselective discrimination in the intramolecular quenching of an excited aromatic ketone by a ground-state phenol. *Journal of the American Chemical Society* 1999;121(49):11569-11570.
- [42] Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* 2003;25(3-4):207-218.
- [43] Davies MJ. The oxidative environment and protein damage. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* 2005;1703(2):93-109.
- [44] Wardman P. Reduction Potentials of One-Electron Couples Involving Free Radicals in Aqueous Solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 1989;18(4):1637-1755.
- [45] Bonifacic M, Mockel H, Bahnemann D, Asmus KD. Formation of positive ions and other primary species in the oxidation of sulphides by hydroxyl radicals. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* 1975(7):675-685.
- [46] Asmus KD. Stabilization of oxidized sulfur centers in organic sulfides. Radical cations and odd-electron sulfur-sulfur bonds. *Accounts of Chemical Research* 1979;12(12):436-442.
- [47] Hiller KO, Masloch B, Goebel M, Asmus KD. Mechanism of the hydroxyl radical induced oxidation of methionine in aqueous solution. *Journal of the American Chemical Society* 1981;103(10):2734-2743.
- [48] Bevington PR. *Data Reduction and Error Analysis for the Physical Sciences*. McGraw-Hill 1969:New York.
- [49] Pedzinski T, Kazmierczak F, Filipiak P, Marciniak B. Oxidation studies of a novel peptide model N-acetyl-3-(methylthio)propylamine. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2017;336:98-104.
- [50] Abid AR, Marciniak B, Pędziński T, Shahid M. Photo-stability and photo-sensitizing characterization of selected sunscreens' ingredients. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2017;332:241-250.

Tomasz Pędziński