



Wydział Chemii i Farmacji
Uniwersytet Opolski
ul. Oleska 48
za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Beata Gaśowska-Bajger
(imię i nazwisko wnioskodawcy)

Instytut Chemii
Wydział Chemii i Farmacji
Uniwersytet Opolski
Ul. Oleska 48, 45-052 Opole
(miejsce pracy/jednostka naukowa)

Wniosek

z dnia 16.01.2025

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie **nauk ścisłych i przyrodniczych** dyscyplinie **nauki chemiczne**

*Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia
doktora habilitowanego*

Osiągnięciem naukowym, który przedkładam jako rozprawę habilitacyjną jest cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b Ustawy zatytułowany:

Wpływ związków o właściwościach redukujących na reakcje katalizowane przez oksydoreduktazy

Wniosuję – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce – aby komisja habilitacyjna podejmowała uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu ~~tajnym~~/jawnym^{*1}

Zostałem poinformowany, że:

Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).

Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl, tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu. Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c) Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art. 232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.

¹ * Niepotrzebne skreślić.

Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html

Beata Gąsowska-Bajger
(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

- Załącznik 1. Wniosek w języku angielskim
- Załącznik 2. Dane wnioskodawcy (wersja w języku polskim i angielskim)
- Załącznik 3. Autoreferat (wersja w języku polskim i angielskim)
- Załącznik 4. Wykaz osiągnięć naukowych (wersja w języku polskim i angielskim)
- Załącznik 5. Oświadczenia współautorów (wersja w języku polskim i angielskim)
- Załącznik 6. Odpis dyplomu nadania stopnia doktora (wersja w języku polskim i angielskim)
- Załącznik 7. Cykl publikacji stanowiących osiągnięcie
- Załącznik 8. Zaświadczenia o odbytych stażach



**WYDZIAŁ
CHEMII I FARMACJI**
UNIWERSYTET OPOLSKI

AUTOREFERAT

*Wpływ związków o właściwościach redukujących na
reakcje katalizowane przez oksydoreduktazy*

dr Beata Gąsowska-Bajger

Opole 2025

- 1. Imię i nazwisko:** Beata Gąsowska-Bajger
Orcid: 0000-0003-0831-383X
- 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

| | |
|-------------------------|---|
| 30 czerwiec 1998 | magister chemii , specjalność: chemia podstawowa i stosowana, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Opolskiego praca dyplomowa: „Hydroliza enzymatyczna i nieenzymatyczna fosfoenolopirogronianu” Promotor: dr hab. Korneliusz Nowak, prof. UO |
| 12 luty 2000 | Trzysemestralne Studia Podyplomowe w zakresie Informatyki Wydział Przyrodniczo-Techniczny Uniwersytetu Opolskiego Tytuł pracy: „Wykorzystanie programu Mathematica do rozwiązywania prostych równań kinetycznych” Promotor: prof. dr hab. inż. Andrzej Gawdzik |
| 2003/2004 | Dwusemestralny kurs doskonalenia w zakresie dydaktyki szkoły wyższej |
| 20 kwiecień 2006 | doktor nauk chemicznych Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Opolskiego Tytuł rozprawy doktorskiej: „Pośrednie utlenianie przez tyrozynazę związków nie będących jej naturalnymi substratami-zastosowanie w projektowaniu potencjalnych leków przeciwko czerniakowi” Promotor: dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO |

- 3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.**

| | |
|-------------|---|
| 1997-1998 | pracownik techniczny , Zakład Chemii Fizycznej i Biochemii, Instytut Chemii, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, Uniwersytet Opolski (jako studentka V roku Chemii) |
| 1998-1999 | pracownik techniczny , Zakład Chemii Fizycznej i Biochemii, Instytut Chemii, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, Uniwersytet Opolski |
| 1999-2006 | asystent , Zakład Chemii Fizycznej i Biochemii, od 2002 r. Zakład Biochemii, Instytut Chemii, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, Uniwersytet Opolski |
| 2006 - 2016 | adiunkt , Zakład Biochemii, Instytut Chemii, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii od 2008 r. Wydział Chemii, Uniwersytet Opolski |

| | |
|-----------------------------------|--|
| od 2016 do nadal | adiunkt , Zakład Chemii Organicznej i Biochemii, Instytut Chemii, Wydział Chemii, a do marca 2024 r Wydział Chemii i Farmacji Uniwersytet Opolski |
| Od 29 styczeń do 17 czerwiec 2018 | Urlop macierzyński . Po urlopie macierzyńskim wykorzystałam 6 tygodni urlopu rodzicielskiego. |

4. *Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).*

Osiągnięciem naukowym jest cykl publikacji złożony z dziewięciu prac oryginalnych znajdujących się w bazie JCR (**H1-H9**).

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Wpływ związków o właściwościach redukujących na reakcje katalizowane przez oksydoreduktazy

4.2. Wykaz jednotematycznych artykułów naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe, w ujęciu chronologicznym: Wartość punktacji wg listy Ministerstwa Edukacji i Nauki (pkt. MEiN), ze względu na ustalenie nowej punktacji w 2024 r.; podano w oparciu o zaktualizowane dane z dnia 1.02.2024 r.

(*) Autor korespondencyjny

| | | |
|-----------|---|---|
| H1 | Frąckowiak-Wojtasek B, Gąsowska-Bajger B , Mazurek M, Raniszewska A, Logghe M, Smolarczyk R, Cichoń T, Szala S, Wojtasek H* <i>Synthesis and analysis of activity of a potential anti-melanoma prodrug with a hydrazine linker.</i> European Journal of Medicinal Chemistry, 2014 , 71, 98-104 doi:10.1016/j.ejmech.2013.10.080 | IF ₂₀₁₄ = 3,447 IF _{5-letni} = 6,5 Pkt. MEiN ₂₀₁₄ = 40 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 140 |
| H2 | Gąsowska-Bajger B , Wojtasek H* <i>Reactions of flavonoids with o-quinones interfere with the spectrophotometric assay of tyrosinase activity.</i> Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016 , 64(26), 5417-27 doi:10.1021/acs.jafc.6b01896 | IF ₂₀₁₆ = 3,154 IF _{5-letni} = 6,3 Pkt. MEiN ₂₀₁₆ = 45 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 140 |
| H3 | Gąsowska-Bajger B , Nishigaya Y, Hirsz-Wiktorzak K, Rybczyńska A, Yamazaki T, Wojtasek H* <i>Interference of carbidopa and other catechols with reactions catalyzed by peroxidases.</i> Biochemica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects, 2018 , 1862(7), 1626-1634 doi: 10.1016/j.bbagen.2018.04.007 | IF ₂₀₁₈ = 3,681 IF _{5-letni} = 3,4 Pkt. MEiN ₂₀₁₈ = 35 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 100 |
| H4 | Tarasek D, Gąsowska-Bajger B , Wojtasek H* <i>Mechanisms of interference of p-diphenols with the Trinder reaction.</i> Bioorganic Chemistry, 2020 , 97, 1-8 | IF ₂₀₂₀ = 5,275 IF _{5-letni} = 5,3 Pkt. MEiN ₂₀₂₀ = 100 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 100 |

| | | |
|-----------|---|---|
| | doi:10.1016/j.bioorg.2020.103692 | |
| H5 | Tarasek D, Gąsowska-Bajger B , Frąckowiak-Wojtasek B, Kersten C, Jewgiński M, Kołodziej Ł, Latajka R, Wojtasek H* <i>Oxidation of dobutamine and dopamine by horseradish peroxidase.</i> Journal of Molecular Structure, 2022 , 1252, 132169 doi:10.1016/j.molstruc.2021.132169 | IF ₂₀₂₂ = 3,8 IF _{5-letni} = 3,2 Pkt. MEiN ₂₀₂₂ = 70 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 70 |
| H6 | Gąsowska-Bajger B , Wojtasek H* <i>Oxidation of baicalein by tyrosinase and by o-quinones.</i> International Journal of Biological Macromolecules, 2023 , 231,123317 doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.123317 | IF ₂₀₂₃ = 8,2 IF _{5-letni} = 7,8 Pkt. MEiN ₂₀₂₃ = 100 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 100 |
| H7 | Frąckowiak-Wojtasek B, Gąsowska-Bajger B , Tarasek D, Mytnik M, Wojtasek H* <i>Oxidation of anti-thyroid drugs and their selenium analogs by ABTH radical cation.</i> Bioorganic Chemistry, 2023 , 141, 106891 doi:10.1016/j.bioorg.2023.106891 | IF ₂₀₂₄ = 5,1 IF _{5-letni} = 5,3 Pkt. MEiN ₂₀₂₃ = 140 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 100 |
| H8 | Gąsowska-Bajger B* , Sosnowska K, Gąsowska-Bodnar A, Bodnar L, <i>The Effect of Acetylsalicylic Acid, as a Representative Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug, on the Activity of Myeloperoxidase.</i> Pharmaceuticals, 2023 , 16(7), 1012 doi:10.3390/ph16071012 | IF ₂₀₂₃ = 4,6 IF _{5-letni} = 4,9 Pkt. MEiN ₂₀₂₃ = 140 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 100 |
| H9 | Gąsowska-Bajger B , Wojtasek H* <i>Epigallocatechin and epigallocatechin-3-gallate are not inhibitors of tyrosinase.</i> Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2024 , 113(15), 129976 doi.org/10.1016/j.bmcl.2024.129976 | IF ₂₀₂₄ = 2,5 IF _{5-letni} = 2,823 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 70 |

Sumaryczny IF (z roku wydania publikacji) powyższych 9 prac wynosi: **39,757**
(średnio **4,414** na jedną pracę)

Sumaryczny IF (obecnie) powyższych 9 prac wynosi: **45,100**
(średnio **5,011** na jedną pracę)

Sumaryczny 5-letni IF powyższych 9 prac wynosi: **45,532**
(średnio **5,059** na jedną pracę)

Sumaryczna liczba punktów MEiN w oparciu o punkty na rok wydania publikacji
wynosi: **740**
(średnio **82,222** na jedną pracę)

Sumaryczna liczba punktów MEiN w oparciu o zaktualizowane dane z dnia
18.11.2024 r. wynosi: **920**
(średnio **102,222** na jedną pracę)

4.3. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników, opisanych w cyklu publikacji

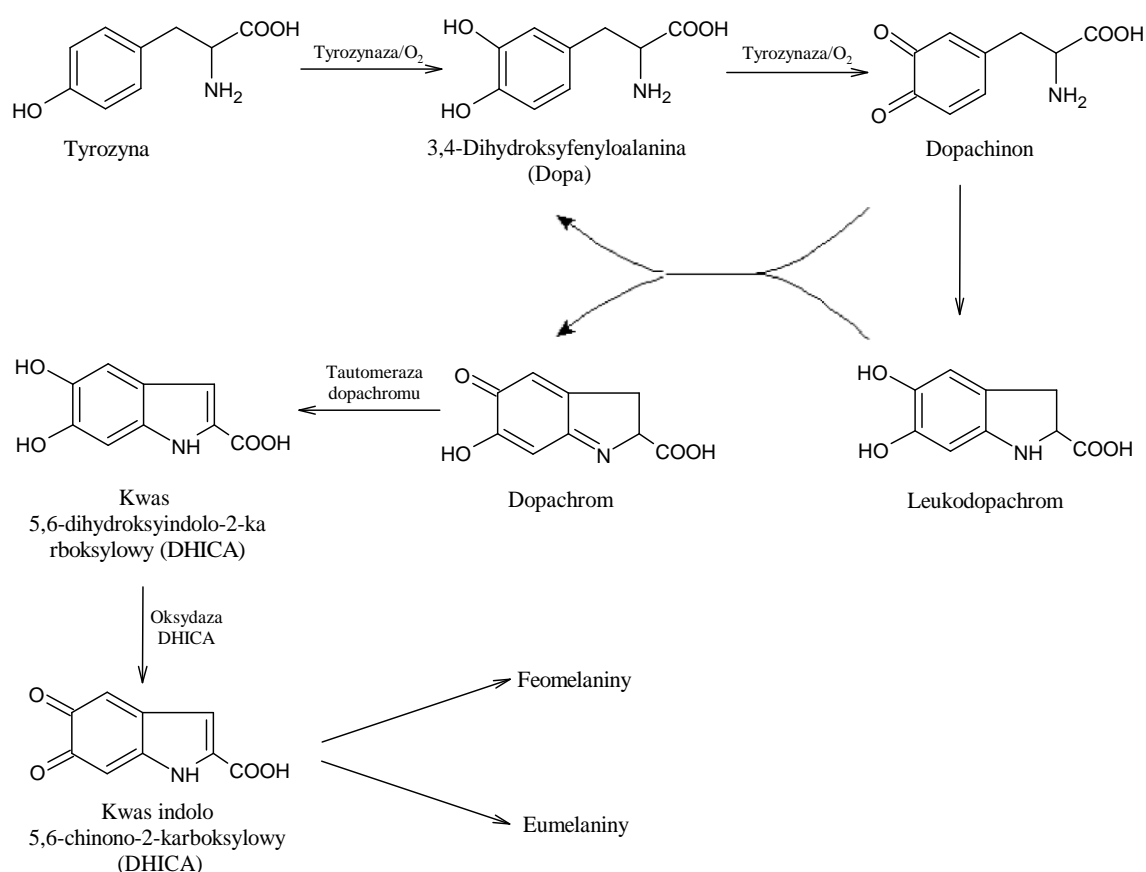
Wprowadzenie i omówienie celu naukowego

Wprowadzenie

Od momentu podjęcia pracy naukowej na Uniwersytecie Opolskim moje zainteresowania badawcze koncentrują się wokół tematyki związanej z działaniem enzymów, a w szczególności oksydoreduktaz.

Kiedy w 1998 roku ukończyłam studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Opolskiego ówczesny kierownik Zakładu Chemii Fizycznej i Biochemii dr hab. Korneliusz Nowak, prof. UO zaproponował mi pracę na etacie pracownika technicznego w tymże zakładzie. Już wtedy podjęłam pierwsze próby samodzielnych badań naukowych oraz rozpoczęłam trzysemestralne podyplomowe studia na kierunku Informatyka. W tym też czasie z powodzeniem aplikowałam do konkursu na stanowisko asystenta w Zakładzie Chemii Fizycznej i Biochemii na Wydziale Chemii UO. W roku 1999, kiedy zostałam zatrudniona na etacie asystenta, dr hab. Korneliusz Nowak, prof. UO wraz z prof. Pawłem Kafarskim zasugerowali mi, abym zajęła się badaniem właściwości tyrozynazy, kluczowego enzymu w procesie melanogenezy. Enzym ten, jako przedstawiciel oksydoreduktaz (1.14.18.1.) jest szeroko rozpowszechniony w przyrodzie i występuje prawie we wszystkich jednostkach systematycznych, począwszy od mikroorganizmów, a skończywszy na ssakach [1–6]. U ssaków występuje w melanocytach - wysoce wyspecjalizowanych komórkach zlokalizowanych w skórze, cebulkach włosów oraz oczach, w których wytwarzane są melaniny. Te końcowe produkty szlaku melanizacji odpowiedzialne są za ubarwienie zwierząt i chronią organizm przed szkodliwym promieniowaniem UV [7,8]. U owadów tyrozynaza uczestniczy w procesie sklerotyzacji (twardnienie naskórka). Odpowiedzialna jest też za niepożądane ciemnienie owoców i warzyw oraz brązowienie grzybów, co może być powodem strat ekonomicznych w przechowywalnictwie żywności [6,9].

Tyrozynaza katalizuje dwie pierwsze reakcje szlaku melanizacji, a mianowicie hydroksylację monofenoli (tyrozyny) do *o*-difenoli (3,4-dihydroksyfenyloalaniny, L-dopy) oraz utlenianie *o*-difenoli do *o*-chinonów. Powstały dopachinon w wyniku szeregu nieenzymatycznych reakcji zostaje przekształcony do dopachromu, a następnie do melanin: żółtobrązowych feomelanin i brązowo-czarnych eumelanin (**Rysunek 1**) [1]. Tyrozynaza ssaków wykazuje dużą specyficzność substratową, preferencyjnie utlenia L-tyrozinę i L-dopę. W badaniach modelowych stosuje się enzym grzybowy z pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*), który utlenia szeroką gamę fenoli i *o*-difenoli [10]. Jego substratami mogą być także aromatyczne aminy i aminofenole [11].



Rysunek 1. Początkowe reakcje szlaku melanizacji [9].

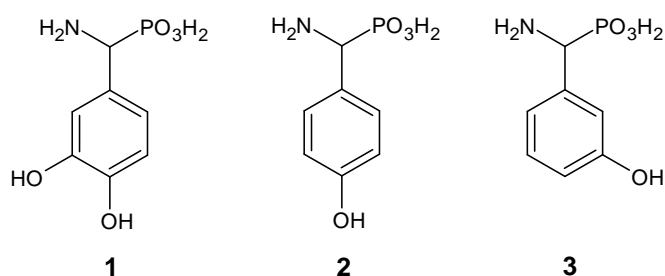
Tyrozynaza jest białkiem miedziowym posiadającym w swoim centrum aktywnym diamagnetyczny kompleks dwóch jonów miedzi, z których każdy połączony jest z białkiem poprzez atomy azotu pierścieni imidazolowych trzech histydyn. Centrum katalityczne tego enzymu występuje w trzech formach: *met*, *oksy* i *deoksy* [9,12,13]. Forma *met* (met-tyrozynaza, E_{met}), zawiera dwa jony miedzi na II stopniu utlenienia połączone ze sobą ligandem mostkowym, którym jest najczęściej grupa wodorotlenkowa (Cu(II) – Cu(II)). Forma *deoksy* (deoksy-tyrozynaza, E_{deoksy}) zawiera jony miedzi na I stopniu utleniania (Cu(I) – Cu(I)) i jest zdolna przyłączać tlen. Forma *oksy* (oksy-tyrozynaza, E_{oksy}), podobnie jak forma E_{met} zawiera dwa jony miedzi na II stopniu utlenienia (Cu(II) - O₂²⁻ - Cu(II)) i jako jedyna jest zdolna katalizować dwie reakcje: hydroksylowanie monofenoli do *o*-difenoli oraz utlenianie *o*-difenoli do *o*-chinonów [9–11,14,15].

W mojej pracy badawczej najczęściej wykorzystywałam i wykorzystuję komercyjną tyrozynazę grzybową, kupowaną w firmie Merck (dawniej Sigma-Aldrich). Jeśli enzym jest potrzebny w dużych ilościach i jego zakup jest zbyt kosztowny, izoluję go samodzielnie

z pieczarek, które kupuję u lokalnego producenta. W tym celu opracowałam metodę otrzymywania i oczyszczania tyrozynazy modyfikując opisane w literaturze procedury izolacji tego enzymu [16,17]. Składa się ona z pięciu etapów: wytrącania acetonem, wytrącania siarczanem(VI) amonu, chromatografii na trzech kolumnach: DEAE-Sepharose, Phenyl-Sepharose i Sephadex G-25. Metoda ta pozwala na otrzymanie preparatu enzymatycznego jednorodnego elektroforetycznie o specyficznej aktywności ok. 5000 U/mg i o czystości lepszej niż preparaty komercyjne. Opracowaną metodę opublikowałam w 2004 roku (**D3**) [18]. Umiejętnością izolacji i oczyszczania tyrozynazy często dzieliłam się z magistrantami, doktorantami oraz naukowcami z innych jednostek.

Ze względu na potrzeby przemysłu kosmetycznego i rolno-spożywczego (przechowalnictwo produktów rolnych) ciągle trwają poszukiwania inhibitorów tyrozynazy, które stanowią atrakcyjną tematykę badań o dużym potencjale aplikacyjnym.

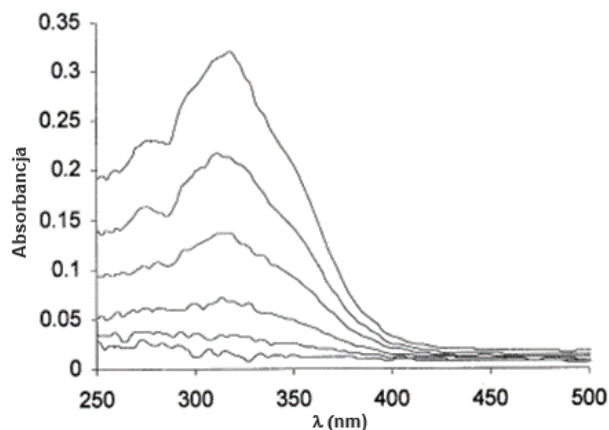
Moje pierwsze badania prowadziłam w ramach grantu „Projektowanie, synteza i badanie aktywności przyjaznych dla środowiska herbicydów” (PBZ/KBN/060/T09/2001), temat „Poszukiwanie inhibitorów tyrozynazy i analiza mechanizmu ich działania”. Obejmowały one zbadanie wpływu trzech fosfonowych analogów fenyloglicyny opisanych wcześniej jako inhibitory tyrozynazy [19]: kwasu amino-(3,4-dihydroksyfenylo)metanofosfonowego, kwasu amino-(3-hydroksyfenylo)metanofosfonowego oraz kwasu amino-(4-hydroksyfenylo)metanofosfonowego (**Rysunek 2**).



Rysunek 2. Związki fosfonowe zbadane jako inhibitory tyrozynazy: kwas amino-(3,4-dihydroksyfenylo)metanofosfonowy (**1**), kwas amino-(3-hydroksyfenylo)metanofosfonowy (**2**), kwas amino-(4-hydroksyfenylo)metanofosfonowy (**3**) (**D1**) [20].

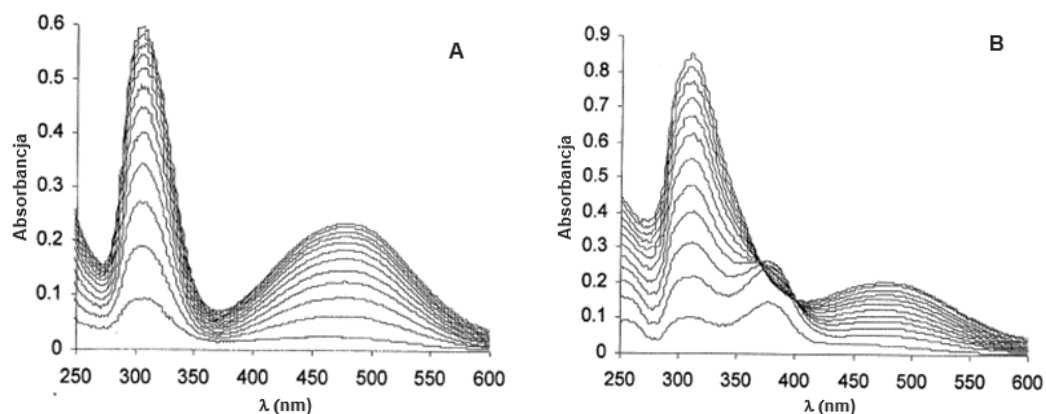
Te fosfonowe związki zostały zsyntezowane w Instytucie Chemii Organicznej, Biochemii i Biotechnologii Politechniki Wrocławskiej. Pod kierunkiem doktorów Huberta Wojtaska oraz Józefa Hurka przeprowadziłam dokładną analizę spektrofotometryczną i elektrochemiczną reakcji utleniania naturalnych substratów tyrozynazy (L-tyrozyny i L-dopy)

w obecności tych trzech związków. W trakcie wykonywania pomiarów spektrofotometrycznych zaobserwowałam zmiany widm UV/Vis tylko dla reakcji utleniania enzymatycznego kwasu amino-(3,4-dihydroksyfenylo)metanofosfonowy (**Rysunek 3**). Dla dwóch pozostałych związków nie obserwowałam żadnych zmian nawet po upływie 24 godzin.



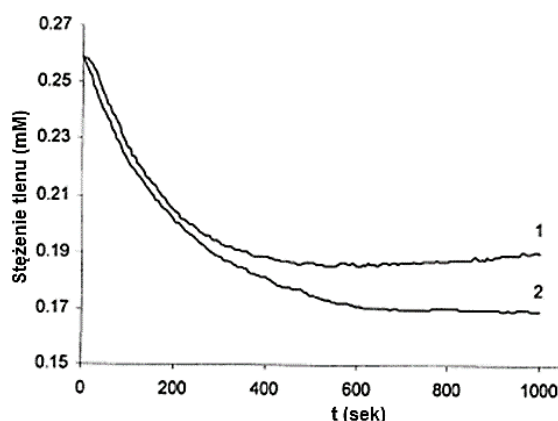
Rysunek 3. Zmiany widm UV/Vis podczas utleniania kwasu amino-(3,4-dihydroksyfenylo)metanofosfonowego przez tyrozinazę (**D1**) [20].

W dalszej części określiłam parametry kinetyczne (K_M i V_{max}) dla tego związku ($K_M = 0,52 \pm 0,10$ mM i $V_{max} = 0,386 \pm 0,058$ $\mu\text{mol}/\text{min}$) i po porównaniu ich z parametrami kinetycznymi dla L-dopy ($K_M = 0,37 \pm 0,08$ mM i $V_{max} = 1,64 \pm 0,35$ $\mu\text{mol}/\text{min}$) okazało się, że jest on utleniany przez tyrozinazę wolniej niż 3,4-dihydroksyfenyloalanina, a powstające pasmo przy 320 nm może odpowiadać 3,4-dihydroksybenzaldehydowi zidentyfikowanemu wcześniej jako produkt utleniania 3,4-dihydroksyfenyloglicyny [21] i kwasu 3,4-dihydroksymigdałowego [22–27]. Wartości K_M wskazywały, że nie może on skutecznie konkurować z L-dopą o centrum aktywne. Poszukując innych mechanizmów inhibicji tyrozinazy przez kwas amino-(3,4-dihydroksyfenylo)metanofosfonowy zarejestrowałam widma UV/Vis w czasie dla reakcji mieszaniny tego związku z L-dopą. Na otrzymanych widmach zaobserwowałam, że w początkowej fazie reakcji pojawia się produkt wykazujący maksimum absorpcji przy 390 nm, czyli w rejonie charakterystycznym dla *o*-chinonów. W późniejszej fazie następował znacznie wolniejszy przyrost absorbancji przy 475 nm (pasmo absorpcji dopachromu w zakresie widzialnym), a przyspieszony wzrost absorbancji przy 320 nm (obszarze w którym nakładają się pasma absorpcji dopachromu i 3,4-dihydroksybenzaldehydu) (**Rysunek 4**).



Rysunek 4. Zmiany widm UV/Vis podczas utleniania L-dopy (A) oraz mieszaniny kwasu amino-(3,4-dihydroksyfenylo)metanofosfonowego z L-dopą (B) przez tyrozynazę (**D1**) [20].

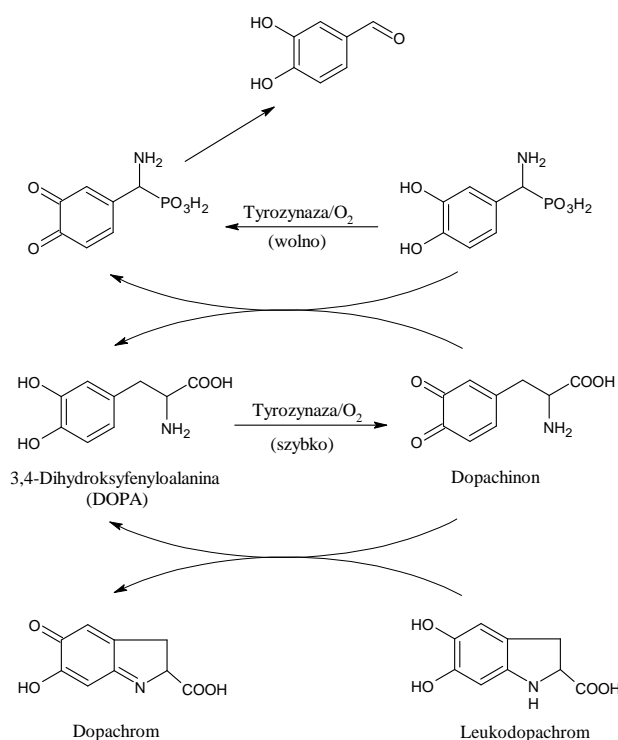
Wyniki te sugerowały, że w przypadku utleniania przez tyrozynazę mieszaniny L-dopy i kwasu amino-(3,4-dihydroksyfenylo)metanofosfonowego dochodzi do utlenienia związku fosfonowego przez dopachinon, który redukuje się do L-dopy. L-dopa jest więc w tej reakcji przenośnikiem elektronów pomiędzy związkiem fosfonowym i enzymem. Aby zbadać rzeczywisty efekt inhibitorowy związku przeprowadziłam pomiary zużycia tlenu dla reakcji utleniania L-dopy i jej mieszaniny z badanym związkiem. Wyniki tego eksperymentu wykazały, że związek ten nie wykazuje praktycznie żadnych właściwości inhibitorowych (**Rysunek 5**).



Rysunek 5. Zużycie tlenu podczas utleniania L-dopy (1) oraz mieszaniny L-dopy z kwasem amino-(3,4-dihydroksyfenylo)metanofosfonowym (2) przez tyrozynazę (**D1**) [20].

Wykonane przeze mnie analizy pokazały, że silna inhibicja tyrozynazy przez kwas amino-(3,4-dihydroksyfenylo)metanofosfonowy, opisana w roku 1987 [19] jest pozorna, a wyznaczone wcześniej stałe inhibicji obliczone na podstawie tylko pomiarów spektrofotometrycznych były obarczone błędem.

W analizie reakcji katalizowanych przez tyrozynazę najczęściej wykorzystuje się pomiary spektrofotometryczne stężenia dopachromu (maksimum absorpcji wynosi 475 nm), który nie jest produktem reakcji enzymatycznej, ale powstaje z dopachinonu - bezpośredniego produktu tej reakcji w wyniku nieenzymatycznej cyklizacji (do leukodopachromu) i utlenienia. Obie te reakcje są bardzo wrażliwe na działanie czynników nukleofilowych i redukujących. Zarówno silne nukleofile, jak i związki redukujące mogą utrudniać powstawanie produktu - dopachromu, powodując, że przyrost absorbancji w obszarze 475 nm jest niewielki, co w reakcjach spektrofotometrycznych można błędnie interpretować jako silny efekt inhibicji. W przypadku fosfonowych analogów aromatycznych okazało się, że kwas amino-(3,4-dihydroksyfenilo)metanofosfonowy redukuje dopachinon utleniając się do odpowiedniego chinonu, który rozpadał się następnie do 3,4-dihydroksybenzaldehydu (**Rysunek 6**). Pochodne monofenolowe - kwas amino-(3-hydroksyfenilo)metanofosfonowy i kwas amino-(4-hydroksyfenilo)metanofosfonowy, nie ulegały tym reakcjom, a więc w ich przypadku nie obserwowano efektu inhibicji [19].

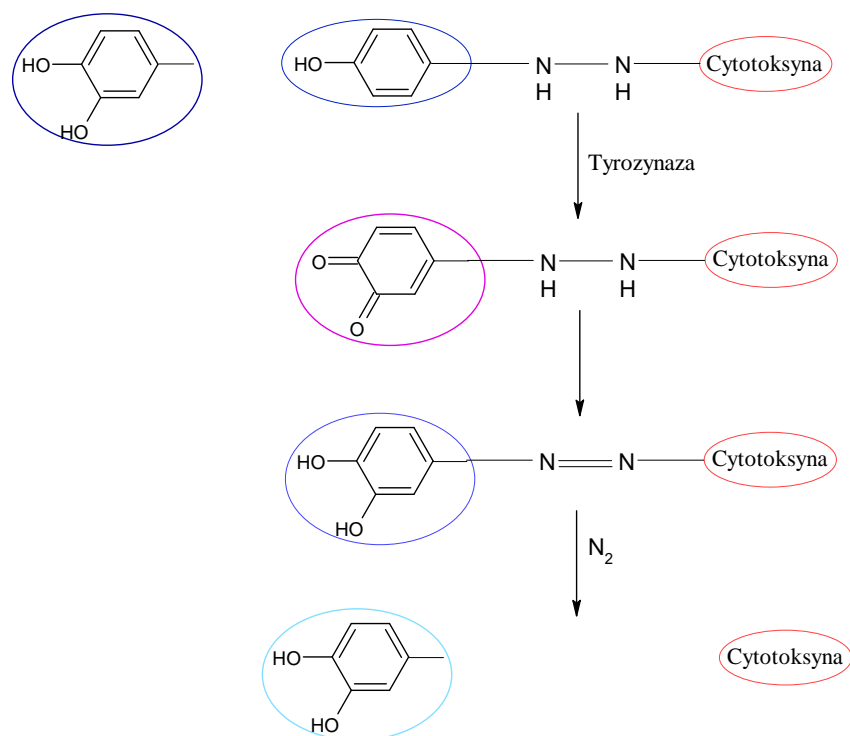


Rysunek 6. Reakcje zachodzące w czasie utleniania mieszaniny kwasu amino-(3,4-dihydroksyfenilo)metanofosfonowego z L-dopą przez tyrozynazę (**D1**) [20].

Badania nad związkami fosfonowymi oraz wykazanie „pozornej inhibicji” w stosunku do tyrozynazy były inspiracją do mojej dalszej pracy naukowej. Utwierdziły mnie również w przekonaniu, że aby być pewnym wyników, nie mogę opierać się tylko i wyłącznie na jednej metodzie pomiarowej. W swojej dalszej pracy łączyłam więc w badaniach katalizowanych przez oksydoreduktazy metody spektrofotometryczne, elektrochemiczne i chromatograficzne.

U ssaków tyrozynaza występuje w melanocytach, wysoce wyspecjalizowanych komórkach zlokalizowanych w skórze, cebulkach włosów oraz oczach, wytwarzających melaniny [28,29]. Transformacja nowotworowa tych komórek może prowadzić do czerniaka złośliwego [30,31]. Nowotwór ten jest najbardziej agresywnym nowotworem skóry, a jego występowanie związane jest między innymi z dużą ekspozycją na promieniowanie UV. Dlatego też już od dawna rozważano zastosowanie tyrozynazy, enzymu specyficznego dla melanocytów, do aktywacji proleków przeciwko czerniakowi [32]. Koncepcja selektywnego uwalniania środków cytotoksycznych aktywowanych tyrozynazą została opracowana w latach 90-tych ubiegłego wieku i nazwana enzymatyczną terapią prolekową ukierunkowaną na melanocyty (MDEPT) [33]. Sama idea proleków polega na maskowaniu aktywności terapeutycznej poprzez przyłączenia dodatkowego fragmentu, który zostaje uwolniony w procesie aktywacji w tkankach docelowych. Najczęściej czynnikami aktywującymi są specyficzne enzymy. Początkowo środki cytotoksyczne były przyłączane do pierwszorzędowej grupy aminowej substratów tyrozynazy, a mianowicie tyrozyny, dopaminy oraz związków pokrewnych za pomocą łączników karbaminianowych lub mocznikowych [33–35]. Późniejsze badania pochodnych tyraminy i dopaminy wykazały jednak, że konwersja grupy aminowej do pochodnych amidowych, karbaminianowych i mocznikowych powoduje, że atom azotu jest niewystarczająco nukleofilowy do cyklizacji odpowiednich *o*-chinonów do dihydroksydihydroindoli i dlatego uwolnienie grupy aktywnej jest mało prawdopodobne [36].

W swoich badaniach z roku 2006 i 2008 wykazałam, że grupa hydrazynowa w fenylohydrazydach aminokwasów (**P1**) [37] oraz w prokarbazynie (**P2**) [38] może zostać utleniona przez *o*-chinony, czyli pośrednio przez tyrozynazę. Uznałam, że tę reakcję redoks można wykorzystać do aktywacji proleków przeciwko czerniakowi zawierających łącznik hydrazynowy (*Rysunek 7*).



Rysunek 7. Schemat aktywacji przez tyrozynazę proleku z łącznikiem hydrazynowym .

Cele

Jak już wyżej wspomniałam w badaniach reakcji enzymatycznych najczęściej wykorzystuje się pomiary spektrofotometryczne, które są podatne na zakłócenia. Dlatego w reakcjach katalizowanych przez oksydoreduktazy wskazane jest poszerzenie metod pomiarowych o techniki elektrochemiczne i chromatograficzne.

Szczegółowe cele, rozpatrywane w publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego obejmowały:

1. Syntezę i analizę aktywności potencjalnych proleku przeciwko czerniakowi opartych na łączniku hydrazynowym. Zaproponowane proleki składały się z aktywatora (ugrupowania fenolowego utlenianego przez tyrozynazę), efektora w postaci leku przeciwnowotworowego (np. iperytu azotowego) i łącznika hydrazynowego. Zsyntezowanym prolekiem była pochodna iperytu azotowego *N*-{4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-*N'*-(4-hydroksybenzylo)hydrazyna, dla którego przeprowadzono enzymatyczne utlenianie tyrozynazą i zidentyfikowano produkty tej reakcji (**H1**).
2. Wpływ flawonoidów o różnej strukturze na reakcje katalizowane przez tyrozynazę. Porównanie pomiarów spektrofotometrycznych i zużycia tlenu pozwoliło wykazać, że

większość badanych związków z tej grupy nie jest inhibitorami tego enzymu, a jedynie redukuje dopachinon (**H2, H6 i H9**).

3. Wpływ karbidopy i innych katecholi na aktywność mieloperoksydazy i laktoperoksydazy (ssacze peroksydazy) oraz peroksydazy chrzanowej. Wszystkie przebadane katechole hamowały powstawanie chromoforów w trzech różnych układach substratów redukując produkty końcowe/pośrednie tych reakcji (**H3**).
4. Wpływ *p*-difenoli na reakcję Trindera (utlenianie fenolu i 4-aminoantypiryny przez peroksydazę chrzanową) powszechnie stosowaną w enzymatycznych testach diagnostycznych. Wiele leków i związków naturalnych może wpływać na końcowy wynik pomiaru stężenia analitu, a błędny wynik może skutkować wdrożeniem nieodpowiedniego leczenia (**H4 i H5**).
5. Wpływ 6-*n*-propylo-2-tiouracylu, metimazolu i jego selenowych analogów na utlenianie ABTS przez laktoperoksydazę i peroksydazę chrzanową. Wyniki badań tych związków potwierdziły, że redukują one kationorodnik ABTS, ale nie hamują szybkości reakcji enzymatycznej. Wręcz przeciwnie - powodują umiarkowane zwiększenie szybkości tych reakcji utrzymując stężenie ABTS na wyjściowym poziomie do momentu ich wyczerpania (**H7**).
6. Wpływ kwasu acetylosalicylowego, jednego z niesteroidowych leków przeciwzapalnych, na aktywność mieloperoksydazy, enzymu którego zwiększona aktywność w organizmie odpowiedzialna jest między innymi za powstawanie chorób układu nerwowego, cukrzycy, miażdżycy, depresji czy niektórych nowotworów. Wyniki przeprowadzonych badań jednoznacznie wykazały, że kwas acetylosalicylowy hamował przebieg reakcji, a tym samym wpływał na zmniejszenie aktywności MPO (**H8**).

Efektom prac ujętych w cyklu jest **dziewięć** publikacji w czasopismach naukowych (**prace H1 - H9**). W większości są to prace wieloautorskie w tym, w pięciu z nich jestem pierwszym autorem a w pozostałych czterech plasuję się na drugim miejscu z tego w dwóch poprzedza mnie doktorant, którego byłam promotorem pomocniczym (prace H4 i H5, z kolei jednej publikacji jestem autorem korespondencyjnym), mój udział w tych pracach został określony w tabeli w **Załączniku 4**.

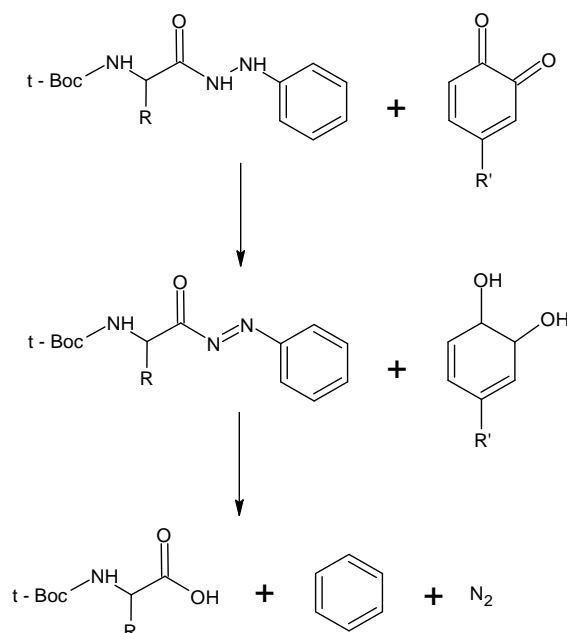
Opis wyników badań

Analiza aktywności potencjalnych proleków przeciwko czerniakowi opartych na łączniku hydrazynowym (H1)

W literaturze opisanych jest wiele przykładów związków utlenianych przez tyrozynazę, których struktura znacznie odbiega od jej naturalnych substratów. Mechanizm tych reakcji jest zwykle nieznan. Jedną z takich reakcji jest utlenianie hydrazydów aminokwasów, która została wykorzystana w syntezie peptydów, jednak jej wydajność okazała się bardzo niska.

Hydrazydy występują powszechnie w naturze i jak wszystkie pochodne hydrazyny wykazują umiarkowane właściwości mutagenne. Najpospolitszym, naturalnie występującym hydrazidem jest agarytyna (5-[2-(4-hydroksymetylo)fenylo]hydrazid kwasu L-glutaminowego), która występuje w wielu gatunkach grzybów, między innymi w pieczarce (*Agaricus*) [39]. Uwagę na ten związek oraz inne pochodne hydrazyny obecne w pieczarce, takie jak 4-(hydroksymetylo)fenylohydrazynę i kwas 4-hydrazynobenzoesowy, zwróciły badania Totha i jego współpracowników, którzy wykazali, że długotrwałe karmienie myszy tymi grzybami wywołuje u nich nowotwory przewodu pokarmowego, wątroby i płuc [40]. Metabolizm agarytyny przez ekstrakty tkankowe ssaków był intensywnie badany, ale ani ostatecznych metabolitów, ani ścieżek rozpadu nie udało się ustalić [41,42]. W 1998 roku Toth i jego współpracownicy stwierdzili, że agarytyna jest inhibitorem tyrozynazy, natomiast rok później ci sami naukowcy wykazali, że hamuje ona tylko powstawanie melanin, które jest inicjowane przez tyrozynazę [43,44]. W obu przypadkach efekt inhibicji był najprawdopodobniej również pozorny, wynikający z redukcji dopachinonu przez pochodne hydrazyny, a nie z bezpośredniego wpływu tych związków na aktywność enzymu. Postanowiłam zatem sprawdzić czy pochodne hydrazyny również mają zdolność redukcji wygenerowanych przez tyrozynazę *o*-chinonów. Ponieważ w pracy naukowej nie zajmuję się syntezą dlatego też poprosiłam o zsyntezowanie hydrazydów aminokwasów dr Bożenę Frąckowiak-Wojtasek z Zakładu Biochemii UO. Swoje badania rozpoczęłam od przeprowadzenia reakcji tych związków z 4-*tert*-butylo-*o*-benzochinonem, wygenerowanym podczas enzymatycznego utleniania 4-*tert*-butylokatecholu. Powstający chinon jest odporny na działanie czynników nukleofilowych, takich jak cząsteczka wody. Jak się okazało obecność hydrazydów opóźniała pojawienie się 4-*tert*-butylo-*o*-benzochinonu, ale ostatecznie nie wpływała znacząco na stężenie tego produktu. Zarówno analizy spektrofotometryczne, jak i pomiary zużycia tlenu jednoznacznie wskazywały na pośrednie utlenianie hydrazydów przez chinony. Wykonane pomiary w mieszaninie zawierającej tyrozynazę, katechol oraz syntetyczny hydrazid aminokwasów pozwoliły wnioskować, że w tym układzie dochodzi do

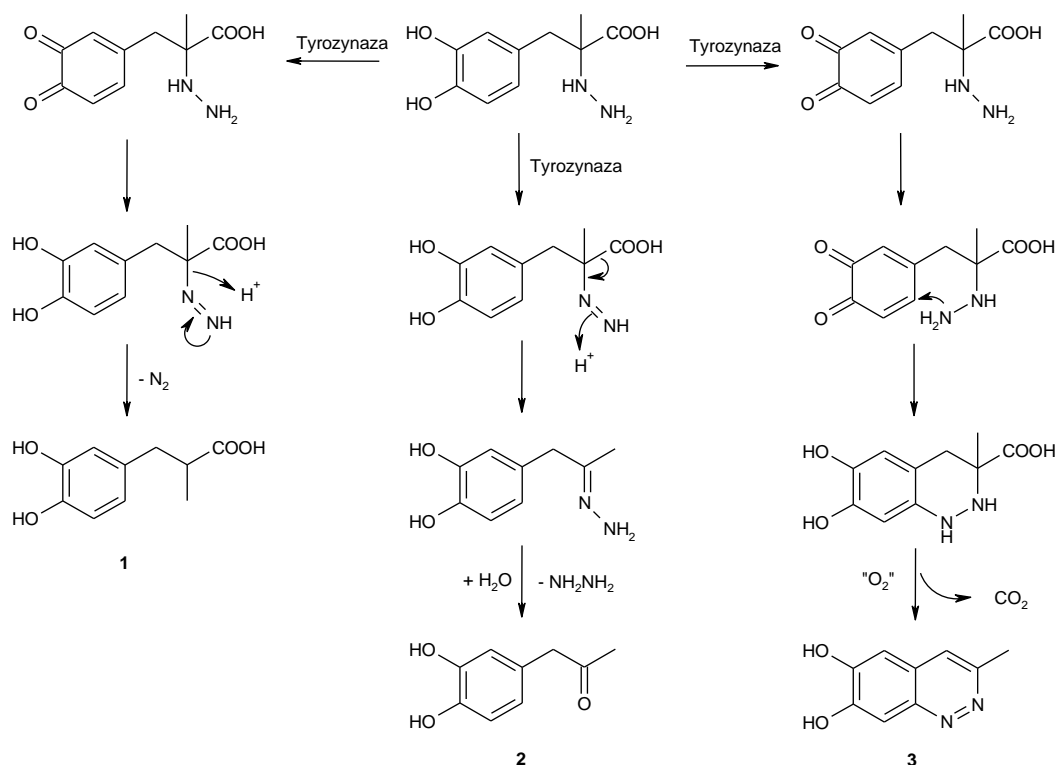
utleniania ugrupowania hydrazynowego, a nie do jego przyłączenia do cząsteczki *o*-chinonu. W pomiarach zużycia tlenu zaobserwowałam, że chociaż obecność katecholu lub fenolu znacznie zwiększała szybkość reakcji utleniania hydrazydów, jednak ubytek tlenu w roztworze następował także w nieobecności tych przenośników elektronów. W układzie tym nie dochodzi więc do addycji Michael'a pomiędzy hydrazynowym atomem azotu hydrazydu a *o*-chinonem ale do reakcji utleniania-redukcji pomiędzy tymi związkami (**Rysunek 8**). Reakcje analogiczne jak dla hydrazydów aminokwasów wykonałam także dla prokarbazyny, leku przeciwnowotworowego zawierającego ugrupowanie hydrazynowe. Wyniki pomiarów zużycia tlenu i pomiarów spektrofotometrycznych były identyczne jak dla hydrazydów. Reakcje utleniania pochodnych hydrazyny przez chinony do niestabilnych związków azowych stwarzają zatem unikalną możliwość zaprojektowania proleków przeciwko czerniakowi, aktywowanych preferencyjnie przez tyrozynazę w melanocytach.



Rysunek 8. Reakcje redoks zachodzące pomiędzy hydrazydami aminokwasów a chinonami (**P1**) [37].

Przed zaprojektowaniem docelowych związków najpierw zweryfikowałam zakładaną koncepcję z lekiem stosowanym w chorobie Parkinsona - karbidopą, zawierającym zarówno ugrupowanie katecholowe, jak i hydrazynowe. W wyniku działania tyrozynazy na ten związek fragment katecholowy ulegał utlenieniu do *o*-chinonu, który w następstwie kolejnych reakcji ulegał reakcji redoks z grupą hydrazyny lub ulegał reakcji cyklizacji. W wyniku tego procesu otrzymałam mieszaninę produktów powstałych poprzez utlenienie, a następnie usunięcie

ugrupowania hydrazynowego - kwas 3-(3,4-dihydroksyfenilo)-2-metylopropanowy i dihydroksyfenyloaceton oraz cykliczną 5,6-dihydroksy-3-metylocinolinę która powstawała w wyniku ataku nukleofilowego grupy hydrazynowej w łańcuchu bocznym na wytworzony enzymatycznie *o*-chinon. Uzyskany po cyklizacji produkt ulegał dodatkowym reakcjom prowadzącym do jego aromatyzacji (**Rysunek 9**) (**P3**) [45]

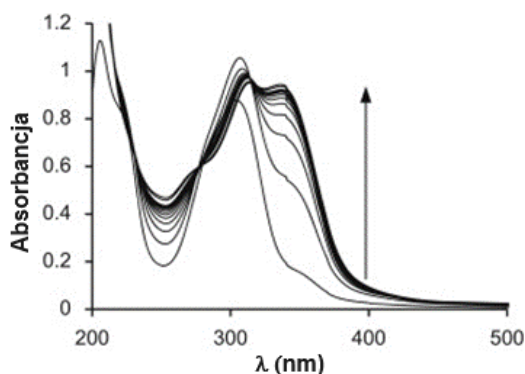


Rysunek 9. Reakcje zachodzące w czasie utleniania karbidopy przez tyrozynazę prowadzące do powstania kwasu 3-(3,4-dihydroksyfenilo)-2-metylopropanowego (**1**), 3,4-dihydroksyfenyloacetonu (**2**) i 5,6-dihydroksy-3-metylocinolinę (**3**) (**P3**) [45]

Ta reakcja cyklizacji *o*-chinonów z grupą hydrazynową w łańcuchu bocznym jest reakcją niepożądaną z punktu widzenia działania potencjalnych proleków przeciw czerniakowi. Może ona zmniejszać wydajność uwalniania efektorów w przypadku dialkylhydrazyn. Dlatego też postanowiliśmy przygotować wyłącznie acylowane pochodne hydrazyny. Dr inż. Bożena Frąckowiak-Wojtasek zaprojektowała i razem ze swoimi magistrantkami (Agnieszka Raniszewska i Magdaleną (Mazurek) Sznabel) zsyntezowała pochodną iperytu azowego – *N*-{4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-*N'*-(4-hydroksybenzylo)hydrazynę. Wraz z przebywającą wówczas w Zakładzie Biochemii studentką z Belgii, Marieke Logghe przeprowadziłam reakcję utleniania tego proleku przez tyrozynazę. W analizie HPLC mieszanin reakcyjnych zaobserwowałam obecność dwóch produktów. Proporcje pomiędzy

nimi różniły się w zależności od czasu trwania reakcji, stężenia substratu oraz stosunku substratu do enzymu.

Analiza przebiegu reakcji w czasie pokazała, że jeden z produktów ostatecznie ulegał przemianom w drugi, którego widmo UV–Vis było bardzo zbliżone do widma mieszaniny reakcyjnej, z maksimum absorpcji przy 337 nm (**Rysunek 9'**).

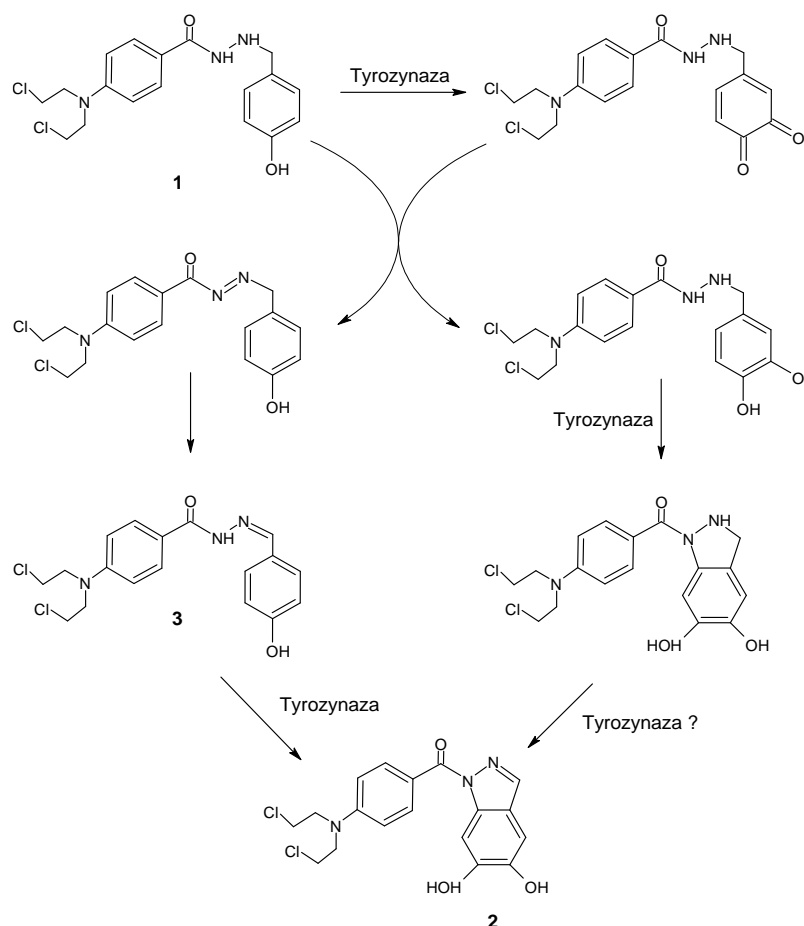


Rysunek 9'. Widma UV–Vis mieszaniny reakcyjnej zawierającej 50 μM *N*-{4-[*bis*-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-*N'*-(4-hydroksybenzylo)hydrazynę i 2,5 μg tyrozynazy w 3 ml 10 mM buforu fosforanowego o pH 6,8. Widma były rejestrowane przez 20 minut w odstępach co 2 min (**H1**) [46].

Wyizolowałam oba związki metodą ekstrakcji i chromatografii kolumnowej, a następnie dr inż. Bożena Frąckowiak-Wojtasek ustaliła ich strukturę za pomocą spektroskopii NMR i wysoko rozdzielczej spektroskopii masowej. Produktem końcowym okazał się 4-[*bis*-(2-chloroetylo)amino]benzoesan 5,6-dihydroksy-*1H*-indazol-1-ilu, powstały w wyniku ataku nukleofilowego zacylowanego atomu azotu łącznika hydrazynowego na wytworzony enzymatycznie *o*-chinon. Produkt przejściowy został natomiast zidentyfikowany jako *N*-{4-[*bis*-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-*N'*-(4-hydroksybenzylideno)hydrazyna, powstająca najprawdopodobniej w wyniku międzycząsteczkowej reakcji redoks pomiędzy *o*-chinonem i grupą hydrazynową cząsteczki substratu, a następnie tautomeryzacji powstałego diazenu do hydrazonu (**Rysunek 10**).

Wynik ten był zaskakujący, ponieważ spodziewałam się, że zacylowanie atomu azotu łącznika hydrazynowego wystarczająco obniży jego nukleofilowość, aby zapobiec cyklizacji. Reakcja cyklizacji jest oczywiście niepożądana, ponieważ zapobiega uwalnianiu efektora z proleku utlenionego przez enzym. W mieszaninie reakcyjnej nie wykryliśmy uwolnionego leku przeciwnowotworowego – kwasu 4-[*bis*-(2-chloroetylo)amino]benzoesowego za pomocą analizy TLC, HPLC lub MS. Zachodzące reakcje okazały się więc zupełnie różne od tych, które przewidywaliśmy. Dzięki współpracy z dr hab. Tomaszem Cichonim i dr Ryszardem Smolarczykiem z zespołu prof. Stanisława Szali z Instytutu Onkologii w Gliwicach zostały

przeprowadzone badania aktywności przeciwnowotworowej przez nas zsyntezowanego proleku (*N*-{4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-*N'*-(4-hydroksybenzylo)hydrazyny), ale, jak się należało spodziewać na podstawie wyników reakcji enzymatycznych, nie była ona imponująca.



Rysunek 10. Reakcje zachodzące podczas utleniania potencjalnego proleku przeciwko czerniakowi, *N*-{4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-*N'*-(4-hydroksybenzylo)hydrazyny (1), przez tyrozinazę zaproponowane w oparciu o zidentyfikowane produkty: 4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoesan 5,6-dihydroksy-1H-indazol-1-ilu (2) i *N*-{4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-*N'*-(4-hydroksybenzylieno)hydrazynę (3) (H1) [46].

Wpływ flawonoidów na reakcje katalizowane przez tyrozinazę (H2, H6 i H9).

W literaturze opisano wpływ wielu związków o właściwościach redukujących, takich jak pochodne hydrazyny, aromatyczne *p*-fenole czy naturalne polifenole, takie jak flawonoidy czy pochodne kwasu gallusowego, na reakcje katalizowane przez tyrozinazę.

Flawonoidy stanowią dużą grupę naturalnych związków o zmiennej strukturze fenolowej, są szeroko rozpowszechnione - występują między innymi w owocach, warzywach, winie czy herbacie. Te naturalne produkty są znane ze swojego korzystnego wpływu na zdrowie

i przypisuje się im właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwmutagenne czy przeciwnowotworowe [47,48]. Wiele flawonoidów zostało również opisanych jako inhibitory oksydazy ksantynowej (XO), cyklooksygenazy (COX) czy tyrozynazy [48,49].

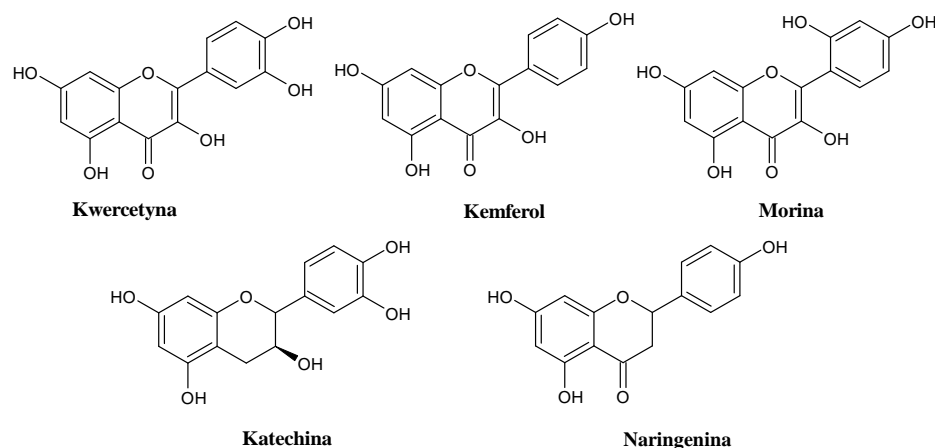
Badania nad interakcją flawonoidów z tyrozynazą zostały zapoczątkowane w latach 90-tych XX wieku. Wtedy to wykazano, że kwercetyna, kemferol, luteoina oraz kilka ich pochodnych wyizolowanych z amerykańskich roślin silnie hamują aktywność tego enzymu [50,51]. Dla dwóch z tych związków, a mianowicie kwercetyny i kemferolu przeprowadzono szczegółową analizę kinetyczną tego hamowania [52–54]. W dalszych badaniach wykazano jednak że kwercetyna jest substratem tyrozynazy [55,56], który utlenia się do odpowiedniego *o*-chinonu, a produkt jego izomeryzacji (*p*-metydo chinon), w obecności cząsteczki wody daje trwałą pochodną kwasu protokatechowego (2-(3,4-dihydroksybenzoilo)-2,4,6-trihydroksy-3(2*H*)-benzofuranon) [57].

Prawie wszystkie flawonoidy mają strukturę C₆-C₃-C₆ zawierającą dwa pierścienie benzenowe, A i B, połączone heterocyklicznym pierścieniem piranowym (C) [58]. Ponieważ flawonoidy są polifenolami i wiele z nich zawiera grupę katecholową, dlatego mogą być utlenione także przez tyrozynazę, co wykazano już w przypadku takich związków jak kwercetyna [55–57] czy morina [55]. Są także znanymi przeciwutleniaczami i tę właściwość określa się w standardowych reakcjach redoks, zwykle ze stabilnymi rodnikami, takimi jak DPPH• i ABTS⁺, często jednocześnie z badaniem ich aktywności hamującej tyrozynazę [59–61]. Ponieważ związki te łatwo redukują wolne rodniki, uznałam, że mogą również redukować *o*-chinony generowane przez tyrozynazę.

Zbadałam więc spektrofotometrycznie i mierząc zużycie tlenu wpływ pięciu wybranych flawonoidów na reakcje utleniania przez tyrozynazę jej naturalnych substratów (L-tyrozyny i L-dopy). Przeprowadziłam również ich reakcje z *o*-chinonami wygenerowanymi chemicznie. Wybierając związki do badań kierowałam się ich strukturą, która determinuje reakcje, jakim mogą one ulegać.

Kwercetyna, kemferol oraz morina przez to, że zawierają w swojej strukturze grupy fenolowe w pierścieniu B, które są sprzężone z grupą 3-OH w pierścieniu C mogą po ich utlenieniu tautomeryzować do odpowiednich metydochinonów i tworzyć pochodne kwasu protokatechowego. Takie produkty otrzymano po utlenieniu kwercetyny przez tyrozynazę [57] oraz wszystkich trzech związków z jonami Cu²⁺ [62]. Kwercetyna zawierając grupę katecholową w pierścieniu B może służyć jako *o*-difenolowy substrat tyrozynazy i może być utleniana zarówno przez formę *oksy*, jak i *met* tego enzymu. Kemferol zawiera monofenol w pierścieniu B, podczas gdy morina zawiera *m*-difenol w pierścieniu B. Oba te związki mogą

działać jedynie jako monofenolowe substraty tyrozynazy. Jednakże w obu związkach grupy fenolowe w pierścieniu B (4'-OH w kemferolu i moriny oraz 2'-OH w morinie) są sprzężone z grupą 3-OH. Katechyna i naringenina zawierają grupy fenolowe w pierścieniu B, ale albo nie są sprzężone z grupą 3-OH w pierścieniu C (katechyna), albo grupa 3-OH nie jest obecna (naringenina). Nie są zatem zdolne do tworzenia metydochinonów i ich utlenianie powinno ograniczać się do pierścienia B (**Rysunek 11**).

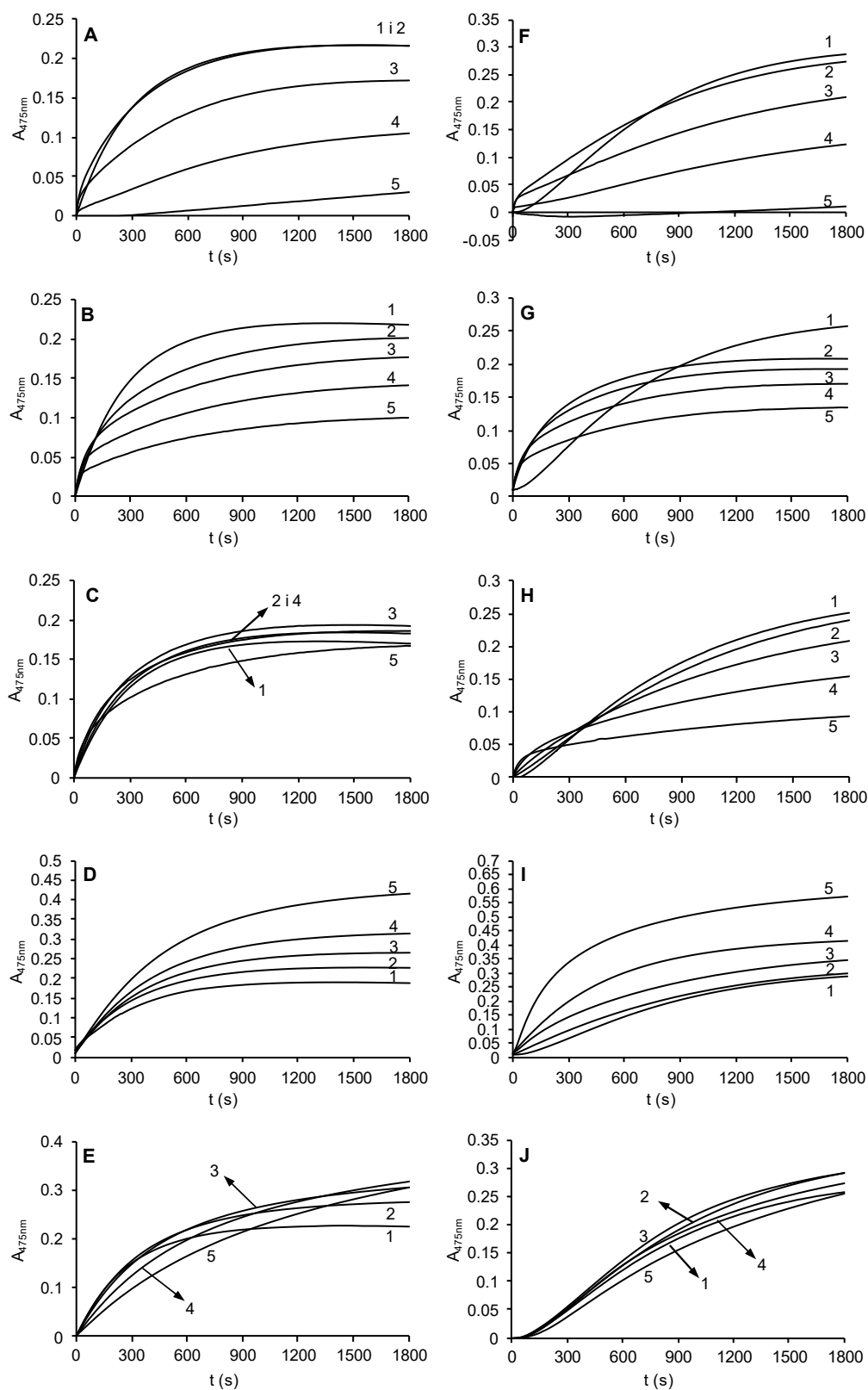


Rysunek 11. Struktury badanych flawonoidów (**H2**) [63].

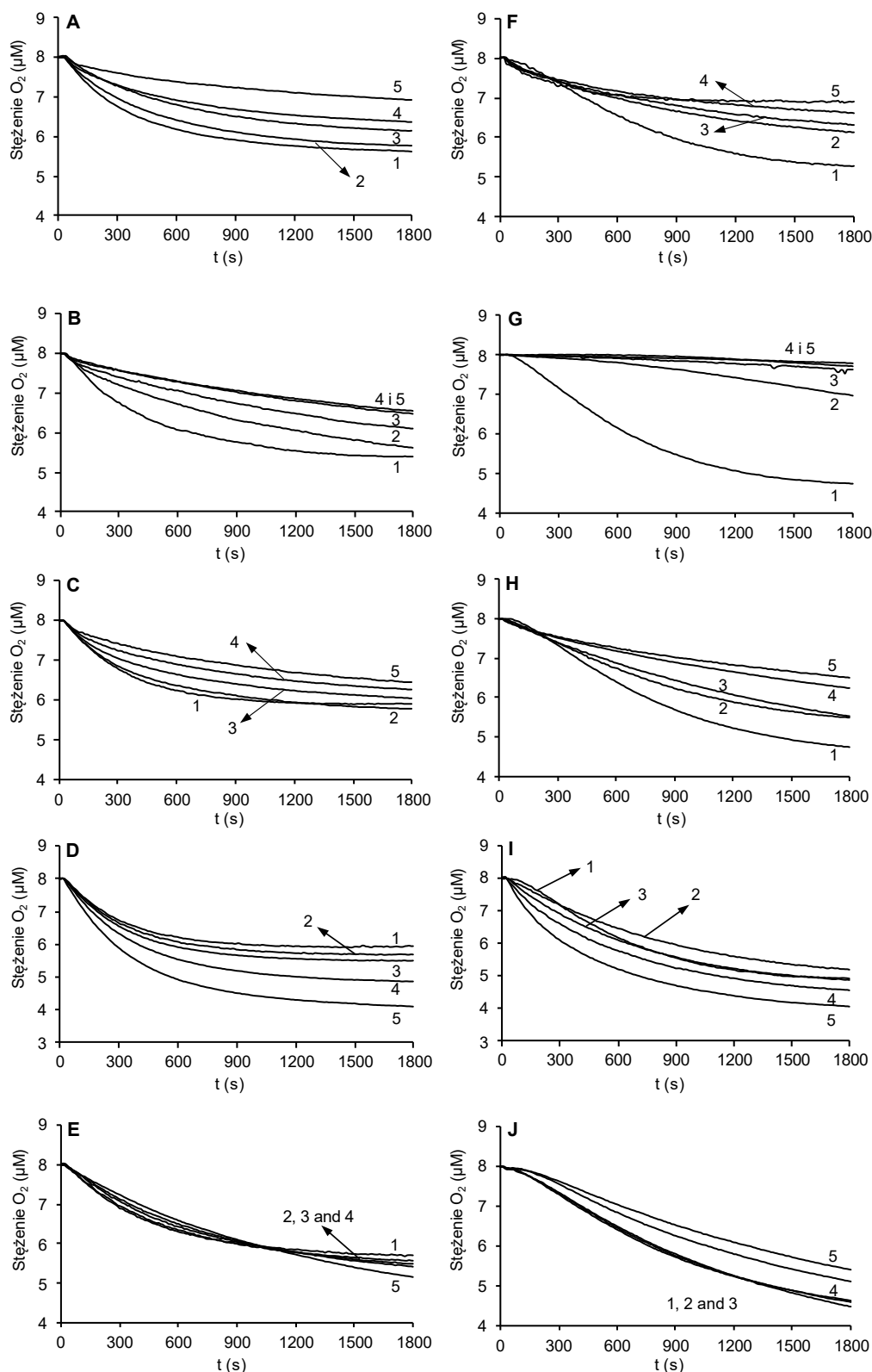
Wykonując pomiary spektrofotometryczne przy długości 475 nm dla pięciu wybranych flawonoidów w reakcji utleniania L-tyrozyny i L-dopy otrzymałam różne wyniki (**Rysunek 12** i **Rysunek 13**). Kiedy utlenieniu poddałam difenolowy substrat (**Rysunek 12** A-E) w obecności kwercetyny, kemferolu i moriny obserwowałam większe zmiany absorbancji w początkowej fazie reakcji dla stężeń 10 i 25 μM . Najprawdopodobniej było to spowodowane większą absorbancją powstających produktów utleniania tych związków przy tej długości fali niż dopachromu. Przy wyższych stężeniach dla kwercetyny i kemferolu wyraźnie można było zauważyć zmniejszającą się absorbancję zależną od stężenia związku. W przypadku moriny tylko przy najwyższym stężeniu (100 μM) widoczny był spadek absorbancji. Podobne zależności zaobserwowałam w reakcjach z L-tyrozyną, ale wpływ badanych związków na zmiany absorbancji był większy. W obecności katechiny następowały znacznie większe przyrosty absorbancji niż bez tego związku, natomiast dla naringeniny mniejsze przyrosty absorbancji występowały tylko przy wyższych stężeniach - 50 i 100 μM . W reakcjach utleniania substratu monofenolowego (**Rysunek 12** F-I) wszystkie związki z wyjątkiem naringeniny, która nie posiada grupy katecholowej ani sprzężonych grup fenolowych

w pierścieniach B i C, zmniejszały lub całkowicie eliminowały lag-fazę (fazę opóźnienia). W przypadku kwercetyny, kemferolu i moriny zmiany absorbancji były większe, a przy stężeniu 100 μM kwercetyny następowało całkowite zahamowanie reakcji. Katechina podobnie jak w przypadku utleniania L-dopy nie wykazywała hamowania reakcji, a wprost przeciwnie powodowała jej aktywację. Natomiast w reakcji z naringeniną nie obserwowano dużego wpływu różnych stężeń na przebieg reakcji.

Aby przedstawić rzeczywistą szybkość reakcji w dalszej części wykonałam pomiar zużycia tlenu (**Rysunek 13**). Wyniki okazały się różne od tych uzyskanych w pomiarach spektrofotometrycznych. Kwercetyna, kemferol i morina zmniejszały szybkość reakcji z L-dopą, katechina ją zwiększała, podczas gdy wpływ naringeniny był niewielki. W reakcji kwercytyny i moriny z L-tyroziną widoczne było silne hamowanie szybkości reakcji, natomiast katechina ją zwiększała. Kemferol silnie hamował reakcję we wszystkich stężeniach, natomiast naringenina nieznacznie zmniejszała szybkość reakcji tylko w wyższych stężeniach. Jak wynika z opisanych wyżej obserwacji, pomiary spektrofotometryczne wcale nie są odpowiednią metodą do monitorowania hamującego wpływu związków na działanie oksyreduktaz, szczególnie tyrozynyazy. Aby wykazać poprawnie hamujące działanie związków potrzebne jest zastosowanie dodatkowych metod, jak na przykład pomiar zużycia tlenu, czy pomiary chromatograficzne.

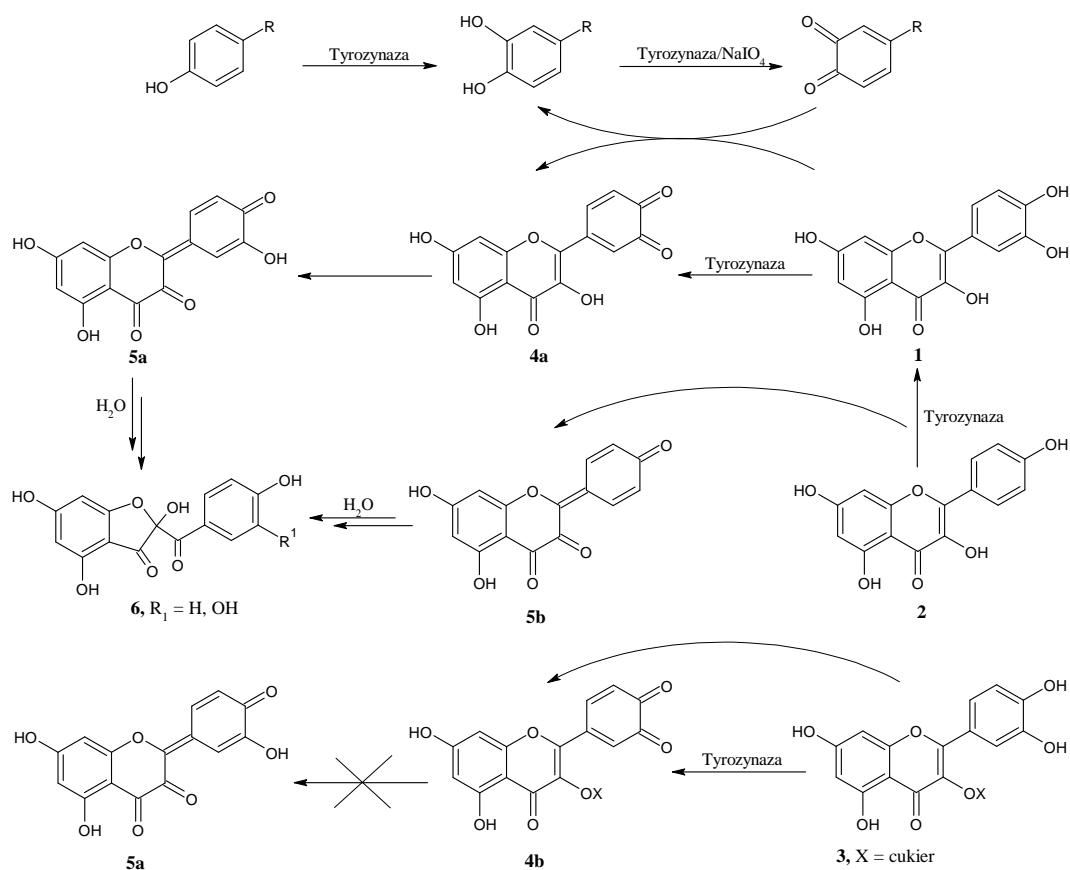


Rysunek 12. Absorbancja przy 475 nm mierzona podczas utleniania 100 μM L-dopy (A-E) i 100 μM L-tyrozyny (F–J) z kwercetyną (A i F), kemferolem (B i G), moriną (C i H), katechiną (D i I) oraz naringeniną (E i J) przez tyrozinazę (5 $\mu\text{g}/1$ ml enzymu w reakcji z L-dopą i 10 $\mu\text{g}/1$ ml enzymu użyłam w reakcji z L-tyroziną). Krzywe postępu reakcji były monitorowane w nieobecności flawonoidów (1) oraz w ich obecności w stężeniu: 10 μM (2), 25 μM (3), 50 μM (4) i 100 μM (5) (H2) [63].



Rysunek 13. Pomiary zużycia tlenu podczas reakcji utleniania 100 μM L-dopy i 100 μM L-tyrozyny z kwercetyną (A i F), kemferolem (B i G), moriną (C i H), katechiną (D i I) oraz naringeniną (E i J) przez tyrozynazę (5 $\mu\text{g}/1$ ml enzymu w reakcji z L-dopą i 10 $\mu\text{g}/1$ ml enzymu użyłam w reakcji z L-tyrozyną). Krzywe postępu reakcji były monitorowane w przypadku braku flawonoidów (1) oraz w obecności 10 μM (2), 25 μM (3), 50 μM (4) i 100 μM (5) stężenia (H2) [63].

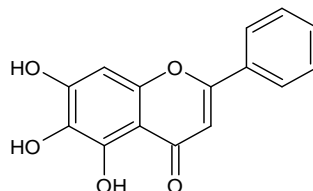
Przeprowadzona analiza wykazała, że flawonoidy z układem katecholowym w pierścieniu B lub sprzężonym układem grup hydroksylowych w pierścieniach B i C hamują powstawanie dopachromu redukując dopachinon, podczas gdy flawonoidy bez takiego układu grup funkcyjnych takich właściwości nie posiadają (**Rysunek 14**).



Rysunek 14. Reakcje zachodzące w czasie utleniania przez tyrozynazę naturalnych substratów w obecności flawonoidów: kwercetyny z układem katecholowym w pierścieniu B (**1**), kemferolu ze sprzężonym układem grup hydroksylowych w pierścieniach B i C (**2**) i kwercetyny zmodyfikowanej w pozycji 3 (np. pochodnej glikozydowej, **3**), której produkt utlenienia (*o*-chinon) nie może ulegać tautomeryzacji i przekształceniu w pochodną kwasu protokatechuowego (**H2**) [63].

W publikacji **H2** wykazałam, że wpływ związków, które wykazywały silną inhibicję w pomiarach spektrofotometrycznych, na szybkość zużycia tlenu (faktyczną szybkość reakcji), był jednak znacznie mniejszy, a więc większość z nich nie była efektywnymi inhibitorami. Praca, w której przedstawiłam te wyniki została wyróżniona i wybrana do specjalnego, elektronicznego numeru Journal of Agricultural and Food Chemistry wydanego we wrześniu 2017 roku, zatytułowanego „Advances in Polyphenol Research”, w którym redaktorzy tego czasopisma umieścili 22 spośród około 500 artykułów poświęconych chemii polifenoli, opublikowanych w nim w latach 2016 i 2017.

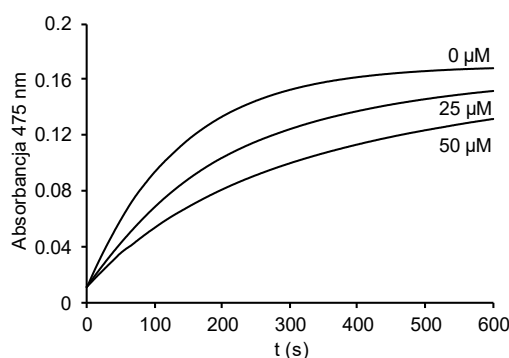
W kolejnych latach po ukazaniu się naszego artykułu w literaturze opisane zostały następne flawonoidy jako inhibitory tyrozynazy. Jednym z nich była bajkaleina (5,6,7-trihydroksyflawon) (**Rysunek 15**) [64].



Rysunek 15. Struktura bajkaleiny.

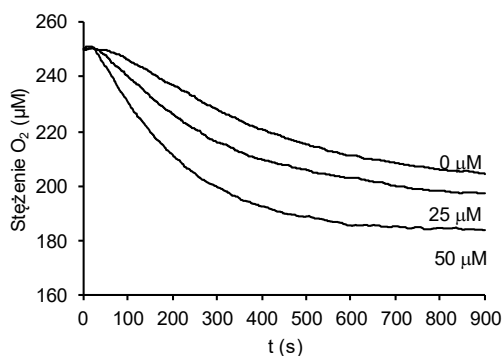
Bajkaleina jest izolowana z korzeni jarmużki bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis*). Związek ten również posiada właściwości antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, a także antyalergiczne. Może też hamować proliferację komórek w sposób zależny od dawki i wykazuje efekt wymiatania wolnych rodników [65]. Jednak już w roku 2000 Kubo i jego współpracownicy wykazali, że bajkaleina jest utleniana przez tyrozynazę [53], chociaż reakcja ta przebiegała znacznie wolniej niż w przypadku L-dopy. Założyłam, że układ pirogallolowy w pierścieniu A bajkaleiny może również redukować *o*-chinony wygenerowane przez tyrozynazę, podobnie jak w przypadku kwasu galusowego [66].

Obecność bajkaleiny zmniejszała przyrosty absorbancji w reakcji utleniania L-dopy przez tyrozynazę (**Rysunek 16**).



Rysunek 16. Zmiany absorpcji przy 475 nm mierzone podczas utleniania 50 μM L-dopy i jej mieszanin z bajkaleiną przez 6,5 μg/ml tyrozynazy (55 U/ml). Krzywe postępu reakcji były monitorowane w przypadku braku bajkaleiny (0 μM) oraz w obecności 25 μM i 50 μM stężenia (**H6**) [67].

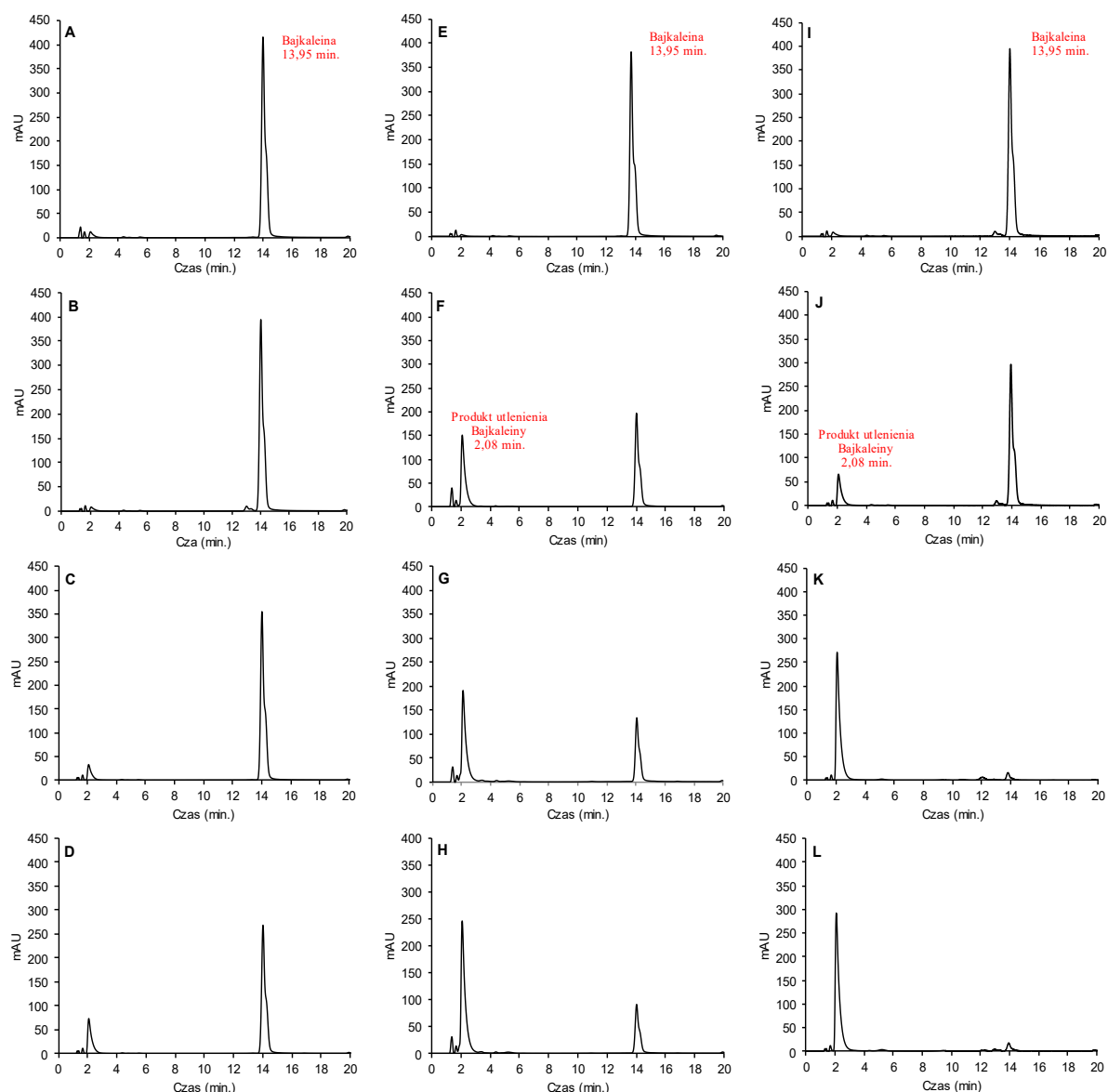
Rzeczywista szybkość reakcji, którą wyznaczyłam na podstawie pomiarów zużycia tlenu, okazała się być jest większa dla mieszaniny L-dopy i bajkaleiny (**Rysunek 17**).



Rysunek 17. Zużycie tlenu mierzone podczas utleniania samej 50 μM L-dopy przez tyrozynazę oraz w obecności 25 μM i 50 μM bajkaleiny. Stężenie tyrozynazy we wszystkich reakcjach wynosiło 6,5 $\mu\text{g/ml}$ (55 U/ml) (**H6**) [67].

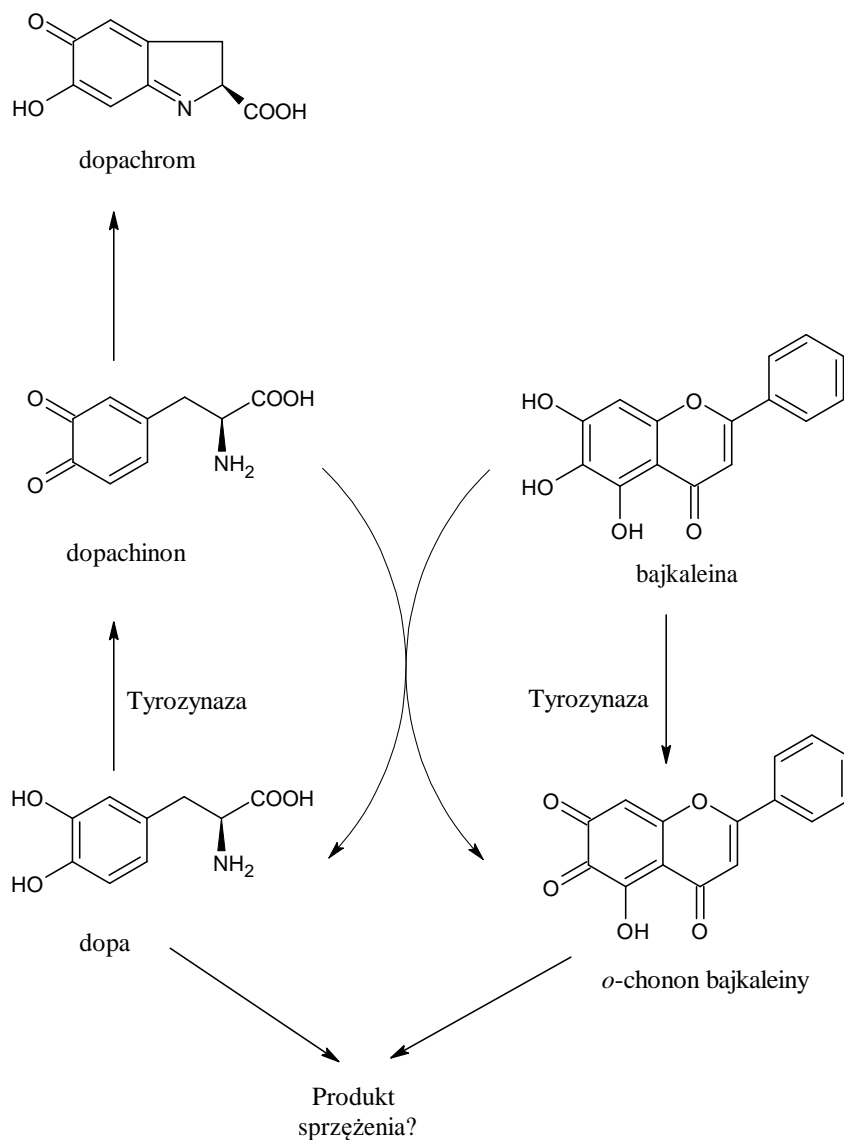
Ostateczne wartości zużycia tlenu były również większe w obecności bajkaleiny, ponieważ odpowiadają one utlenianiu zarówno L-dopy (utlenianej przez enzym), jak i flawonoidu (utlenianego pierwotnie przez wygenerowany enzymatycznie dopachinon, który jest redukowany w tej reakcji z powrotem do L-dopy).

Utlenianie bajkaleiny przez *o*-chinony wygenerowane przez tyrozynazę potwierdziłam analizą HPLC tych reakcji z tyrozynazą w obecności L-dopy i 4-*tert*-butylokatecholu (**Rysunek 18**). Obecność naturalnych substratów katecholowych tyrozynazy gwałtownie przyspieszała utlenienie bajkaleiny, co potwierdziło, że ten flawonoid jest utleniany przez *o*-chinony wytworzone przez enzym z tych substratów.



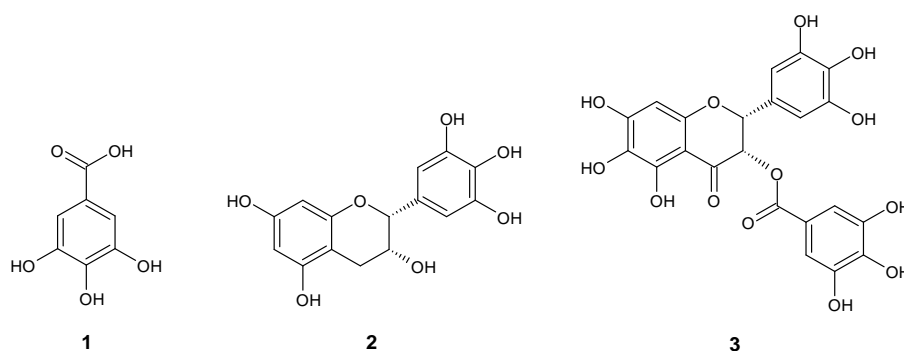
Rysunek 18. Analiza HPLC reakcji tyrozynazy z bajkaleiną, jej mieszaninami z L-dopą i 4-*tert*-butylokatecholem. Reakcje przeprowadzono z 250 μ M samej bajkaleiny i 32,5 μ g/ml (276 U/ml) tyrozynazy (A-D), 250 μ M bajkaleiny, 50 μ M L-dopy i 32,5 μ g/ml (276 U/ml) tyrozynazy (E-H) oraz 250 μ M bajkaleiny, 50 μ M 4-*tert*-butylokatecholu i 10 μ g/ml (85 U/ml) tyrozynazy (I-L). Próbkę analizowano przed dodaniem tyrozynazy (A, E, I), po 30 s (B, F, J), 5 min (C, G, K) i 10 min po dodaniu enzymu (D, H, L). Elucję monitorowano przy 280 nm. Czasy retencji substratów wynosiły 13,95 min dla bajkaleiny, 1,69 min dla L-dopy i 12,98 min dla 4-*tert*-butylokatecholu. Czas retencji produktu utlenienia bajkaleiny był równy 2,08 min (**H6**) [67].

Uzyskane wyniki wyraźnie pokazały również, że bajkaleina nie hamuje tyrozynazy, ale jest utleniana przez dopachinon wytwarzany przez tyrozynazę, zapobiegając w ten sposób tworzeniu dopachromu (**H6**) (**Rysunek 19**).



Rysunek 19. Postulowane reakcje zachodzące podczas utleniania L-dopy przez tyrozynazę w obecności bajkaleiny (**H6**) [67].

Ugrupowanie pirogallolowe występujące w pierścieniu A bajkaleiny występuje w wielu innych związkach opisanych jako inhibitory tyrozylnazy. Należą do nich głównie składniki np. zielonej herbaty takie jak: 3-galusan epikatechiny, 3-galusan gallokatechiny czy 3-galusan epigallokatechiny [68]. Postanowiłam wykazać, że związki te również redukują *o*-chinony, generowane przez tyrozynazę (**Rysunek 20**).

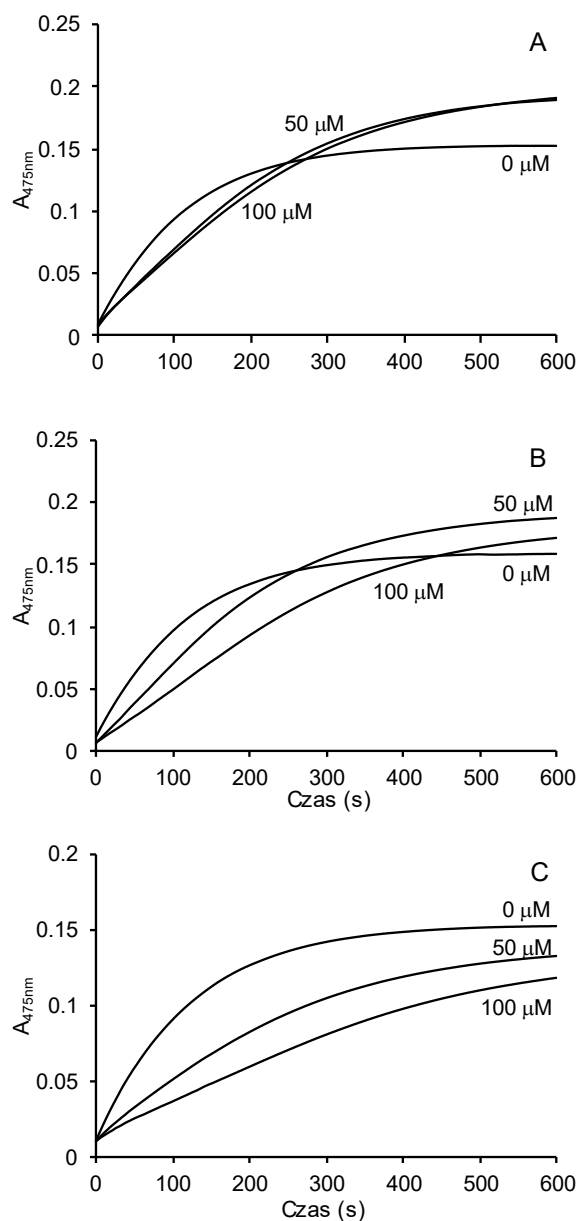


Rysunek 20. Struktury związków użytych w badaniu: kwas galusowy (1), epigallokatechina (2), 3-galusan epigallokatechiny (3) (**H9**) [66].

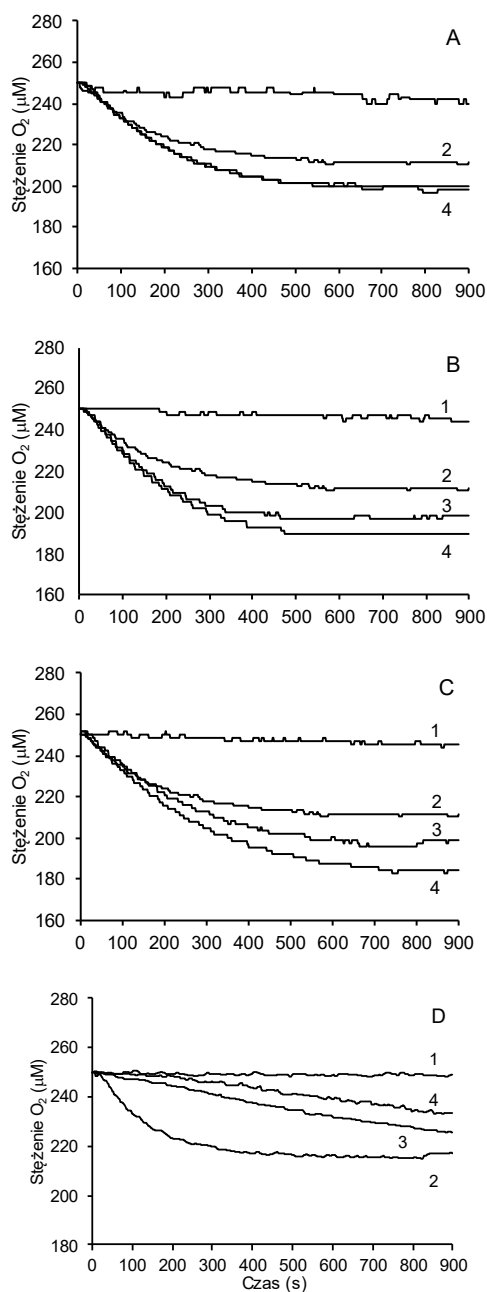
Wykonując pomiary spektrofotometryczne przy długości fali 475 nm dla trzech badanych związków w reakcji utleniania L-dopy przez tyrozynazę zaobserwowałam początkowy spadek szybkości zmian absorbancji we wszystkich przypadkach (**Rysunek 21**). Dla 50 μM i 100 μM kwasu galusowego i epigallokatechiny (**Rysunek 21 A i B**) końcowe wartości absorbancji były jednak wyższe niż w reakcji kontrolnej bez badanych związków. W reakcjach z 50 μM i 100 μM 3-galusanem epigallokatechiny końcowe wartości absorbancji były mniejsze niż w reakcji kontrolnej przez cały okres trwania reakcji (**Rysunek 21 C**).

Podobnie jak w przypadku opisanych wcześniej związków (**H2, H6**) wykonałam pomiar zużycia tlenu podczas enzymatycznego utleniania L-dopy w obecności badanych związków w celu sprawdzenia rzeczywistej szybkości reakcji (**Rysunek 22**). Okazało się, że badane związki nie miały wpływu na początkową szybkość zużycia tlenu podczas utleniania L-dopy przez tyrozynazę. Przy braku difenolowego substratu tyrozynazy ich szybkości utleniania były bardzo małe, co jest zgodne z wynikami wcześniejszych badań ich utleniania przez tyrozynazę, które wykazały, że epigallokatechina i 3-galusan epigallokatechiny były słabymi substratami o wartościach k_{cat} ok. 20 razy mniejszych niż dla katechiny i epikatechiny ([69]).

Ostateczne wartości zużycia tlenu były również większe w obecności wszystkich badanych związków (**Rysunek 22 A-C**), ponieważ odpowiadają one zarówno utlenianiu L-dopy (utlenianej przez enzym), jak i badanych związków (utlenianych głównie przez generowany enzymatycznie dopachinon, który jest redukowany w tych reakcjach z powrotem do L-dopy). Aby pokazać, jak zachowuje się prawdziwy inhibitor w takich eksperymentach, przeprowadziłam również te pomiary z kwasem kojowym. W przypadku tego dobrze znanego inhibitora tyrozynazy zarówno szybkość zużycia tlenu, jak i całkowita ilość zużytego tlenu były znacznie mniejsze niż w reakcji kontrolnej (**Rysunek 22 D**).



Rysunek 21. Zmiany absorbancji rejestrowane przy 475 nm podczas utleniania L-dopy i jej mieszanin z kwasem gallusowym (A), epigalokatechiną (B) i 3-galusanem epigalokatechiny (C) przez tyrozinazę. Reakcje przeprowadzono z 50 μM L-dopą i 5 $\mu g/ml$ (42,5 U/ml) tyrozinazy w przypadku braku badanych związków (0 μM) oraz w obecności 50 μM 100 μM stężenia (H9) [66].

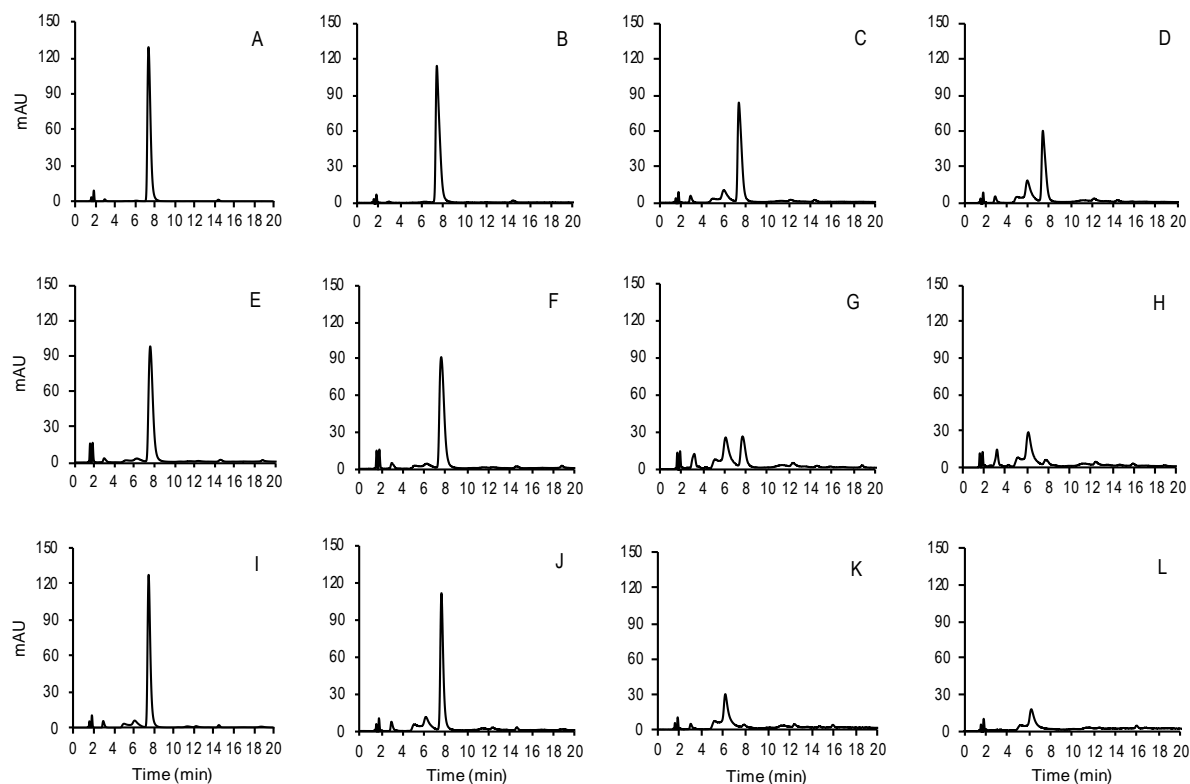


Rysunek 22. Zużycie tlenu mierzone podczas utleniania L-dopy, kwasu galusowego (A), epigallokatechiny (B), galusanu epigallokatechiny (C) i ich mieszanin z L-dopa przez tyrozynazę. Reakcje przeprowadzono z 50 μM badanych związków (1), 50 μM L-dopa (2) i mieszaninami 50 μM L-dopy z 50 μM (3) i 100 μM (4) badanych związków. Stężenie tyrozynazy we wszystkich reakcjach wynosiło 5 μg/ml (42,5 U/ml). Reakcje z kwasem kojowym (D) przeprowadzono w tych samych warunkach w celach porównawczych (**H9**) [66].

Aby potwierdzić utlenianie 3-galusanu epigallokatechiny przez *o*-chinony generowane przez tyrozynazę, przeprowadziłam, za pomocą HPLC, analizę reakcji tyrozynazy z samym związkim oraz w obecności L-dopy i 4-*tert*-butylokatecholu (**Rysunek 23**). W przypadku utleniania samego związku przez tyrozynazę 3-galusan epigallokatechiny utleniał się powoli. Po 10 minutach trwania reakcji w mieszaninie reakcyjnej pozostawało około 50% nieprzereagowanego związku (**Rysunek 23 A-D**). W obecności L-dopy w ciągu 10 minut cały 3-galusan epigallokatechiny przereagował (**Rysunek 23 E-H**), a w obecności 4-*tert*-butylokatecholu efekt ten został osiągnięty w przeciągu 5 minut (**Rysunek 23 I-L**). Wyniki te są podobne do tych, które uzyskaliśmy wcześniej dla bajkaleiny (**H6**) [67]. Jednak w przeciwieństwie do bajkaleiny, która została utleniona do jednego stabilnego produktu, główny produkt utleniania 3-galusanu epigallokatechiny ulegał szybkiej degradacji, najprawdopodobniej w wyniku polimeryzacji lub dalszego utleniania (**H9**) [66].

Flawonoidy, ze względu na swoją strukturę, są zwykle powoli utleniane przez tyrozynazę. Jednak te z nich, które posiadają odpowiednią kombinację grup funkcyjnych, takich jak *o*-difenoole lub sprzężone grupy hydroksylowe w pierścieniach B i C, są szybko utleniane przez *o*-chinony wytwarzane przez tyrozynazę [63,70]. Jeśli produkty ich utleniania pochłaniają światło w zakresie innym niż dopachrom, obserwuje się mniejszy wzrost absorpcji przy 475 nm i efekt ten jest interpretowany jako hamowanie enzymu. W przypadku katechiny (**H2**) [63], której produkt utleniania absorbuje w tym samym zakresie co dopachrom obserwuje się znaczny wzrost absorbancji przy długości fali 475 nm (znacznie większy niż w reakcjach z L-dopą), a efekt ten jest interpretowany jako stymulacja enzymu. Jednak kiedy szybkości reakcji mierzone są poprzez zużycie tlenu widoczne zmiany są znacznie mniejsze niż te, jakie obserwowane są w pomiarach spektrofotometrycznych. Wynikają one z wolniejszego utleniania flawonoidów, które konkurują o miejsce aktywne z L-dopą jako substraty, a nie jako inhibitory.

Składniki zielonej herbaty, w szczególności estry kwasu galusowego z katechinami zawierającymi fragment pirogallolu w pierścieniu B są silnymi przeciwutleniaczami. Związki o działaniu antyoksydacyjnym z pewnością będą hamowały melanogenezę, jak niedawno wykazano w badaniu *in vivo* [71], ale tego efektu nie należy przypisywać inhibicji [72], [73].



Rysunek 23. Analiza HPLC reakcji tyrozynazy z galusanem-3-epigallokatechiny i jego mieszanin z L-dopą lub 4-*tert*-butylokatecholem. Reakcje przeprowadzono z 10 $\mu\text{g/ml}$ (85 U/ml) tyrozynazy i 250 μM galusanu-3-epigallokatechiny osobno (A-D), 250 μM galusanu-3-epigallokatechiny i 50 μM L-dopa (E-H) oraz 250 μM galusanu-3-epigallokatechiny i 50 μM 4-*tert*-butylokatecholu (I-L). Próbkę rozdzielono przed dodaniem tyrozynazy (A, E i I), a następnie 30 s (B, F i J), 5 min (C, G i K) i 10 min po dodaniu enzymu (D, H i L). Elucję monitorowano przy 280 nm. Czasy retencji określone na podstawie analizy substratów były równe 7,56 min dla galusanu 3-epigallokatechiny, 2,96 min dla L-dopy i 26,86 min dla 4-*tert*-butylokatecholu (eluowanego podczas płukania kolumny, nieprzedstawionego na prezentowanych chromatogramach). Czas retencji głównego produktu utleniania galusanu epigallokatechiny był równy 6,09 min (H9) [66].

Wpływ karbidopy i innych katecholi na reakcje katalizowane przez peroksydazy (H3)

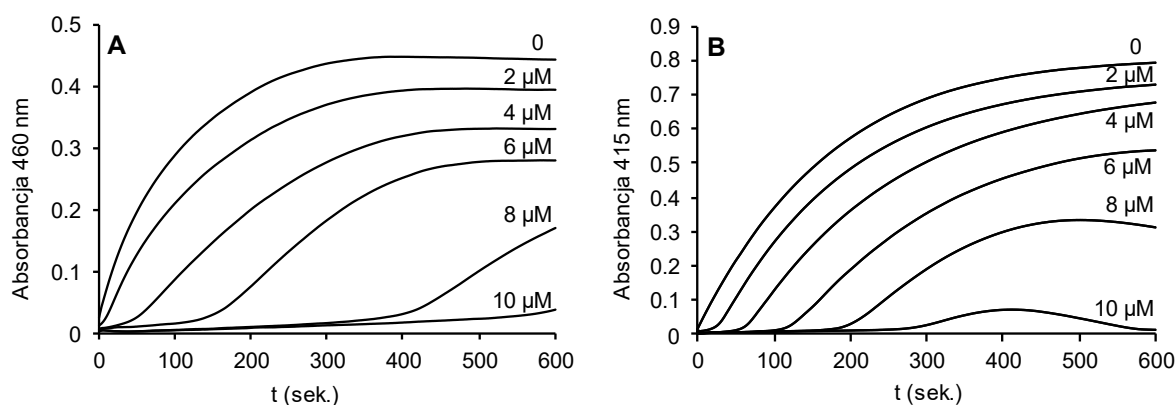
Projektując proleki, które w swojej strukturze posiadałyby ugrupowanie fenolowe, zdawaliśmy sobie sprawę z tego, że po wprowadzeniu ich do organizmu mogą być narażone na działanie różnych czynników utleniających. Dlatego postanowiliśmy zbadać ich oddziaływanie z peroksydazami ssaków. Peroksydazy należą do klasy oksydoreduktaz i mogą katalizować utlenianie różnych substratów przy udziale nadtlenu wodoru [74]. Do peroksydaz ssaczych zalicza się enzymy, które biorą udział przede wszystkim w reakcjach obronnych organizmu (mieloperoksydaza – MPO, laktoperoksydaza – LPO, peroksydaza eozynofilowa – EPO) i biosyntezie hormonów tarczycy (peroksydaza tarczycowa – TPO) [74]. Aktywność

przeciwbakteryjna tych enzymów związana jest ze zdolnością do przekształcania halogenków, tiocyjanianów i azotynów w związki, które są wysoce toksyczne dla mikroorganizmów [75,76]. Uczestniczą one także w metabolizmie ksenobiotyków, w tym leków [77], a mieloperoksydaza odgrywa bardzo ważną rolę w patogenezie niektórych chorób, w tym chorobie Alzheimera, chorobie Parkinsona, miażdżycy czy wielu nowotworów [78,79].

Mieloperoksydazę wyizolowałam ze śledziony wołowej zgodnie z opisaną procedurą [80,81], którą w trakcie pracy zmodyfikowałam na własne potrzeby. Enzym oczyszczałam stosując po kolei: kwaśną ekstrakcję, chromatografię jonowymienną na fosforanie celulozy P-11, dializę i filtrację żelową na złożu Sephacryl S-200. W wyniku tej izolacji otrzymałam preparat enzymatyczny jednorodny elektroforetycznie o aktywności specyficznej 563 U/mg.

Tak samo, jak w przypadku badania aktywacji proleków, moje badania rozpoczęłam od przeprowadzenia reakcji z karbidopą wykorzystując do tego mieloperoksydazę i laktoperoksydazę. W 2009 roku Munoz-Munoz i wsp. wykazali, że karbidopa jest utleniana przez peroksydazę chrzanową [82], natomiast nie badano wcześniej interakcji tego leku z peroksydazami ssaczymi.

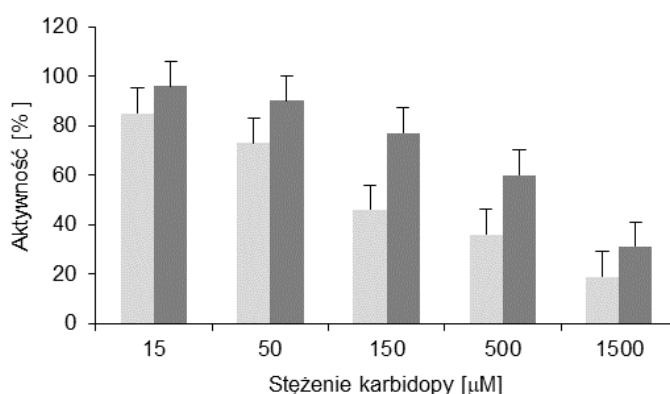
Wykonane przeze mnie oraz ówczesne magistrantki w Zakładzie Biochemii - Krystynę Hirsz-Wiktorzak i Annę Rybczyńską, których byłam opiekunem naukowym, pomiary spektrofotometryczne wykazały, że karbidopa już przy niewielkich stężeniach mikromolowych całkowicie hamowała aktywność tych enzymów wobec *o*-dianizydyny i kwasu 2,2'-azyno-bis-(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego) (ABTS) (**Rysunek 24**).



Rysunek 24. Absorbancja przy 460 nm mierzona podczas utleniania 100 μM *o*-dianizydyny z 50 μM H_2O_2 i 5 nM MPO (A) oraz absorbancja przy 415 nm mierzona podczas utlenianie 25 μM ABTS z 25 μM H_2O_2 i 2 nM LPO (B). Reakcje były prowadzone bez karbidopy (0) lub w jej obecności w stężeniach pokazanych obok każdej krzywej (**H3**) [83].

Takie wyniki sugerowały, że karbidopa mogłaby być bardzo dobrym inhibitorem dla MPO i LPO. Natomiast powrót aktywności enzymatycznej po fazie opóźnienia w niższych stężeniach karbidopy sugerował, że, podobnie jak inne pochodne hydrazyny, może ona działać jako samobójczy substrat peroksydaz i prowadzić do ich nieodwracalnej inaktywacji.

Aby zbadać inhibicję nieodwracalną przeprowadziłam godzinną reakcję MPO i LPO z karbidopą w różnych stężeniach w obecności nadtlenu wodoru. Następnie mieszaniny reakcyjne poddałam dializie przez ok. 20 godzin. Następnie enzym oddzieliłam na kolumnie ze złożem Sephadex G-25. Okazało się, że inkubacja tych peroksydaz z karbidopą doprowadziła tylko do częściowej utraty aktywności, a stężenia wymagane do uzyskania tego efektu były wysokie (**Rysunek 25**). Obliczone na podstawie tych wyników tzw. współczynniki podziału (partition ratio), które odpowiadają liczbie obrotów enzymu koniecznych do całkowitej inaktywacji, były wysokie i wynosiły 1240 dla MPO i 1460 dla LPO.

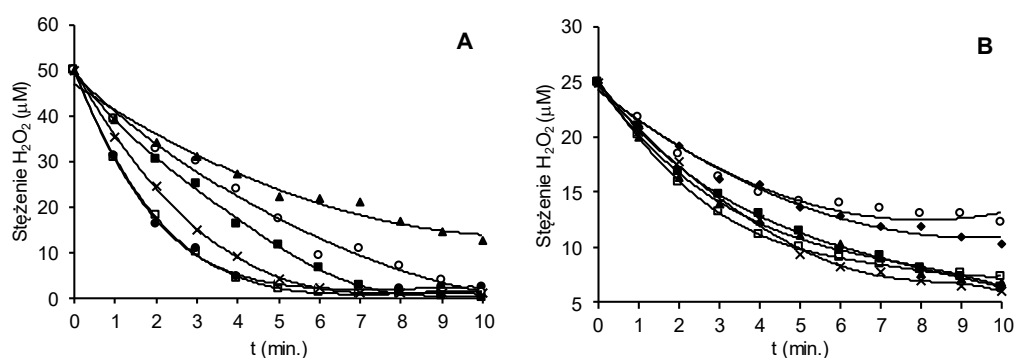


Rysunek 25. Nieodwracalna inaktywacja 1,5 µM MPO (■) i LPO (■) wyznaczona po godzinnej inkubacji z karbidopą i dializie. Aktywność enzymu monitorowano używając *o*-dianizydyny jako substratu. Aktywność została wyznaczona w odniesieniu do reakcji kontrolnej z enzymem inkubowanym i poddanym dializie bez karbidopy i H₂O₂ (**H3**) [83].

Po przeprowadzonych dyskusjach w zakładzie stwierdziliśmy, że mechanizm działania tych związków pomogłyby nam wyjaśnić badania strukturalne ich wiązania do centrów aktywnych peroksydaz. Dr Yuki Nishigaya z zespołu dr Toshimasy Yamazakiego, który zajmuje się badaniami strukturalnymi białek, wykonała dla nas dokowanie molekularne karbidopy oraz jednego z produktów jej enzymatycznego utleniania - kwasu 3-(3,4-dihydroksyfenilo)-2-metylopropanowego do mieloperoksydazy i laktoperoksydazy. Okazało się, że w centrach aktywnych obu enzymów kwas 3-(3,4-dihydroksyfenilo)-2-metylopropanowy wiąże się dużo słabiej niż karbidopa, mając znacznie więcej swobody, ponieważ to grupa hydrazynowa jest odpowiedzialna za zakotwiczenie karbidopy w kanale

wiodącym do centrum aktywnego. Było więc mało prawdopodobne, aby te dwa związki działały w taki sam sposób jako inhibitory kompetycyjne.

Ponieważ uzyskane wyniki wykluczały nieodwracalne hamowanie MPO i LPO przez karbidopę, postanowiliśmy poszukać innych mechanizmów wyjaśniających brak tworzenia chromoforu podczas reakcji z substratami peroksydaz mierzonych spektrofotometrycznie. W tym celu wykonałam pomiar zużycia nadtlenu wodoru podczas utleniania *o*-dianizydyny przez MPO i utleniania ABTS przez LPO w obecności karbidopy (**Rysunek 26**).



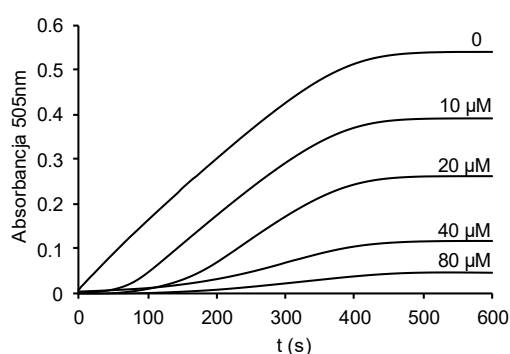
Rysunek 26. Zmiany stężenia H_2O_2 podczas utleniania *o*-dianizydyny przez MPO (A) i ABTS przez LPO (B). Reakcje były prowadzone bez karbidopy (●) lub w jej obecności w stężeniach 2 μM (□), 4 μM (×), 6 μM (■), 8 μM (○) i 10 μM (▲) (H3) [83].

Zmiany stężeń nadtlenu wodoru nie odpowiadały zmianom absorbancji przedstawionym na **Rysunku 24**. W reakcji MPO z *o*-dianizydyną obserwowałam nieznaczny spadek szybkości reakcji w obecności karbidopy i brak fazy opóźnienia. W tym przypadku najprawdopodobniej miało miejsce zarówno konkurencyjne utlenianie karbidopy oraz redukcja powstałego produktu utleniania *o*-dianizydyny. W reakcji LPO z ABTS obserwowałam niewielki wzrost szybkości reakcji w obecności karbidopy. Efekt ten można przypisać redukcji kationorodnika ABTS ($ABTS^{++}$) z powrotem do ABTS. Aby określić rolę grupy fenolowej i hydrazynowej w tym procesie wykonałam reakcje z kilkoma związkami zawierającymi tylko grupę katecholową: L-dopą, kwasem 3-(3,4-dihydroksyfenylo)propionowym, kwasem 3,4-dihydroksyfenylooctowym oraz z hydrazyną i kilkoma jej pochodnymi: fenelzyną, benzhydrazidem i izoniazidem. Otrzymane wyniki wykazywały bardzo podobny wpływ katecholi do efektu, jaki otrzymaliśmy wcześniej dla karbidopy, natomiast wpływ hydrazyny oraz jej pochodnych był niewielki.

Na tej podstawie można stwierdzić, że karbidopa oraz inne katechole zakłócały reakcje utleniania *o*-dianizydyny oraz ABTS katalizowane przez peroksydazy poprzez redukcję generowanych produktów pośrednich lub końcowych co prowadziło do zmian absorbancji,

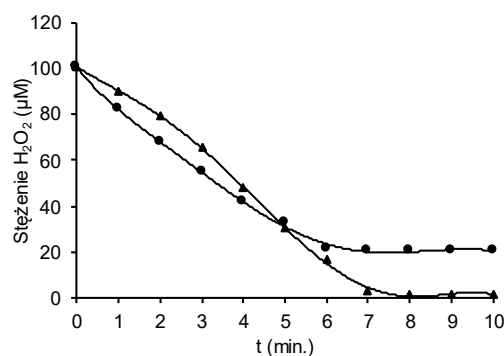
które nie odzwierciedlały rzeczywistej szybkości reakcji. Podobne zakłócenia zaobserwowano wcześniej także w enzymatycznych testach diagnostycznych w których używa się peroksydazy chrzanowej katalizującej tzw. reakcję Trindera – utlenianie fenolu lub jego pochodnych i 4-aminoantypiryny do barwnych produktów chinonoiminowych.

Wykonałam więc reakcje w tym układzie w obecności karbidopy. Efekt okazał się bardzo podobny do tych, które zaobserwowaliśmy w reakcjach z MPO z *o*-dianizydyną i LPO z ABTS. Również obserwowaliśmy fazę opóźnienia oraz wzrost aktywności po tym czasie (**Rysunek 27**).



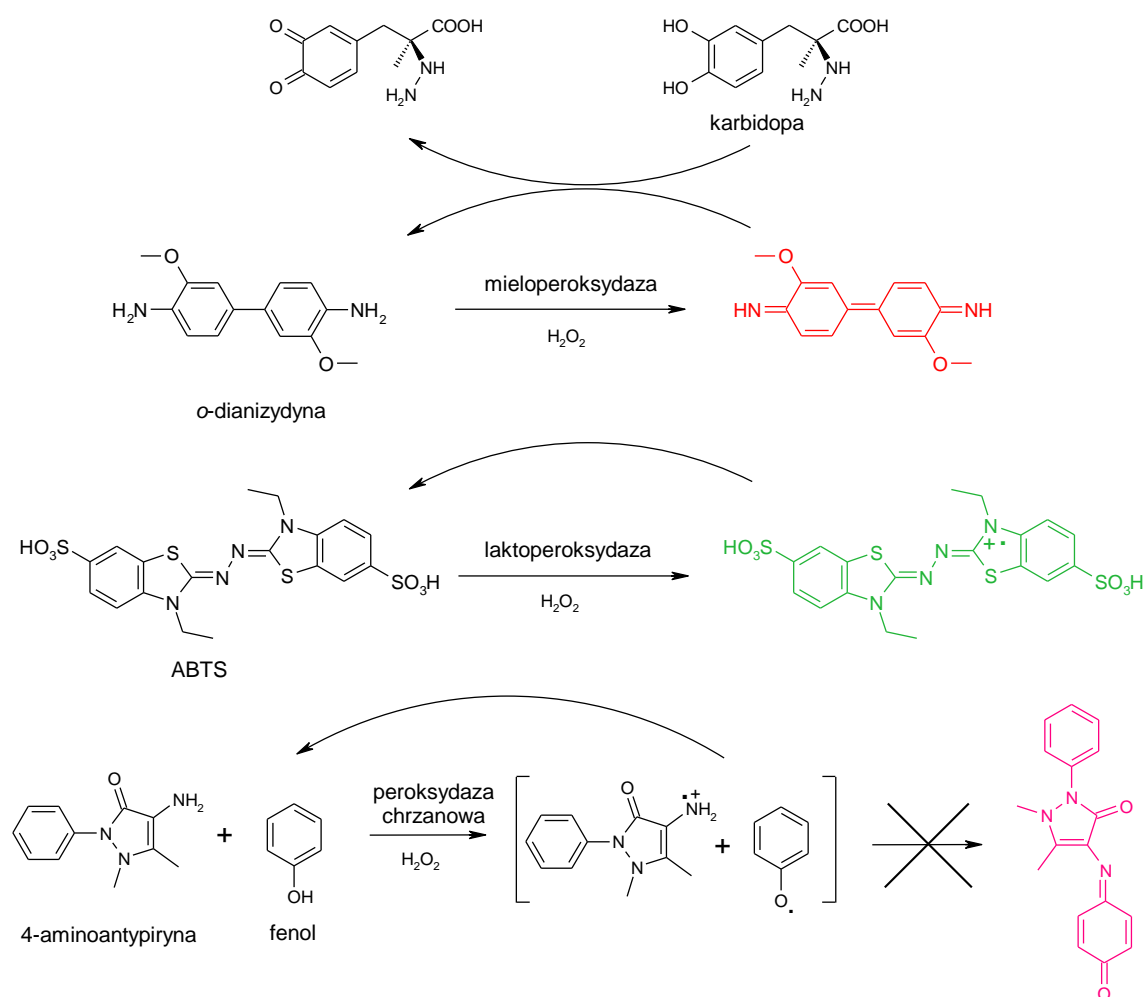
Rysunek 27. Absorbancja przy 505 nm mierzona podczas utleniania 50 μM 4-aminoantypiryny i 1 mM fenolu ze 100 μM H₂O₂ i 0,5 μg HPR. Reakcje były prowadzone bez karbidopy (0) lub w jej obecności w stężeniach pokazanych obok każdej krzywej (**H3**) [83].

Tak samo jak w tych dwóch poprzednich przypadkach karbidopa nie wpływała istotnie na szybkość reakcji mierzoną zmianami stężenia nadtlenu wodoru (**Reakcja 28**).



Rysunek 28. Zmiany stężenia H₂O₂ podczas utleniania 50 μM 4-aminoantypiryny i 1 mM fenolu ze 100 μM H₂O₂ i 0,5 μg HPR. Reakcje były prowadzone bez karbidopy (●) i w obecności 80 μM (▲) (**H3**) [83].

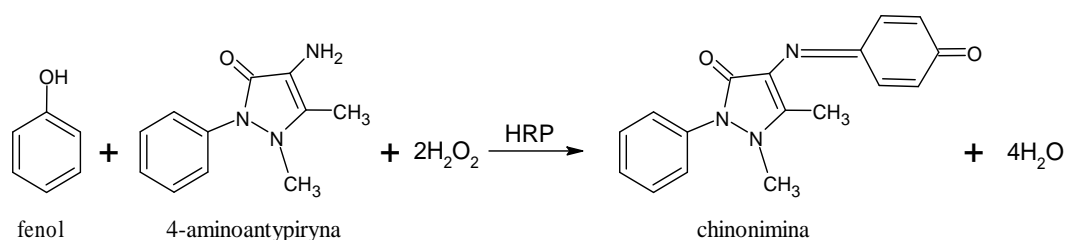
Wykazałam więc, że wszystkie zbadane związki z układem katecholowym (karbidopa, L-dopa, dopamina, kwas 3-(3,4-dihydroksyfenylo)propionowy i kwas 3-(3,4-dihydroksyfenylo)octowy) hamują powstawanie chromoforów redukując produkty końcowe lub pośrednie reakcji reporterowych (**Rysunek 29**).



Rysunek 29. Reakcje redukcji przez karbidopę produktów końcowych lub pośrednich utlenienia przez peroksydazy standardowych substratów (*o*-dianizydyny, ABTS-u i fenolu/4-aminoantypiryny) prowadzące do zablokowania powstawania chromoforów, których absorbancję mierzy się w badaniach kinetycznych lub medycznych testach diagnostycznych (H3) [83].

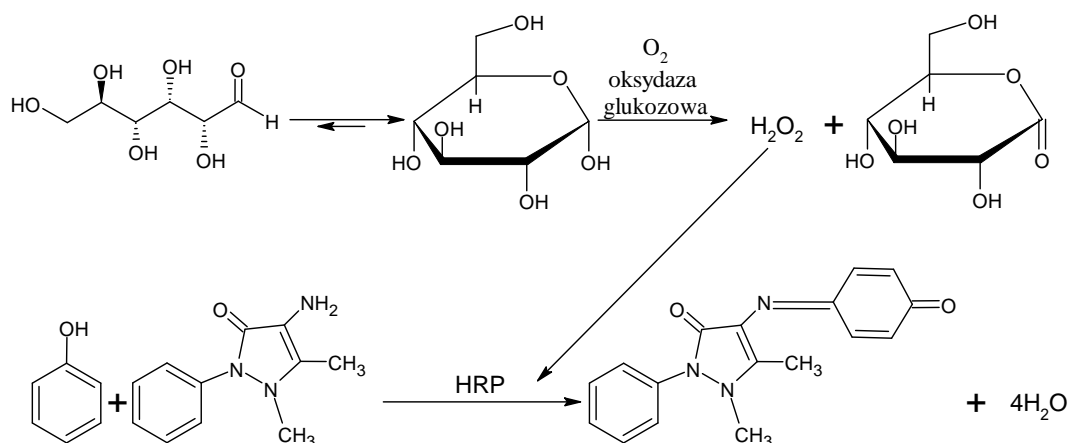
Znaczenie peroksydazy chrzanowej (HRP) w testach diagnostycznych (H4)

Do badań krwi pozwalających określić w niej stężenie między innymi glukozy, cholesterolu, kwasów tłuszczowych, kwasu moczowego czy kreatyniny powszechnie wykorzystuje się reakcję Trindera (**Rysunek 30**) [84].



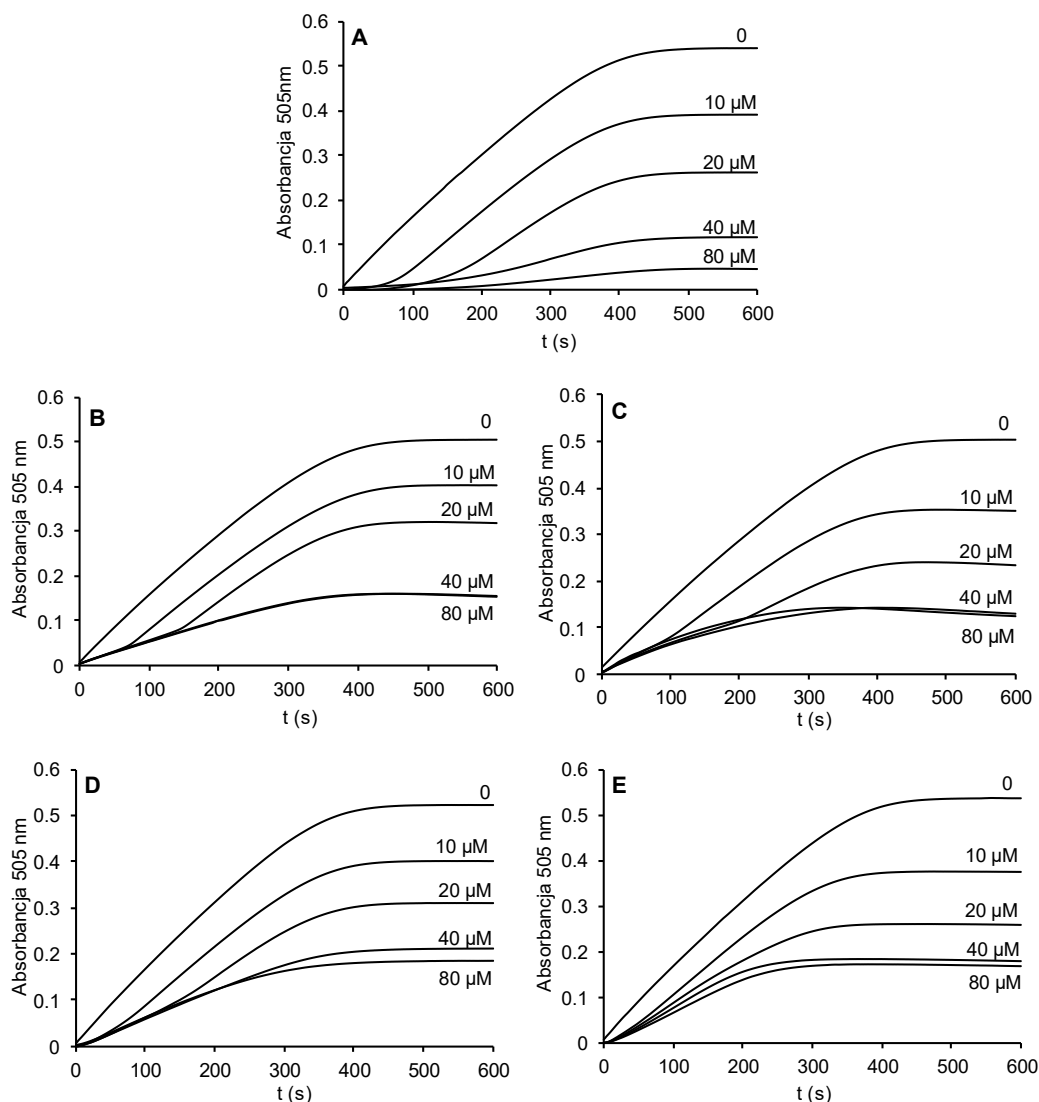
Rysunek 30. Równanie reakcji Trindera [84].

W reakcji tej fenol ulega utlenieniu a następnie zostaje sprzężony z cząsteczką 4-aminoantypiryny dając chinonoiminę, która absorbuje światło przy długości fali około 500 nm, co nadaje roztworowi barwę malinową [84,85]. Sukces reakcji Trindera polega na możliwości jej zastosowania do oznaczania stężenia wielu związków (analitów). Wykorzystuje ona bowiem nadtlenek wodoru powstający w wyniku utleniania każdego z analitów przez specyficzną oksydazę. Przykładową reakcję utleniania analitu – glukozy, sprzężoną z reakcją Trindera przedstawiono na **Rysunku 31** [86].



Rysunek 31. Reakcja zachodząca w czasie enzymatycznego oznaczania stężenia glukozy: glukoza jest utleniana przez oksydazę glukozową, a następnie wytworzony nadtlenek wodoru jest wykorzystywany w reakcji Trindera [86].

Jak już wcześniej stwierdziłam, wszystkie badane katechole: karbidopa, dopa, dopamina, kwas 3-(3,4-dihydroksyfenilo)propionowy i kwas 3-(3,4-dihydroksyfenilo)octowy hamowały także powstawanie chromoforu w tej reakcji redukując produkty pośrednie utlenienia substratów (najprawdopodobniej rodniki fenoksyłowe) (**Rysunek 32**).



Rysunek 32. Zmiany absorbancji przy 505 nm podczas utleniania 50 μM 4-aminoantypiryny i 1 mM fenolu ze 100 μM H_2O_2 przez 0,17 $\mu\text{g/ml}$ HRP w obecności karbidopy (A), L-dopy (B), dopaminy (C), kwasu 3-(3,4-dihydroksyfenylo)propionowego (D) i kwasu 3-(3,4-dihydroksyfenylooctowego) (E). Reakcje były prowadzone bez badanych związków (0) lub w ich obecności w stężeniach pokazanych obok każdej krzywej (H3) [83].

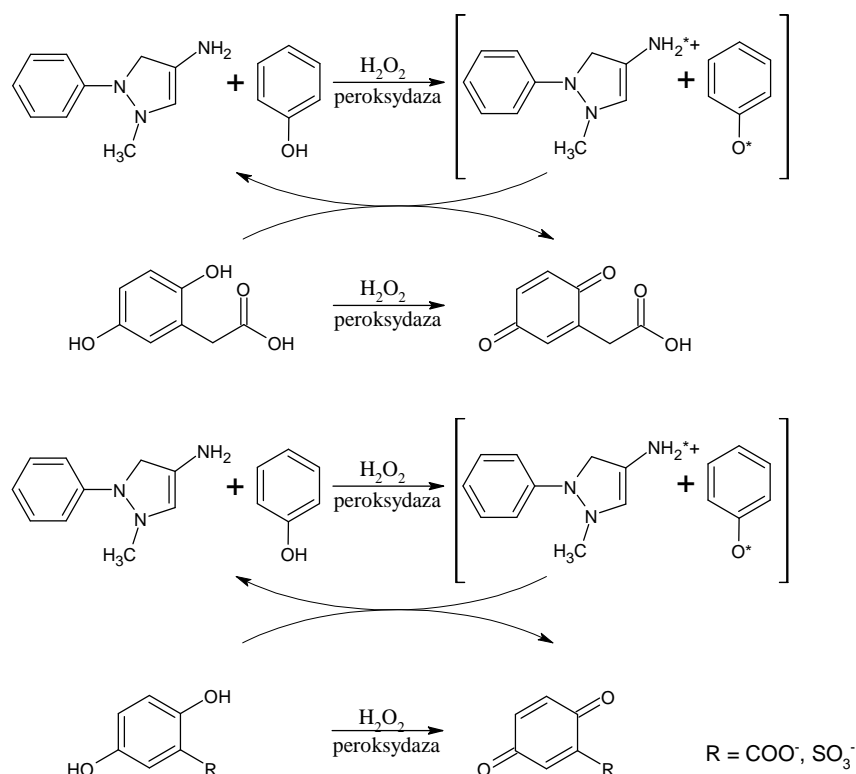
W literaturze opisano zakłócenia wyników enzymatycznych testów diagnostycznych przez związki o bardzo różnej strukturze. Należą do nich związki naturalne takie, jak np. kwas askorbinowy [87–93], bilirubina [94], dopamina [87,95,96], lewodopa [97,98], adrenalina i noradrenalina [97–99], kwas 4-hydroksyfenylopirogronowy [100], kwas homogentyzynowy [101] oraz wiele leków, np. tolozamid i gliklazyd [102], metylodopa [98], paracetamol [103], dobutamina [95,99] czy mesalazyna [104]. W badaniach przeprowadzonych w Brazylii stwierdzono, że spośród medykamentów znajdujących się na liście leków podstawowych aż 67,7% wpływało na wyniki przynajmniej jednego z podstawowych testów diagnostycznych

[105]. Wdrożenie nieodpowiedniego leczenia na podstawie zafałszowanych wyników niesie niebezpieczeństwo narażenia pacjenta na skutki uboczne stosowanych procedur medycznych [106]. Mechanizmy tych zakłóceń zostały wyjaśnione tylko w nielicznych przypadkach. Jeśli zestawimy te związki, to można stwierdzić, że wszystkie z nich posiadają silne właściwości redukujące.

Założyliśmy zatem, że mechanizm ich działania może być taki sam jaki wykazaliśmy dla katecholi (**H3**) [83], *p*-difenoli, dla których wykryto zakłócenia enzymatycznych testów diagnostycznych. Dlatego też razem z mgr Damianem Taraskiem, którego byłam promotorem pomocniczym przy jego pracy doktorskiej, zbadaliśmy wpływ na reakcję Trindera – kwasu homogentyzynowego (występującego w dużych ilościach we krwi i moczu u osób chorych na alkaptonurię), kwasu gentyzynowego (jednego z produktów metabolizmu aspiryny), dobesyłanu wapnia i etamsylatu (leki hemostatycznego) (**H4**) [107]. Wszystkie testowane *p*-difenole zakłócały tworzenie chromoforu antypirylochinoiminowego w standardowej reakcji Trindera (4-aminoantypiryna, fenol, H₂O₂ i HRP), jak opisano wcześniej dla komercyjnych testów diagnostycznych.

Po wykonaniu tych oznaczeń zaobserwowaliśmy różny wpływ tych związków na powstawanie chromoforu w reakcji Trindera. W przypadku kwasu homogentyzynowego, podobnie jak dla karbidopy, wzrost absorbancji przy 505 nm następował po fazie opóźnienia. Przy najwyższym stężeniu (80 μM) następowało całkowite zahamowanie reakcji. Dla pozostałych trzech *p*-difenoli nie było widocznych wyraźnych efektów opóźnienia, a szybkość tworzenia chromoforu była umiarkowana. Otrzymane wyniki sugerowały, że mechanizmy interferencji *p*-difenoli z reakcją Trindera były najprawdopodobniej różne. Kwas homogentyzynowy mógł działać jako konkurencyjny substrat, a bezpośrednie enzymatyczne utlenianie pozostałych związków było marginalne, a zatem ich wpływ wynikał przede wszystkim z redukcji rodnikowych produktów pośrednich, jak wykazaliśmy wcześniej dla katecholi.

Aby rozróżnić te mechanizmy zmierzaliśmy zużycie nadtlenku wodoru w tych reakcjach. Żaden z testowanych związków (*p*-difenoli) nie hamował zużycia nadtlenku wodoru kwas homogentyzynowy nieznacznie przyspieszał zużycie nadtlenku wodoru, a pozostałe związki nie miały wpływu na szybkość zużycia utleniacza. Wyniki te jednoznacznie potwierdziły, że wpływ na tworzenie chromoforu obserwowany podczas pomiarów spektrofotometrycznych nie wynika z hamowania enzymu, a jedynie redukcji rodnikowych produktów pośrednich (**Rysunek 33**).



Rysunek 33. Mechanizm zakłóceń reakcji Trindera powodowanych przez *p*-difenole (**H4**) [107].

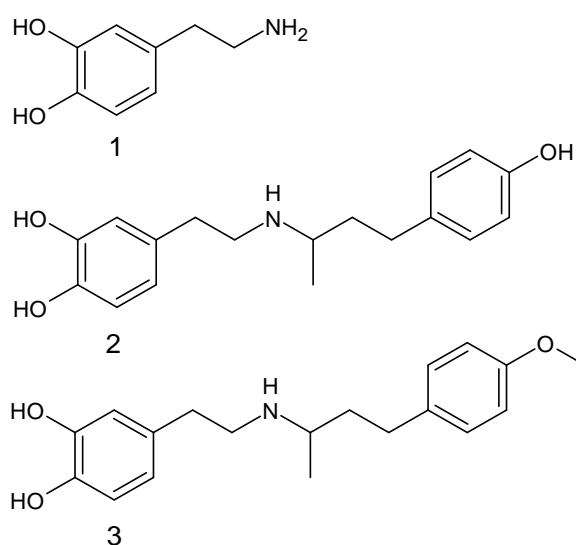
Powiązaliśmy te różnice w działaniu *p*-difenoli z ich potencjałami redoks, które zależą od struktury tych związków. Kwas homogentyzynowy (kwas 2,5-dihydroksyfenylooctowy) z lekko elektrodonorowym podstawnikiem alkilowym przy pierścieniu aromatycznym i najniższym potencjałem redoks powoduje więc silne zakłócenia, podczas gdy pozostałe związki posiadają elektroakceptorowy podstawnik karboksylowy (kwas gentyzynowy) lub sulfonowy (etamsylat i dobesilan wapnia) i dużo wyższe potencjały redoks powodują jedynie umiarkowany efekt (**H4**) [107].

Wpływ dopaminy i dobutaminy na reakcje z HRP (**H5**)

Podczas przeprowadzania badań zakłóceń enzymatycznych testów diagnostycznych przez dopaminę i dobutaminę wykorzystujących reakcję Trindera stwierdzono, że utlenianie dobutaminy przez peroksydazę chrzanową jest znacznie szybsze niż dopaminy [95,108]. Zaproponowano wówczas dwa różne mechanizmy działania tych dwóch związków i uznano, że dobutamina działa jako konkurencyjny substrat prowadząc do wyczerpania nadtlenu wodoru, natomiast dopamina reaguje z produktem utleniania 4-aminoantypiryny tworząc chromofor

o znacznie mniejszym współczynniku absorpcji przy długości fali używanej do pomiaru absorbancji (505 nm) [95].

Porównując struktury związków można zauważyć, że dobutamina jest związkiem o wiele większym od dopaminy, oprócz grupy katecholowej zawiera również grupę fenolową na przeciwległym końcu cząsteczki (układ 4-hydroksyfenyloizobutyloowy przyłączony do grupy aminowej łańcuchem alkiowym dłuższym o jeden atom węgla niż łańcuch alkiowy łączący grupę aminową i katecholową), która stanowi kolejny, potencjalny substrat dla peroksydazy chrzanowej. Dlatego też podczas pracy doktorskiej mgr Damiana Taraska w której byłam promotorem pomocniczym zaproponowaliśmy, że część fenolowa jest utleniana enzymatycznie, a rodnik fenoksylowy, podobnie jak rodniki uzyskane z innych substratów fenolowych, utlenia grupę katecholową, co prowadzi do powstania chromoforu typu aminochromu (**H3**) [83]. Zaproponowany wcześniej mechanizm działania dopaminy wydawał się więc niezgodny z tymi wynikami. Po wnikliwej wspólnej analizie z doktorantem postanowiliśmy go zweryfikować przeprowadzając pod moim kierunkiem dokładną analizę utleniania dopaminy i dobutaminy przez HRP (**Rysunek 34**).



Rysunek 34. Struktury badanych związków:

dopaminy, (4-(2-aminoetylo)benzeno-1,2-diolu) - **1**

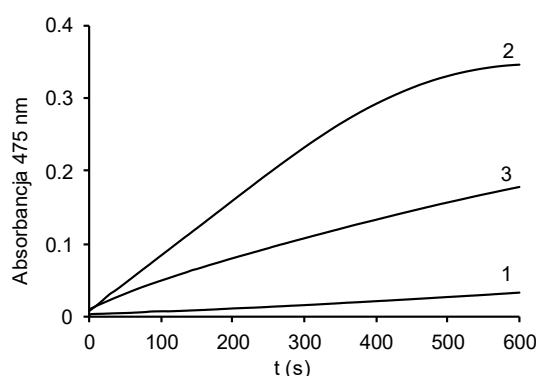
dobutaminy, ((*RS*)-4-(2-{[4-(4-hydroksyfenylo)butan-2-ylo]amino }etylo)benzeno-1,2-diolu) - **2**

i metylowanego analogu dobutaminy, ((*RS*)-4-(2-{[4-(4-metoksyfenylo)butan-2-ylo]amino }etylo)-benzeno-1,2-diolu - **3 (H5)** [109] [109].

Uznaliśmy, że ze względu na różnicę odległości od grupy aminowej grupa fenolowa może być utleniana szybciej niż grupa katecholowa, a następnie powstający rodnik fenoksylowy może utleniać grupę katecholową. Takie pośrednie utlenianie katecholi przez

peroksydazy zostało już wcześniej opisane dla adrenaliny, której utlenianie przez HRP, MPO i LPO było przyspieszane w obecności substratów fenolowych, takich jak tyroksyna i jej pochodne [110,111]. Podobne zjawisko zaobserwowano dla L-dopy, której utlenianie przez LPO było stymulowane w obecności tyrozyny, a jej utlenienie przez peroksydazę z bobu (*Vicia faba*) było stymulowane w obecności kwasów hydroksycynamonowych i ich estrów [112,113].

W odróżnieniu od tamtych systemów w cząsteczce dobutaminy ugrupowanie działające jako potencjalny przenośnik elektronów (ugrupowanie fenolowe) i działające jako końcowy donor elektronów (ugrupowanie katecholowe) znajdują się w jednej cząsteczce. Aby ustalić rolę ugrupowania fenolowego w utlenianiu ugrupowania katecholowego mgr Damian Tarasek zsyntezował analog dobutaminy z grupą fenolową zablokowaną przez metylację a ja przeprowadziłam analizę spektrofotometryczną tego związku porównując go z dopaminą i dobutaminą (**H5**) [109]. Zablokowanie grupy fenolowej spowodowało znaczny spadek szybkości utleniania grupy katecholowej, jednak utlenienie pochodnej dobutaminy nadal następowało szybciej niż utlenianie dopaminy (**Rysunek 35**).

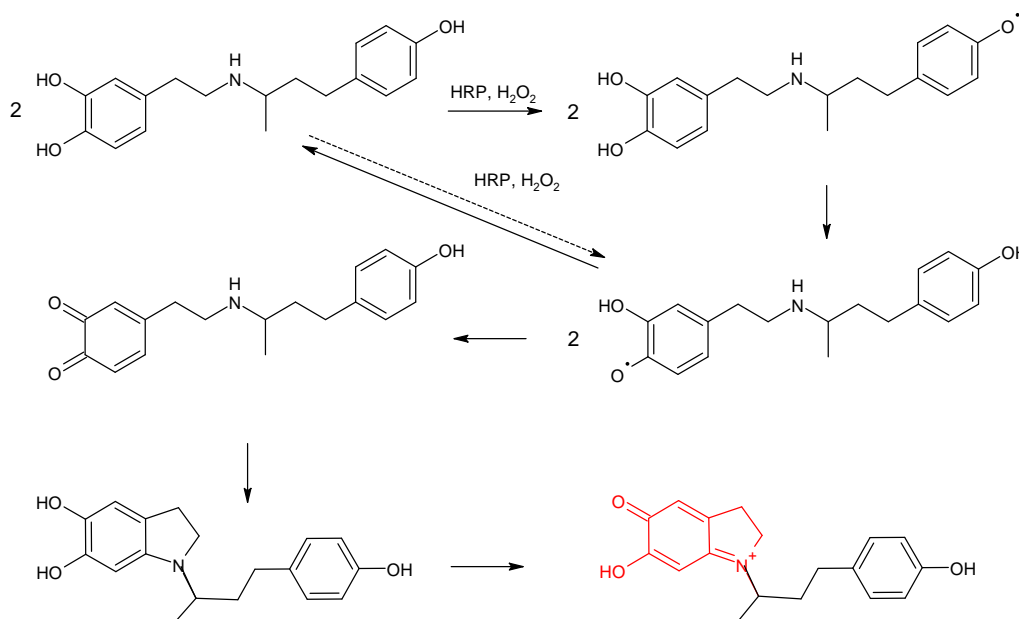


Rysunek 35. Utlenianie dopaminy, dobutaminy oraz metyloвого analogu dobutaminy przez HRP. Absorbancja była monitorowana przy 475 nm dla reakcji 100 μM dopaminy (1), przy 485 nm dla reakcji 100 μM dobutaminy (2) i 100 μM metylowanego analogu dobutaminy (3) z 200 μM H_2O_2 i 0,5 $\mu\text{g/ml}$ (0,1 U/ml) HRP (**H5**) [109].

Wyznaczone przeze mnie szybkości utleniania wynosiły odpowiednio 0,54 $\mu\text{M}/\text{min}$ dla dopaminy, 5,98 $\mu\text{M}/\text{min}$ dla metylowanej pochodnej dobutaminy i 10,20 $\mu\text{M}/\text{min}$ dla dobutaminy. Drugim czynnikiem wpływającym na szybkość reakcji okazała się stała Michaelisa, która dla dobutaminy i jej metylowanego analogu była kilkakrotnie mniejsza niż dla dopaminy. Zaproponowany przez nas mechanizm utleniania dobutaminy przez HRP przedstawiony jest na **Rysunku 36**.

Szybsze utlenienie metylowanej pochodnej dobutaminy niż dopaminy pokazuje, że duży podstawnik hydrofobowy przyłączony do grupy aminowej w cząsteczce dobutaminy ma

duże znaczenie dla wiązania się tego związku do centrum katalicznego HPR. Odzwierciedlają to wartości K_m tych reakcji.



Rysunek 36. Mechanizm utleniania dobutaminy przez peroksydazę chrzanową.

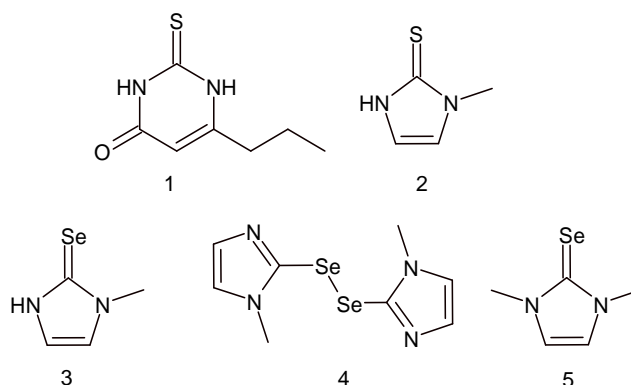
W wyniku preferencyjnego utleniania grupy fenolowej powstaje rodnik fenoksyłowy. Następnie dwa takie rodniki utleniają katechol do *o*-chinonu, najprawdopodobniej z wystąpieniem rodnika semichinonowego jako stanu pośredniego. Semichinon może również powstawać w bezpośredniej reakcji utleniania ugrupowania katecholowego przez HRP (strzałka przerywana), jednak z szybkością mniejszą niż utlenienie ugrupowania fenolowego. W rezultacie reakcji dysproporcjonowania semichinonów odtwarzany jest substrat i powstaje amino-*o*-chinonu, który ulega reakcji cyklizacji. Związek ten po utlenieniu przez rodnik i/lub *o*-chinon przekształca się w chromofor typu adrenochromu (czerwony) (H5) [109].

Z uzyskanych przeze mnie i przez doktoranta pomiarów kinetycznych wynikało, że oddziaływanie substratu z enzymem jest bardzo istotne z punktu widzenia utleniania badanych związków. Dlatego też po wspólnych konsultacjach postanowiliśmy wykonać dokowanie molekularne do centrum aktywnego HPR. Wyniki dokowania molekularnego dobutaminy do centrum aktywnego HRP które zostały wykonane przez mgr Damiana Taraska wykazały, że długość łańcucha alkilowego łączącego pierścienie aromatyczne z grupą aminową miała zasadnicze znaczenie dla odległości pomiędzy grupą utlenianą (fenol lub katechol) a kofaktorem hemowym w centrum aktywnym enzymu. Odległość ta była o ponad 2 Å mniejsza dla grupy fenolowej, co, zgodnie z równaniem Marcusa, tłumaczy jej szybsze utlenianie [114]. Różnice w odległościach wynikały z zakotwiczenia grup funkcyjnych łańcucha bocznego działających jako donory wiązania wodorowego (grupy aminowe lub hydroksylowe) w pobliżu wejścia do centrum aktywnego (Ala136-Pro139).

Wspólnie uzyskane przez nas wyniki wyjaśniły różnice w szybkościach utleniania przez peroksydazę chrzanową wiele substratów z różnymi grupami funkcyjnymi w łańcuchach bocznych (grupy aminowe, hydroksylowe, karboksylowe czy amidowe) (H5) [109].

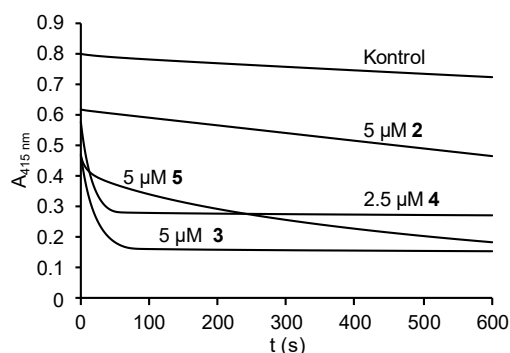
Utlenianie leków przeciwtarczycowych i ich selenowych analogów przez kationorodnik ABTS (H7)

Inhibicję peroksydaz ssaków opisano także dla wielu innych związków o właściwościach redukujących. Takie właściwości przypisano między innymi selenowym analogom leków przeciwtarczycowych. Inhibitory peroksydazy tarczycowej (TRP) stosowane są w leczeniu nadczynności tarczycy od ponad 70 lat. Mechanizmy ich działania zostały dokładnie zbadane. Metimazol oraz 6-*n*-propylo-2-tiouracyl hamują TRP, a 6-*n*-propylo-2-tiouracyl dodatkowo hamuje dejodynazę jodotyroniny typu 1 zmniejszając w ten sposób powstawanie trójjodotyroniny z tyroksyny w tkankach obwodowych [115]. Hamowanie jodowania tyrozyny przez leki przeciwtarczycowe obejmuje dwa mechanizmy: nieodwracalną inaktywację TRP występującą głównie przy wysokich stosunkach leku do jodku oraz redukcję utlenionej formy jodu występującą przy niskich stosunkach leku do jodku [116–121]. Ponieważ peroksydaza tarczycowa jest enzymem trudnym do izolacji, w badaniach modelowych najczęściej stosuje się dostępną komercyjnie laktoperoksydazę wołową. Wykazuje ona podobną aktywność co peroksydaza tarczycowa, i jak ona może utleniać jony bromkowe, jodkowe, czy rodankowe. Związki hamujące działanie TRP również wykazują taką właściwość w stosunku do LPO. Najczęściej jako substratu laktoperoksydazy wykorzystuje się w badaniach kwas 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowy) (ABTS). Tak było między innymi w badaniach, które wykazywały wpływ selenowych analogów leków przeciwtarczycowych na aktywność LPO [122–126] (*Rysunek 37*).



Rysunek 37. Struktury leków przeciwtarczycowych i selenowych pochodnych metimazolu: 6-*n*-propylo-2-tiouracyl (1), metimazol (2), 1-metylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selon (3), 1,2-bis(1-metylo-1*H*-imidazol-2-ylo)diselenid (4), 1,3-dimetylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selon (5) (**H7**) [127].

Na wstępie doktorant Damian Tarasek wykonał reakcję leków przeciwtarczycowych i selenowych pochodnych metimazolu z wygenerowanym chemicznie kationorodnikiem ABTS. Założyliśmy, że taka reakcja może zachodzić, ponieważ redukcja kationorodnika ABTS ($\text{ABTS}^{+\cdot}$) przez tiole jest znana już od dawna [128,129]. Wszystkie związki szybko reagowały z $\text{ABTS}^{+\cdot}$, a przebieg tych reakcji był różny (**Rysunek 38**).

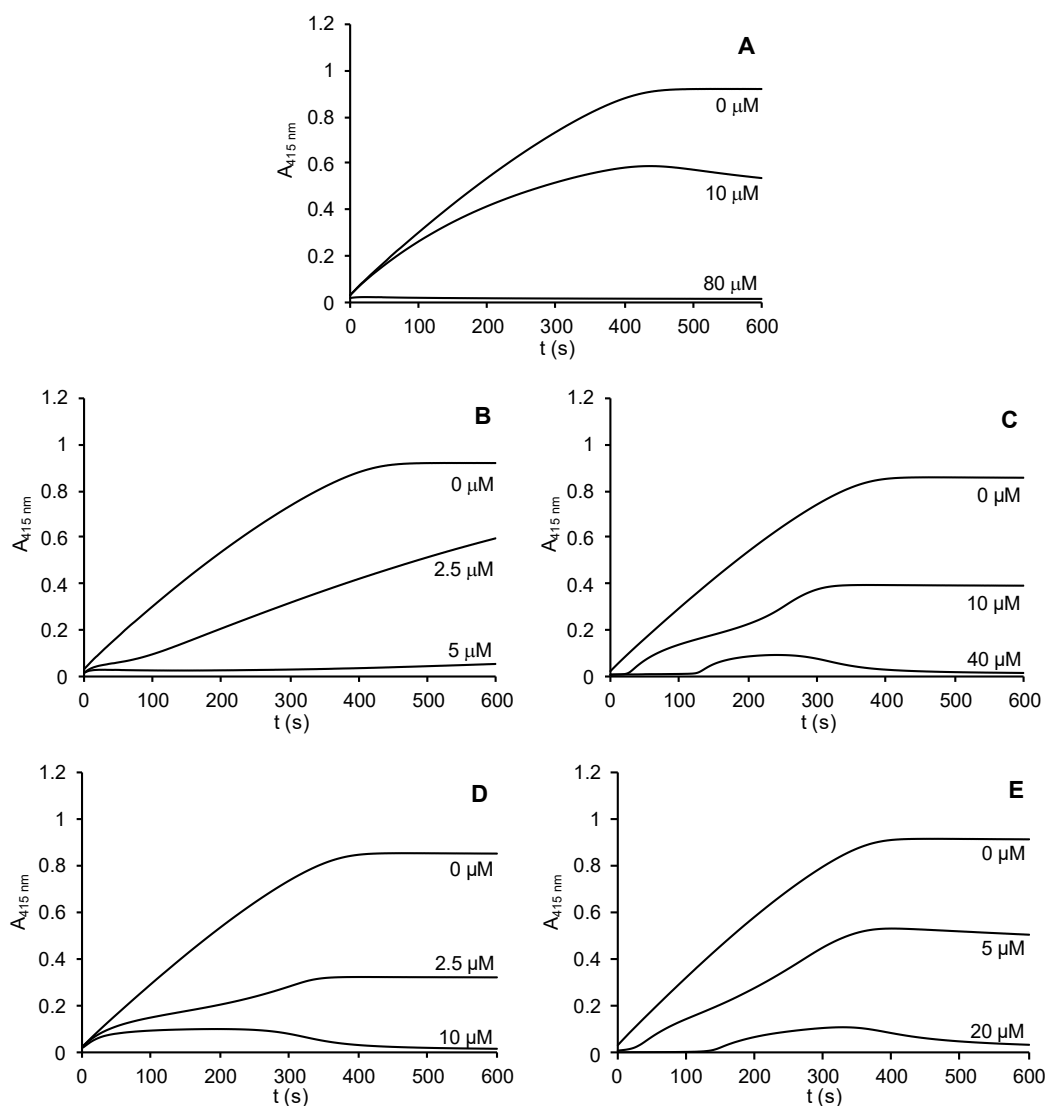


Rysunek 38. Redukcja kationorodnika ABTS przez metimazol (2), 1-metylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selon (3), 1,2-bis(1-metylo-1*H*-imidazol-2-ylo)diselenid (4), 1,3-dimetylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selon (5). Mieszanki reakcyjne zawierały 25 μM $\text{ABTS}^{+\cdot}$ i badane związki w stężeniach podanych nad każdą krzywą (**H7**) [127].

Dodatek metimazolu powodował natychmiastowe obniżenie absorbancji odpowiadające redukcji około 1,2 równoważnika $\text{ABTS}^{+\cdot}$. Zachowanie selenowych analogów metimazolu było inne niż metimazolu. Dodatek 1-metylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selonu i 1,2-bis(1-metylo-1*H*-imidazol-2-ylo)diselenidu do $\text{ABTS}^{+\cdot}$ spowodowało gwałtowny spadek absorbancji odpowiadający około odpowiednio 4 i 6 równoważnikom $\text{ABTS}^{+\cdot}$. Dalej absorbancja

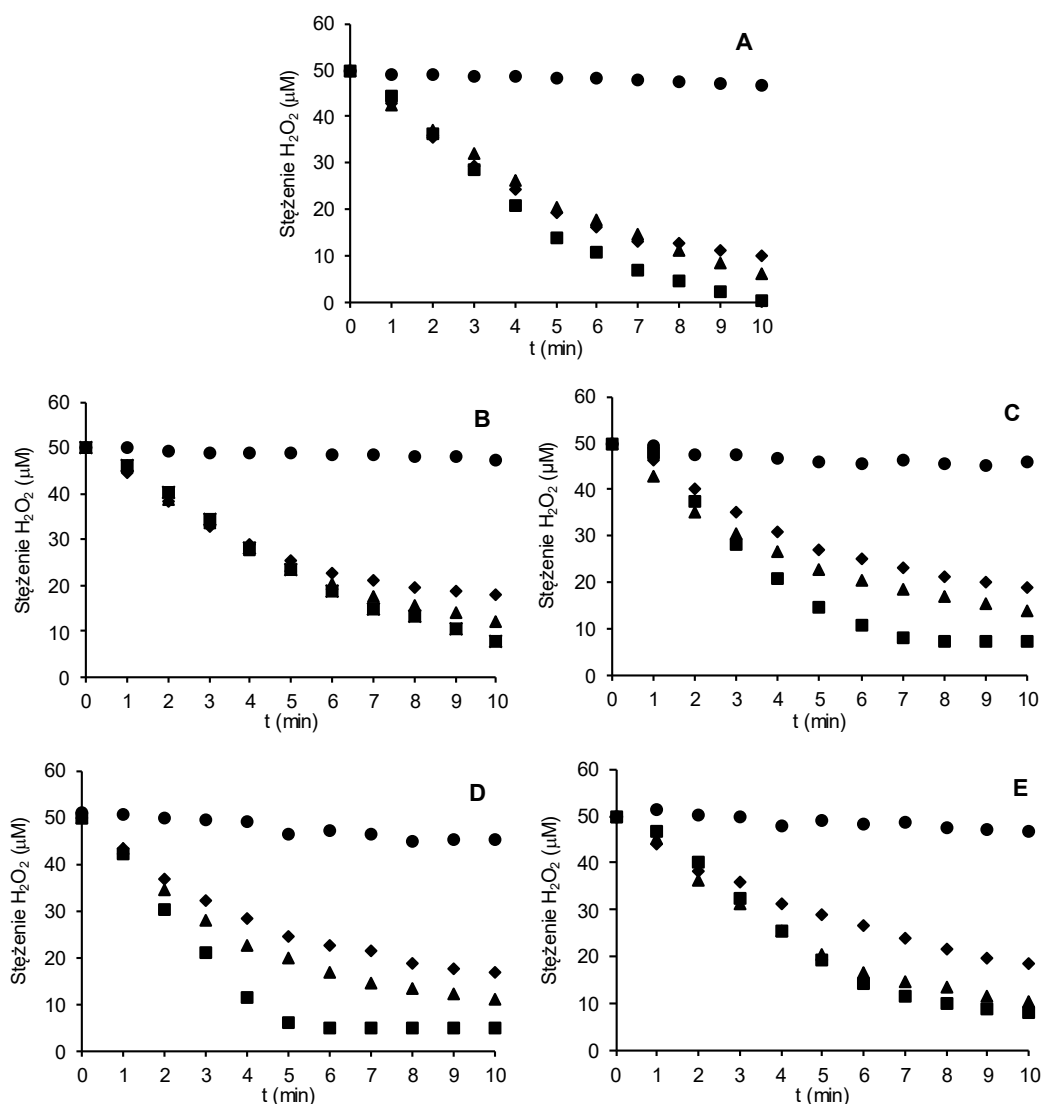
pozostawała stabilna do momentu zakończenia pomiaru. Dla pochodnej dimetylowej - 1,3-dimetylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selonu, gwałtowny spadek absorbancji odpowiadał około 2 równoważnikom ABTS^{•+}, po czym następował dalszy, ale znacznie wolniejszy, spadek, aż absorbancja osiągnęła wartość podobną do reakcji z 1-metylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selonem.

Wspólnie z Damianem Taraskiem oraz magistrantką Martyną Mytnik przeprowadziliśmy badanie wpływu związków zsyntezowanych przez dr inż. Bożenę Frąckowiak-Wojtasek na utlenianie ABTS przez laktoperoksydazę oraz peroksydazę chrzanową. Rozpoczęliśmy od spektrofotometrycznego monitorowania tworzenia kationorodnika ABTS. Wyniki okazały się podobne do tych, które zostały opublikowane w 2004 i 2005 - następowało zahamowanie tworzenia tego produktu ABTS [124,125], jednak zakres stężeń dających podobne zahamowanie tworzenia kationorodnika ABTS był różny dla każdego związku (**Rysunek 39**).



Rysunek 39. Pomiary spektrofotometryczne utleniania ABTS przez LPO w obecności badanych związków. Reakcje prowadzono z 100 μM ABTS, 12,5 μM H_2O_2 i 0,5 $\mu\text{g/ml}$ ($\geq 0,1$ U/ml) LPO w nieobecności badanych związków (0 μM) lub w ich obecności w stężeniach podanych obok każdej krzywej: A – 6-*n*-propylo-2-tiouracyl, B – metimazol, C – 1-metylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selon, D – 1,2-bis(1-metylo-1*H*-imidazol-2-ylo)diselenid, E – 1,3-dimetylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selon. Mniejsza skuteczność związku 3 może wynikać z jego utleniania tlenem atmosferycznym (**H7**) [127].

Zbadaliśmy również wpływ badanych związków na zużycie nadtlenu wodoru. Nie znaleźliśmy korelacji między uzyskanymi wynikami a zmianami absorbancji. Pomiary te wykazały, że badane związki nie tylko nie hamowały szybkości reakcji, ale ją nawet nieznacznie zwiększały (**Rysunek 40**).

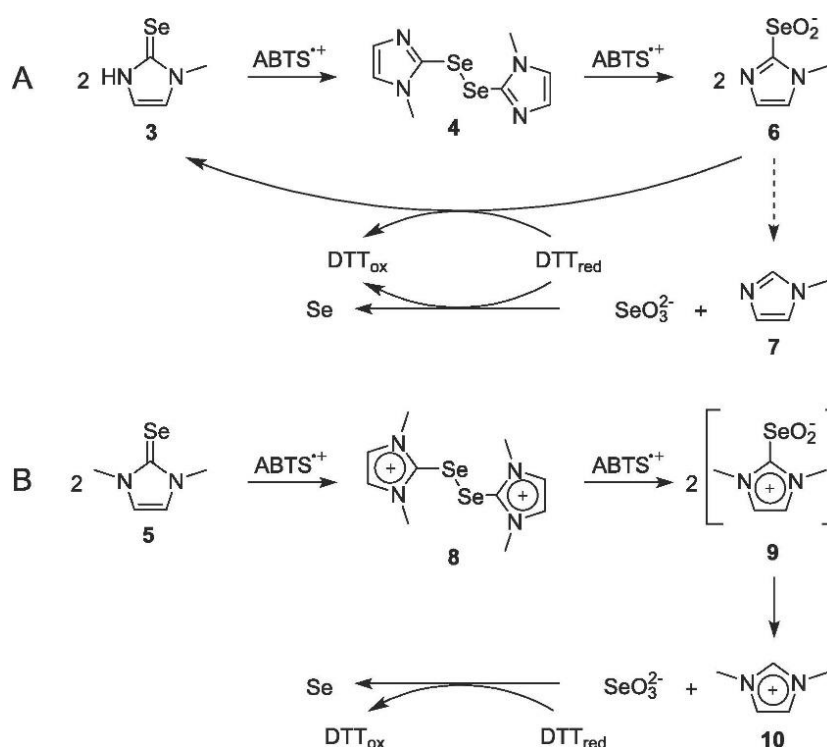


Rysunek 40. Pomiaru zużycia nadtlenu wodoru podczas utleniania ABTS przez LPO w obecności badanych związków. Reakcje prowadzono ze 100 μM ABTS, 50 μM H₂O₂ i 0,5 μg/ml (≥0,1 U/ml) LPO w nieobecności badanych związków (◆) lub w ich obecności w stężeniach dających w przybliżeniu połowę (▲) i całkowite (■) hamowanie tworzenia ABTS^{•+}. Zastosowano następujące stężenia badanych związków: 10 μM i 80 μM dla 6-*n*-propylo-2-tiouracylu (A), 2,5 μM i 5 μM dla metimazolu (B), 10 μM i 40 μM 1-metylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selonu (C), 2,5 μM i 10 μM dla 1,2-bis(1-metylo-1*H*-imidazol-2-ylo)diselenidu (D), 5 μM i 20 μM dla 1,3-dimetylo-1,3-dihydro-2*H*-imidazolo-2-selonu. Dla porównania pokazane są także wyniki dla mieszanin 50 μM badanych związków z 50 μM H₂O₂ (●) (H7) [127].

Po raz kolejny wykazaliśmy więc, że stosowanie wyłącznie pomiarów spektrofotometrycznych w badaniach inhibicji oksydoreduktaz może doprowadzić do błędnej interpretacji wyników, a zaobserwowana inhibicja była pozorna. Podczas utleniania ABTS przez LPO i HRP selenowe pochodne metimazolu nie są utleniane przez enzym, ani nadtlenek wodoru jak to poprzednio postulowano [125,130], ale przede wszystkim przez kationorodnik

ABTS. Jest to zgodne z mechanizmem, jaki został ustalony dla działania metimazolu [131,132] i innych leków przeciwtarczycowych oraz z redukcją rodników generowanych przez peroksydazę przez inne grupy związków, jak np. katechole i *p*-difenole, co przedstawiliśmy we wcześniejszych pracach (**H4** i **H5**) [107,109].

W toku tych badań zidentyfikowaliśmy również wszystkie produkty pośrednie i końcowe reakcji utleniania selenoimidazoli przez peroksydazy co przedstawiono poniżej (**Rysunek 41**).



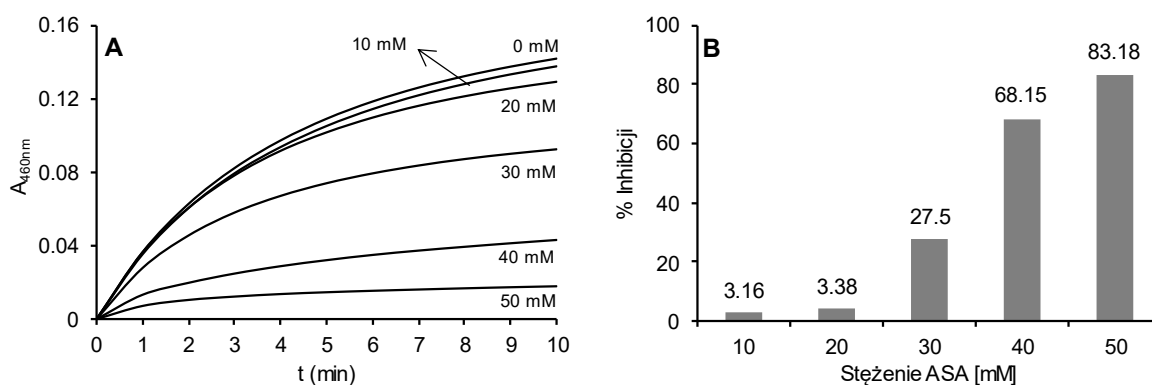
Rysunek 41. Reakcje utleniania selenoimidazoli przez kationorodnik ABTS i redukcji produktów ich utlenienia przez ditiotreitol (DTT) (**H7**) [127].

Wpływ kwasu acetylosalicylowego na aktywność mieloperoksydazy (**H8**)

Peroksydazom ssaków przypisuje się bezpośredni lub pośredni udział w wywoływaniu niektórych chorób, takich jak choroba Parkinsona, choroba wieńcowa, choroby skóry czy nowotwory [133]. W 2010 roku opisano, że w osoczu pacjentek z nowotworami złośliwymi narządów rodnych stwierdzono podwyższony poziom MPO [134]. Podjęłam więc próbę wyjaśnienia roli tego enzymu w powstawaniu raka jajnika. Badania te prowadziłam we współpracy z ppłk. dr. hab. n. med. Lubomirem Bodnarem, prof. UPH (obecnie dyrektorem Siedleckiego Centrum Onkologii). Współpraca ta zaowocowała również trzema wspólnymi publikacjami. Jedna z tych prac, która ukazała się w 2023 roku (**H8**) obejmowała badania

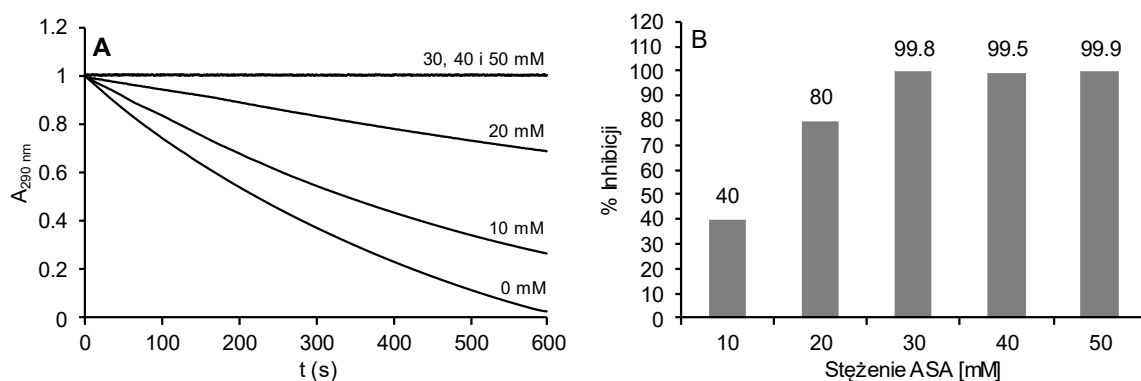
wpływu kwasu acetylosalicylowego (ASA) na reakcje katalizowane przez mieloperoksydazę jednego z niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Przyjmowanie tego leku może wpłynąć na dłuższe przeżycie u osób chorujących na nowotwory przewodu pokarmowego, w tym raka jelita grubego, który jest trzecim najczęściej występującym nowotworem na świecie [135–137]. Ponadto zaobserwowano dłuższe przeżycie u pacjentek ze zdiagnozowanym rakiem jajnika, które regularnie przyjmowały ASA w porównaniu z pacjentkami, które nigdy tego leku nie przyjmowały [138,139]. Pierwsze doniesienia o możliwości wykorzystania tych związków w terapii nowotworowej pojawiły się w latach 80. XX wieku. Po raz pierwszy w 1983 roku Pollard i Luckett wykazali, że podawanie NLPZ przez kilka tygodni zmniejsza liczbę i wielkość guzów jelita grubego u szczurów [140].

Badania, które wykonałam z Kingą Sosnowską, której byłam promotorem pracy licencjackiej oraz magisterskiej, rozpoczęłam od sprawdzenia, czy kwas acetylosalicylowy może być substratem dla mieloperoksydazy. Po stwierdzeniu, że nie jest on substratem tego enzymu rozpoczęliśmy analizę jego wpływu na aktywność peroksydacyjną i chlorującą MPO. Rozpoczęliśmy od spektrofotometrycznego monitorowania reakcji utleniania *o*-dianizydyny, rejestrując zmiany absorbancji przy 460 nm (**Rysunek 42**). Okazało się, że ASA znacząco zmniejszał szybkość tworzenia produktu utleniania tego substratu. Na podstawie tych wyników wyznaczyliśmy udział procentowy inhibicji (**Rysunek 42 B**).



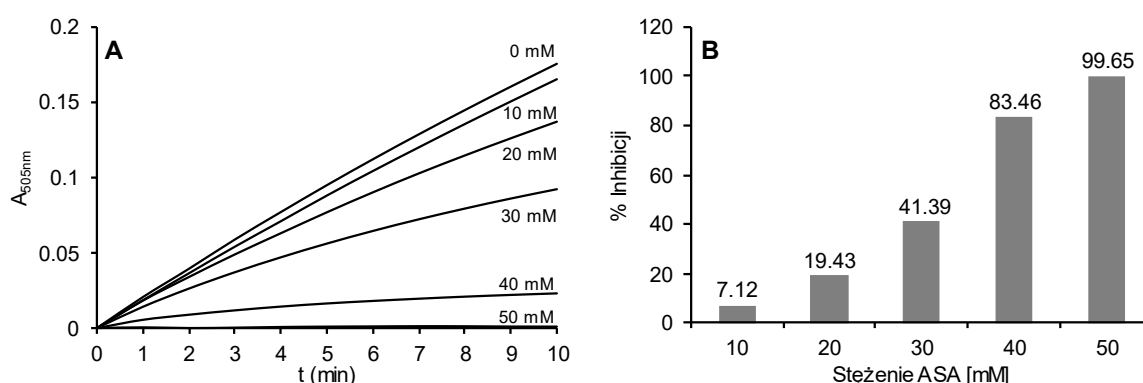
Rysunek 42. Krzywe postępu reakcji przy długości fali 460 nm mierzone podczas enzymatycznego utleniania 130 μM *o*-dianizydyny w obecności 60 μM H_2O_2 bez ASA i w obecności 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM i 50 mM ASA (A). % hamowania poszczególnych stężeń ASA po enzymatycznym utlenieniu 130 μM *o*-dianizydyny w obecności 60 μM H_2O_2 i po dodaniu 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM i 50 mM ASA (B). Stężenie mieloperoksydazy we wszystkich reakcjach wynosiło 5 $\mu\text{g/ml}$ (0,25 U/ml) (**H8**) [141].

W dalszym etapie razem z dyplomantką sprawdziliśmy jak ASA wpływa na aktywność chlorującą MPO w reakcji chlorowania monochlorodimedonu do dichlorodimedonu, którego absorbcję mierzyliśmy przy 290 nm. Również w tym przypadku zaobserwowałyśmy znaczny spadek szybkości reakcji w obecności ASA (**Rysunek 43A**). Podobnie jak w przypadku reakcji z *o*-dionizydyną wyznaczyliśmy udział procentowy inhibicji (**Rysunek 43B**).



Rysunek 43. Krzywe postępu reakcji przy 290 nm mierzone podczas enzymatycznego utleniania 50 μM monochlorodimedonu w obecności 100 mM NaCl i 50 μM H_2O_2 bez ASA oraz w obecności 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM i 50 mM ASA (A). % hamowania dla poszczególnych stężeń ASA po enzymatycznym utlenieniu 50 μM monochlorodimedonu w obecności 100 mM NaCl i 50 μM H_2O_2 i po dodaniu 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM i 50 mM ASA (B). Stężenie mieloperoksydazy we wszystkich reakcjach wynosiło 5 $\mu\text{g/ml}$ (0,25 U/ml) (**H8**) [141].

Zbadaliśmy również wpływ ASA na reakcję Trindera. Otrzymane wyniki również były bardzo zbliżone do tych jakie otrzymałyśmy w reakcji z *o*-dionizydyną (**Rysunek 44 A i B**).



Rysunek 44. Krzywe postępu reakcji przy 505 nm mierzone podczas enzymatycznego utleniania 50 μM 4-aminoantypiryny, 1 mM fenolu, 100 μM H_2O_2 bez ASA i w obecności 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM i 50 mM ASA (A). % hamowania dla poszczególnych stężeń ASA po enzymatycznym utlenieniu 50 μM 4-aminoantypiryny, 1 mM fenolu, 100 μM H_2O_2 i po dodaniu 10 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM i 50 mM ASA (B). Stężenie mieloperoksydazy wynosiło 2,5 $\mu\text{g/ml}$ (0,125 U/ml) we wszystkich reakcjach (**H8**) [141].

Zahamowanie aktywności mieloperoksydazy świadczy o tym, że kwas acetylosalicylowy jest inhibitorem tego enzymu i może wyciszać jego działanie w organizmie, co może przyczynić się do redukcji niekorzystnego wpływu MPO na organizm (**H8**) [141].

4.4. Podsumowanie osiągnięcia naukowego, będącego podstawą postępowania habilitacyjnego

Motywytem przewodnim prowadzonych przeze mnie badań i opisanych w pracach wchodzących w skład cyklu stanowiącego osiągnięcie habilitacyjne (od **H1** do **H9**) była analiza wpływu związków o właściwościach redukujących na reakcje katalizowane przez oksydoreduktazy o dużym znaczeniu praktycznym, szczególnie tyrozynazy, MPO i HPO. Wykazałam, że często postulowana inhibicja oksydoreduktaz jest tylko pozorna, ponieważ wiele związków hamuje powstawanie chromoforów będących produktami utleniania modelowych substratów tych enzymów.

Uzyskane wyniki i wnioski pozwalają na wyszczególnienie najważniejszych osiągnięć odpowiadających przedstawionym wcześniej celom:

1. Wykazałam, że zsyntezowana pochodna iperytu azowego – *N*-{4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-*N'*-(4-hydroksybenzylo)hydrazyna, pod wpływem utleniania ulegała cyklizacji i nie uwalniała efektora. W wyniku przeprowadzonych przeze mnie badań (pomiarów spektrofotometrycznych, pomiarów zużycia tlenu, analizę mieszanin reakcyjnych metodą HPLC, metodą HPLC oraz metodą MS) okazało się, że głównym produktem utleniania potencjalnego proleku przeciwko czerniakowi(*N*-{4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-*N'*-(4-hydroksybenzylo)hydrazyny) był 4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoesan 5,6-dihydroksy-1H-indazol-1-ylu, który powstawał w wyniku ataku nukleofilowego zacylowanego atomu azotu łącznika hydrazynowego na wygenerowany enzymatycznie *o*-chinon (**H1**).
2. Wykazałam, że naturalne polifenole, takie jak flawonoidy, z których większość posiada właściwości przeciwutleniające, a co za tym idzie właściwości redukujące nie są inhibitorami dla tyrozynazy. W literaturze tematu związki o takich właściwościach na podstawie tylko i wyłącznie analiz spektroskopowych są opisywane, jako te, które mogą hamować aktywność enzymatyczną. Uzyskane przeze mnie wyniki wzbogacone dodatkowo o pomiary zużycia tlenu oraz analizę mieszanin reakcyjnych metodą HPLC dowiodły, że w rzeczywistości przebadane flawonoidy (kwercetyna, kemferol, morina, katechina, naringenina, bajkaleina,

kwasy galusowy, epigallokatechina, 3-galusan epigallokatechiny) nie wykazują właściwości inhibitujących. Flawonoidy z układem katecholowym w pierścieniu B i C powodowały zahamowanie powstawania dopachromu redukując dopachinon, natomiast flawonoidy bez takiego układu grup funkcyjnych takich właściwości nie posiadają. Badania te mają istotne znaczenie np. w medycynie alternatywnej, kiedy to poszukuje się naturalnych produktów, które hamują procesy chorobotwórcze z udziałem enzymów (**H2, H6 i H9**).

3. Wykazałam, że związki naturalne i leki zawierające ugrupowanie katecholowe, jak na przykład karbidopa, L-dopa i dopamina wpływają na wyniki pomiarów spektrofotometrycznych w reakcjach katalizowanych przez peroksydazy w trzech układach substrat/enzym (*o*-dianizydyna/MPO, ABTS/LPO, 4-aminoantypiryna, fenol/HRP). Przeprowadzone przeze mnie badania dowiodły, że we wszystkich układach zakłócenia te były głównie powodowane redukcją rodnikowych produktów utleniania substratów przez ugrupowanie katecholowe. Testowane związki redukowały produkty lub półprodukty utleniania modelowych substratów zapobiegając tworzeniu chromoforu. W przypadku układu 4-aminoantypiryna, fenol/HRP zakłócenia te mają ogromne znaczenie praktyczne, ponieważ związek ten jest powszechnie stosowany w badaniach laboratoryjnych i może wpływać na interpretację wyników badań diagnostycznych w próbkach pobranych od pacjentów (**H3, H4, H5**).
4. Wykazałam, że leki przeciwtarczycowe, jak metimazol oraz jego selenowe pochodne w reakcjach z peroksydazami hamowały powstawanie kationorodnika ABTS. Peroksydazy utleniają ABTS do niestabilnego rodnika ABTS^{•+} który łatwo ulega redukcji. Wykonując nie tylko pomiary spektrofotometryczne, ale pomiary zużycia nadtlenu wodoru i analizę mieszanin reakcyjnych metodą HPLC wykazałam, że badane związki nie wykazują wpływu na szybkość reakcji, a obserwowana inhibicja jest tylko pozorna (**H7**).
5. Wykazałam, że kwas acetylosalicylowy jako jeden z przedstawicieli niesteroidowych leków przeciwzapalnych bardzo często stosowany jako lek przeciwbólowy i przeciwgorączkowy znacząco wpływa na aktywność mieloperoksydazy, enzymu, którego nadprodukcję obserwuje się w różnego typu schorzeniach, w tym różnego typu nowotworach (**H8**).

4.5. Perspektywy badawcze

Badania, które realizowałam w ramach prezentowanego osiągnięcia naukowego wykazują duży potencjał badawczy. Udział licznych enzymów w szczególności oksydoreduktaz jest bardzo istotny w diagnostyce chorób, prognozowaniu oraz ich leczeniu. Poprzez analizę aktywności enzymów i zmian składu niektórych substancji w płynach ustrojowych można zdiagnozować wiele chorób powstających w naszym organizmie. Ten temat szczególnie budzi moje zainteresowanie, a także poszukiwanie nowych związków (naturalnych lub syntetycznych), które mogłyby być nowymi, potencjalnymi inhibitorami dla tego typu enzymów. Ta tematyka jest bardzo ważna z medycznego widzenia oraz społecznego. Dzięki nawiązanej wiele lat temu ścisłej współpracy z Katedrą Onkologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, Siedleckim Centrum Onkologii, Katedrą Inżynierii i Biologii Systemów Centrum Biotechnologii Politechniki Śląskiej w Gliwicach oraz Wydziałem Lekarskim i Katedrą Biotechnologii Uniwersytetu Opolskiego planuję realizację nowych pomysłów badań związanych z szerokim działaniem oksydoreduktaz. Moje wieloletnie doświadczenie w izolacji enzymów, izolacji produktów reakcji enzymatycznych oraz wiedza z zakresu różnego typu metod (spektrofotometrii, elektrochemii, chromatografii, w tym metody HPLC) chciałabym połączyć z wiedzą onkologów, biologów i biotechnologów aby uzupełnić i wzbogacić zaplanowane badania o te właśnie metody.

Wszystkie jednostki z którymi współpracuję z dużym zainteresowaniem i entuzjazmem podchodzą do moich pomysłów badawczych i deklarują chęć udziału w realizacji tych projektów.

4.6. Bibliografia

- [1] V.J. Hearing, M. Jiménez, Mammalian tyrosinase—The critical regulatory control point in melanocyte pigmentation, *International Journal of Biochemistry* 19 (1987) 1141–1147. [https://doi.org/10.1016/0020-711X\(87\)90095-4](https://doi.org/10.1016/0020-711X(87)90095-4).
- [2] Á. Sánchez-Ferrer, J. Neptuno Rodríguez-López, F. García-Cánovas, F. García-Carmona, Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* 1247 (1995) 1–11. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(94\)00204-T](https://doi.org/10.1016/0167-4838(94)00204-T).
- [3] S.-Y. Seo, V.K. Sharma, N. Sharma, Mushroom Tyrosinase: Recent Prospects, *J Agric Food Chem* 51 (2003) 2837–2853. <https://doi.org/10.1021/jf020826f>.
- [4] S.-Y. Seo, V.K. Sharma, N. Sharma, Mushroom Tyrosinase: Recent Prospects, *J Agric Food Chem* 51 (2003) 2837–2853. <https://doi.org/10.1021/jf020826f>.

- [5] E.I. Solomon, U.M. Sundaram, T.E. Machonkin, Multicopper Oxidases and Oxygenases, *Chem Rev* 96 (1996) 2563–2606. <https://doi.org/10.1021/cr950046o>.
- [6] C.W. van Gelder, W.H. Flurkey, H.J. Wichers, Sequence and structural features of plant and fungal tyrosinases., *Phytochemistry* 45 (1997) 1309–23. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(97\)00186-6](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(97)00186-6).
- [7] K.H. Kong, J.L. Lee, H.J. Park, S.H. Cho, Purification and characterization of the tyrosinase isozymes of pine needles., *Biochem Mol Biol Int* 45 (1998) 717–24. <https://doi.org/10.1080/15216549800203122>.
- [8] V.M. Virador, N. Kobayashi, J. Matsunaga, V.J. Hearing, A standardized protocol for assessing regulators of pigmentation., *Anal Biochem* 270 (1999) 207–19. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4090>.
- [9] Á. Sánchez-Ferrer, J. Neptuno Rodríguez-López, F. García-Cánovas, F. García-Carmona, Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* 1247 (1995) 1–11. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(94\)00204-T](https://doi.org/10.1016/0167-4838(94)00204-T).
- [10] D.E. Wilcox, A.G. Porras, Y.T. Hwang, K. Lerch, M.E. Winkler, E.I. Solomon, Substrate analog binding to the coupled binuclear copper active site in tyrosinase, *J Am Chem Soc* 107 (1985) 4015–4027. <https://doi.org/10.1021/ja00299a043>.
- [11] O. Toussaint, K. Lerch, Catalytic oxidation of 2-aminophenols and ortho hydroxylation of aromatic amines by tyrosinase., *Biochemistry* 26 (1987) 8567–71. <https://doi.org/10.1021/bi00400a011>.
- [12] J.C. García-Borrón, F. Solano, Molecular anatomy of tyrosinase and its related proteins: beyond the histidine-bound metal catalytic center., *Pigment Cell Res* 15 (2002) 162–73. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0749.2002.02012.x>.
- [13] H. Decker, F. Tuczec, Tyrosinase/catecholoxidase activity of hemocyanins: structural basis and molecular mechanism., *Trends Biochem Sci* 25 (2000) 392–7. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(00\)01602-9](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(00)01602-9).
- [14] J.C. Espín, R. Varón, L.G. Fenoll, M.A. Gilabert, P.A. García-Ruíz, J. Tudela, F. García-Cánovas, Kinetic characterization of the substrate specificity and mechanism of mushroom tyrosinase., *Eur J Biochem* 267 (2000) 1270–9. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01013.x>.
- [15] A. Rescigno, F. Sollai, B. Pisu, A. Rinaldi, E. Sanjust, Tyrosinase inhibition: general and applied aspects., *J Enzyme Inhib Med Chem* 17 (2002) 207–18. <https://doi.org/10.1080/14756360210000010923>.
- [16] G.H. Müller, H. Waldmann, The phenyl hydrazide as an enzyme-labile protecting group — Oxidative cleavage with mushroom tyrosinase, *Tetrahedron Lett* 40 (1999) 3549–3552. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(99\)00549-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)00549-3).
- [17] H.W. Duckworth, J.E. Coleman, Physicochemical and kinetic properties of mushroom tyrosinase, *J. Biol. Chem.* (1970) 1613–1625.
- [18] **B. Gąsowska**, P. Kafarski, H. Wojtasek, Interaction of mushroom tyrosinase with aromatic amines, o-diamines and o-aminophenols, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1673 (2004) 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.04.013>.

- [19] B. Lejczak, P. Kafarski, E. Makowiecka, Phosphonic analogues of tyrosine and 3,4-dihydroxyphenylalanine (dopa) influence mushroom tyrosinase activity, *Biochemical Journal* 242 (1987) 81–88. <https://doi.org/10.1042/bj2420081>.
- [20] **B. Gąsowska**, H. Wojtasek, J. Hurek, M. Draj, K. Nowak, P. Kafarski, Redox reaction between amino-(3,4-dihydroxyphenyl)methyl phosphonic acid and dopaquinone is responsible for the apparent inhibitory effect on tyrosinase, *Eur J Biochem* 269 (2002) 4098–4104. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.03103.x>.
- [21] M. Sugumaran, S. Tan, H.-L. Sun, Tyrosinase-Catalyzed Oxidation of 3,4-Dihydroxyphenylglycine, *Arch Biochem Biophys* 329 (1996) 175–180. <https://doi.org/10.1006/abbi.1996.0206>.
- [22] M. Sugumaran, Tyrosinase catalyzes an unusual oxidative decarboxylation of 3,4-dihydroxymandelate, *Biochemistry* 25 (1986) 4489–4492. <https://doi.org/10.1021/bi00364a005>.
- [23] T.H. Czapla, M. Roger Claeys, T.D. Morgan, K.J. Kramer, T.L. Hopkins, M. Dale Hawley, Oxidative decarboxylation of 3,4-dihydroxymandelic acid to 3,4-dihydroxybenzaldehyde: electrochemical and HPLC analysis of the reaction mechanism, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* 1077 (1991) 400–406. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(91\)90557-G](https://doi.org/10.1016/0167-4838(91)90557-G).
- [24] M. Bouheroum, J.M. Bruce, E.J. Land, The mechanism of the oxidative decarboxylation of 3,4-dihydroxymandelic acid: identification of 3,4-mandeloquinone as a key intermediate, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* 998 (1989) 57–62. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(89\)90118-0](https://doi.org/10.1016/0167-4838(89)90118-0).
- [25] J. Cabanes, A. Sanchez-Ferrer, R. Bru, F. García-Carmona, Chemical and enzymic oxidation by tyrosinase of 3,4-dihydroxymandelate, *Biochemical Journal* 256 (1988) 681–684. <https://doi.org/10.1042/bj2560681>.
- [26] F.M. Ortiz, J. Serrano, J. Rodríguez López, R.V. Castellanos, J. Lozano Teruel, F. García-Cánovas, Oxidation of 3,4-dihydroxymandelic acid catalyzed by tyrosinase, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* 957 (1988) 158–163. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(88\)90169-0](https://doi.org/10.1016/0167-4838(88)90169-0).
- [27] M. Sugumaran, H. Dali, V. Semensi, Mechanistic studies on tyrosinase-catalysed oxidative decarboxylation of 3,4-dihydroxymandelic acid, *Biochemical Journal* 281 (1992) 353–357. <https://doi.org/10.1042/bj2810353>.
- [28] V.M. Virador, N. Kobayashi, J. Matsunaga, V.J. Hearing, A Standardized Protocol for Assessing Regulators of Pigmentation, *Anal Biochem* 270 (1999) 207–219. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4090>.
- [29] K. Kong, J. Lee, H. Park, S. Cho, Purification and characterization of the tyrosinase isozymes of pine needles, *IUBMB Life* 45 (1998) 717–724. <https://doi.org/10.1080/15216549800203122>.
- [30] P.A. Riley, Melanogenesis and Melanoma, *Pigment Cell Res* 16 (2003) 548–552. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0749.2003.00069.x>.
- [31] John Pawelek, Ann Körner, Alan Bergstrom, Jean Bologna, New regulators of melanin biosynthesis and the autodestruction of melanoma cells, *Nature* (1980) 617–619.
- [32] P.A. Riley, Melanogenesis: a realistic target for antimelanoma therapy?, *Eur J Cancer Clin Oncol* 27 (1991) 1172–1177. [https://doi.org/10.1016/0277-5379\(91\)90319-9](https://doi.org/10.1016/0277-5379(91)90319-9).

- [33] A.M. Jordan, T.H. Khan, H.M.I. Osborn, A. Photiou, P.A. Riley, Melanocyte-directed enzyme prodrug therapy (MDEPT): development of a targeted treatment for malignant melanoma, *Bioorg Med Chem* 7 (1999) 1775–1780. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(99\)00126-1](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(99)00126-1).
- [34] A.M. Jordan, T.H. Khan, H. Malkin, H.M.I. Osborn, A. Photiou, P.A. Riley, Melanocyte-Directed enzyme prodrug therapy (MDEPT), *Bioorg Med Chem* 9 (2001) 1549–1558. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(01\)00039-6](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(01)00039-6).
- [35] A.M. Jordan, T.H. Khan, H. Malkin, H.M.I. Osborn, Synthesis and analysis of urea and carbamate prodrugs as candidates for melanocyte-directed enzyme prodrug therapy (MDEPT), *Bioorg Med Chem* 10 (2002) 2625–2633. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(02\)00097-4](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(02)00097-4).
- [36] J. Borovansky, R. Edge, E.J. Land, S. Navaratnam, S. Pavel, C.A. Ramsden, P.A. Riley, N.P.M. Smit, Mechanistic studies of melanogenesis: the influence of *N*-substitution on dopamine quinone cyclization, *Pigment Cell Res* 19 (2006) 170–178. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.2006.00295.x>.
- [37] **B. Gąsowska**, B. Frąckowiak, H. Wojtasek, Indirect oxidation of amino acid phenylhydrazides by mushroom tyrosinase, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1760 (2006) 1373–1379. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2006.05.001>.
- [38] **B. Gąsowska-Bajger**, H. Wojtasek, Indirect oxidation of the antitumor agent procarbazine by tyrosinase—Possible application in designing anti-melanoma prodrugs, *Bioorg Med Chem Lett* 18 (2008) 3296–3300. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.04.041>.
- [39] J.W. Liu, R.B. Beelman, D.R. Lineback, J.J. Speroni, Agaritine Content of Fresh and Processed Mushrooms [*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach], *J Food Sci* 47 (1982) 1542–1544. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb04978.x>.
- [40] B. Toth, J. Erickson, Cancer induction in mice by feeding of the uncooked cultivated mushroom of commerce *Agaricus bisporus*., *Cancer Res* 46 (1986) 4007–11.
- [41] K. Walton, M.M. Coombs, R. Walker, C. Ioannides, Bioactivation of mushroom hydrazines to mutagenic products by mammalian and fungal enzymes, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 381 (1997) 131–139. [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(97\)00160-7](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(97)00160-7).
- [42] K. Walton, M.M. Coombs, R. Walker, C. Ioannides, The metabolism and bioactivation of agaritine and of other mushroom hydrazines by whole mushroom homogenate and by mushroom tyrosinase, *Toxicology* 161 (2001) 165–177. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00430-3](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00430-3).
- [43] J.C. Espín, S. Jolivet, A. Overeem, H.J. Wichers, Agaritine from *Agaricus bisporus* is capable of preventing melanin formation, *Phytochemistry* 50 (1999) 555–563. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00562-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00562-7).
- [44] J.C. Espín, S. Jolivet, H.J. Wichers, Inhibition of Mushroom Polyphenol Oxidase by Agaritine, *J Agric Food Chem* 46 (1998) 2976–2980. <https://doi.org/10.1021/jf9802732>.
- [45] **B. Gąsowska-Bajger**, B. Frąckowiak-Wojtasek, S. Koj, T. Cichoń, R. Smolarczyk, S. Szala, H. Wojtasek, Oxidation of carbidopa by tyrosinase and its effect on murine melanoma, *Bioorg Med Chem Lett* 19 (2009) 3507–3510. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.05.002>.
- [46] B. Frąckowiak-Wojtasek, **B. Gąsowska-Bajger**, M. Mazurek, A. Raniszewska, M. Logghe, R. Smolarczyk, T. Cichoń, S. Szala, H. Wojtasek, Synthesis and analysis of activity of a potential

- anti-melanoma prodrug with a hydrazine linker, *Eur J Med Chem* 71 (2014).
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.10.080>.
- [47] K.E. Heim, A.R. Tagliaferro, D.J. Bobilya, Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *J Nutr Biochem* 13 (2002) 572–584.
[https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5).
- [48] A.N. Panche, A.D. Diwan, S.R. Chandra, Flavonoids: an overview, *J Nutr Sci* 5 (2016) e47.
<https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.
- [49] I. Orhan, M. Khan, Flavonoid Derivatives As Potent Tyrosinase Inhibitors – A Survey of Recent Findings Between 2008-2013, *Curr Top Med Chem* 14 (2014) 1486–1493.
<https://doi.org/10.2174/1568026614666140523120741>.
- [50] I. Kubo, Y. Yokokawa, I. Kinst-Hori, Tyrosinase Inhibitors from Bolivian Medicinal Plants, *J Nat Prod* 58 (1995) 739–743. <https://doi.org/10.1021/np50119a013>.
- [51] I. Kubo, I. Kinst-Hori, K. Ishiguro, S.K. Chaudhuri, Y. Sanchez, T. Ogura, Tyrosinase inhibitory flavonoids from *Heterotheca inuloides* and their structural functions, *Bioorg Med Chem Lett* 4 (1994) 1443–1446. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(01\)80510-2](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)80510-2).
- [52] Q.-X. Chen, I. Kubo, Kinetics of Mushroom Tyrosinase Inhibition by Quercetin, *J Agric Food Chem* 50 (2002) 4108–4112. <https://doi.org/10.1021/jf011378z>.
- [53] I. Kubo, I. Kinst-Hori, S.K. Chaudhuri, Y. Kubo, Y. Sánchez, T. Ogura, Flavonols from *Heterotheca inuloides* : Tyrosinase Inhibitory Activity and Structural Criteria, *Bioorg Med Chem* 8 (2000) 1749–1755. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(00\)00102-4](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(00)00102-4).
- [54] I. Kubo, I. Kinst-Hori, Flavonols from Saffron Flower: Tyrosinase Inhibitory Activity and Inhibition Mechanism, *J Agric Food Chem* 47 (1999) 4121–4125.
<https://doi.org/10.1021/jf990201q>.
- [55] D.P. Makris, J.T. Rossiter, An investigation on structural aspects influencing product formation in enzymic and chemical oxidation of quercetin and related flavonols, *Food Chem* 77 (2002) 177–185. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00333-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00333-8).
- [56] L.G. Fenoll, P.A. García-Ruiz, R. Varón, F. García-Cánovas, Kinetic Study of the Oxidation of Quercetin by Mushroom Tyrosinase, *J Agric Food Chem* 51 (2003) 7781–7787.
<https://doi.org/10.1021/jf034656y>.
- [57] I. Kubo, K. Nihei, K. Shimizu, Oxidation products of quercetin catalyzed by mushroom tyrosinase, *Bioorg Med Chem* 12 (2004) 5343–5347.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.07.050>.
- [58] M.C. Dias, D.C.G.A. Pinto, A.M.S. Silva, Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity, *Molecules* 26 (2021) 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>.
- [59] R.K. Ko, G. Kim, C. Hyun, D.S. Jung, N.H. Lee, Compounds with Tyrosinase Inhibition, Elastase Inhibition and DPPH Radical Scavenging Activities from the Branches of *Distylium racemosum* Sieb. et Zucc, *Phytotherapy Research* 25 (2011) 1451–1456.
<https://doi.org/10.1002/ptr.3439>.
- [60] X. Liang, Y. Wu, J. Qiu, K. Zhong, H. Gao, A Potent Antibrowning Agent from Pine Needles of *Cedrus deodara* : 2R,3R -Dihydromyricetin, *J Food Sci* 79 (2014).
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.12583>.

- [61] H.M. Sirat, M.F. Rezali, Z. Ujang, Isolation and Identification of Radical Scavenging and Tyrosinase Inhibition of Polyphenols from *Tibouchina semidecandra* L., *J Agric Food Chem* 58 (2010) 10404–10409. <https://doi.org/10.1021/jf102231h>.
- [62] G. Jungbluth, I. Rühling, W. Ternes, Oxidation of flavonols with Cu(II), Fe(II) and Fe(III) in aqueous media, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* (2000) 1946–1952. <https://doi.org/10.1039/b002323j>.
- [63] **B. Gąsowska-Bajger**, H. Wojtasek, Reactions of flavonoids with o-quinones interfere with the spectrophotometric assay of tyrosinase activity, *J Agric Food Chem* 64 (2016). <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01896>.
- [64] N. Guo, C. Wang, C. Shang, X. You, L. Zhang, W. Liu, Integrated study of the mechanism of tyrosinase inhibition by baicalein using kinetic, multispectroscopic and computational simulation analyses, *Int J Biol Macromol* 118 (2018) 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.055>.
- [65] Zhihua Hu, Yurong Guan, Wanying Hu, Zhiyong Xu, Muhammad Ishfaq, An overview of pharmacological activities of baicalin and its aglycone baicalein: New insights into molecular mechanisms and signaling pathways, *Iran J Basic Med Sci* 25 (2022) 14–26.
- [66] **B. Gąsowska-Bajger**, H. Wojtasek, Epigallocatechin and epigallocatechin-3-gallate are not inhibitors of tyrosinase, *Bioorg Med Chem Lett* 113 (2024) 129976. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2024.129976>.
- [67] **B. Gąsowska-Bajger**, H. Wojtasek, Oxidation of baicalein by tyrosinase and by o-quinones, *Int J Biol Macromol* 231 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123317>.
- [68] J.K. No, D.Y. Soung, Y.J. Kim, K.H. Shim, Y.S. Jun, S.H. Rhee, T. Yokozawa, H.Y. Chung, Inhibition of tyrosinase by green tea components, *Life Sci* 65 (1999) PL241–PL246. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(99\)00492-0](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(99)00492-0).
- [69] J.L. Munoz-Munoz, F. García-Molina, M. Molina-Alarcón, J. Tudela, F. García-Cánovas, J.N. Rodríguez-López, Kinetic Characterization of the Enzymatic and Chemical Oxidation of the Catechins in Green Tea, *J Agric Food Chem* 56 (2008) 9215–9224. <https://doi.org/10.1021/jf8012162>.
- [70] Y. Lu, Y. Xu, M.-T. Song, L.-L. Qian, X.-L. Liu, R.-Y. Gao, R.-M. Han, L.H. Skibsted, J.-P. Zhang, Promotion effects of flavonoids on browning induced by enzymatic oxidation of tyrosinase: structure–activity relationship, *RSC Adv* 11 (2021) 13769–13779. <https://doi.org/10.1039/D1RA01369F>.
- [71] W. Wang, L. Chen, W. Wang, J. Zhang, U.H. Engelhardt, H. Jiang, Effect of Active Groups and Oxidative Dimerization on the Antimelanogenic Activity of Catechins and Their Dimeric Oxidation Products, *J Agric Food Chem* 70 (2022) 1304–1315. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07028>.
- [72] I. Kubo, I. Kinst-Hori, Y. Kubo, Y. Yamagiwa, T. Kamikawa, H. Haraguchi, Molecular Design of Antibrowning Agents, *J Agric Food Chem* 48 (2000) 1393–1399. <https://doi.org/10.1021/jf990926u>.
- [73] F. Solano, S. Briganti, M. Picardo, G. Ghanem, Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects, *Pigment Cell Res* 19 (2006) 550–571. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.2006.00334.x>.

- [74] P.G. Furtmüller, M. Zederbauer, W. Jantschko, J. Helm, M. Bogner, C. Jakopitsch, C. Obinger, Active site structure and catalytic mechanisms of human peroxidases, *Arch Biochem Biophys* 445 (2006) 199–213. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.09.017>.
- [75] C. Obinger, Chemistry and biology of human peroxidases, *Arch Biochem Biophys* 445 (2006) 197–198. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.015>.
- [76] J. Arnhold, J. Flemmig, Human myeloperoxidase in innate and acquired immunity, *Arch Biochem Biophys* 500 (2010) 92–106. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.04.008>.
- [77] S. Tafazoli, P.J. O'Brien, Peroxidases: a role in the metabolism and side effects of drugs, *Drug Discov Today* 10 (2005) 617–625. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03394-5](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03394-5).
- [78] M.J. Davies, C.L. Hawkins, D.I. Pattison, M.D. Rees, Mammalian Heme Peroxidases: From Molecular Mechanisms to Health Implications, *Antioxid Redox Signal* 10 (2008) 1199–1234. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1927>.
- [79] M.J. Davies, Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention, *J Clin Biochem Nutr* 48 (2010) 8–19. <https://doi.org/10.3164/jcfn.11-006FR>.
- [80] J.C. Davis, B.A. Averill, Isolation from bovine spleen of a green heme protein with properties of myeloperoxidase., *Journal of Biological Chemistry* 256 (1981) 5992–5996. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)69118-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)69118-0).
- [81] M. Ikeda-Saito, Spectroscopic, ligand binding, and enzymatic properties of the spleen green hemeprotein. A comparison with myeloperoxidase., *Journal of Biological Chemistry* 260 (1985) 11688–11696. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)39085-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)39085-3).
- [82] J.L. Munoz-Munoz, F. Garcia-Molina, M. Garcia-Molina, J. Tudela, F. García-Cánovas, J.N. Rodríguez-Lopez, Kinetic Characterization of the Oxidation of Carbidopa and Benserazide by Tyrosinase and Peroxidase, *Biosci Biotechnol Biochem* 73 (2009) 1308–1313. <https://doi.org/10.1271/bbb.80820>.
- [83] B. Gąsowska-Bajger, Y. Nishigaya, K. Hirsz-Wiktorzak, A. Rybczyńska, T. Yamazaki, H. Wojtasek, Interference of carbidopa and other catechols with reactions catalyzed by peroxidases, *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1862 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.04.007>.
- [84] O. Wiewiorka, M Dastych, Z Cermáková, Trinderova reakce v klinické biochemii – přínosy a limity, *Chem. Listy* 111 (2017) 186–191.
- [85] V. Vojinović, A.M. Azevedo, V.C.B. Martins, J.M.S. Cabral, T.D. Gibson, L.P. Fonseca, Assay of H₂O₂ by HRP catalysed co-oxidation of phenol-4-sulphonic acid and 4-aminoantipyrine: characterisation and optimisation, *J Mol Catal B Enzym* 28 (2004) 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2004.02.003>.
- [86] F.G. Menezes, A.C.O. Neves, D.F. de Lima, S.D. Lourenço, L.C. da Silva, K.M.G. de Lima, Bioorganic concepts involved in the determination of glucose, cholesterol and triglycerides in plasma using the enzymatic colorimetric method, *Quim Nova* (2015). <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150040>.
- [87] J.L. Weber, M.H. Polymeropoulos, P.E. May, A.E. Kwitek, H. Xiao, J.D. McPherson, J.J. Wasmuth, Mapping of human chromosome 5 microsatellite DNA polymorphisms, *Genomics* 11 (1991) 695–700. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(91\)90077-R](https://doi.org/10.1016/0888-7543(91)90077-R).

- [88] R.H. White-Stevens, Interference by ascorbic acid in test systems involving peroxidase. I. Reversible indicators and the effects of copper, iron, and mercury., *Clin Chem* 28 (1982) 578–588. <https://doi.org/10.1093/clinchem/28.4.578>.
- [89] R.H. White-Stevens, L.R. Stover, Interference by ascorbic acid in test systems involving peroxidase. II. Redox-coupled indicator systems., *Clin Chem* 28 (1982) 589–595. <https://doi.org/10.1093/clinchem/28.4.589>.
- [90] F. Martinello, E.L. da Silva, Ascorbic acid interference in the measurement of serum biochemical parameters: In vivo and in vitro studies, *Clin Biochem* 39 (2006) 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.11.011>.
- [91] F. Martinello, E. Luiz da Silva, Mechanism of ascorbic acid interference in biochemical tests that use peroxide and peroxidase to generate chromophore, *Clinica Chimica Acta* 373 (2006) 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.05.012>.
- [92] M. Zhu, X. Huang, J. Li, H. Shen, Peroxidase-based spectrophotometric methods for the determination of ascorbic acid, norepinephrine, epinephrine, dopamine and levodopa, *Anal Chim Acta* 357 (1997) 261–267. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(97\)00561-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00561-8).
- [93] G.A. Maguire, C.P. Price, Evidence for interference by ascorbate in the measurement of cerebrospinal fluid glucose by a kinetic glucose oxidase/peroxidase procedure., *Clin Chem* 29 (1983) 1810–1812. <https://doi.org/10.1093/clinchem/29.10.1810>.
- [94] D.L. Witte, L.F. Brown, R.D. Feld, Effects of bilirubin on detection of hydrogen peroxide by use of peroxidase., *Clin Chem* 24 (1978) 1778–1782. <https://doi.org/10.1093/clinchem/24.10.1778>.
- [95] B.S. Karon, T.M. Daly, M.G. Scott, Mechanisms of dopamine and dobutamine interference in biochemical tests that use peroxide and peroxidase to generate chromophore, *Clin Chem* 44 (1998) 155–160. <https://doi.org/10.1093/clinchem/44.1.155>.
- [96] K.T. Koprowicz, D.S. Ooi, J.G. Donnelly, Influence of dopamine on peroxidase-based assays, *Clin Chem* 42 (1996) 1502–1502. <https://doi.org/10.1093/clinchem/42.9.1502>.
- [97] M. Zhu, X. Huang, J. Li, H. Shen, Peroxidase-based spectrophotometric methods for the determination of ascorbic acid, norepinephrine, epinephrine, dopamine and levodopa, *Anal Chim Acta* 357 (1997) 261–267. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(97\)00561-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00561-8).
- [98] F. Zoppi, D. Fenili, Drug interferences in reactions for detecting hydrogen peroxide by means of peroxidase., *Clin Chem* 26 (1980) 1229–1230. <https://doi.org/10.1093/clinchem/26.8.1229>.
- [99] A.K. Saenger, C. Lockwood, C.L. Snozek, T.C. Milz, B.S. Karon, M.G. Scott, A.S. Jaffe, Catecholamine Interference in Enzymatic Creatinine Assays, *Clin Chem* 55 (2009) 1732–1736. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2009.127373>.
- [100] S.L. Curtis, B.P. Norman, A.M. Milan, J.A. Gallagher, B. Olsson, L.R. Ranganath, N.B. Roberts, Interference of hydroxyphenylpyruvic acid, hydroxyphenyllactic acid and tyrosine on routine serum and urine clinical chemistry assays; implications for biochemical monitoring of patients with alkaptonuria treated with nitisinone, *Clin Biochem* 71 (2019) 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2019.06.010>.
- [101] S.L. Curtis, N.B. Roberts, L.R. Ranganath, Interferences of homogentisic acid (HGA) on routine clinical chemistry assays in serum and urine and the implications for biochemical monitoring of patients with alkaptonuria, *Clin Biochem* 47 (2014) 640–647. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.12.016>.

- [102] P. Sharp, Interference in glucose oxidase-peroxidase blood glucose methods, *Clinica Chimica Acta* 40 (1972) 115–120. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(72\)90257-4](https://doi.org/10.1016/0009-8981(72)90257-4).
- [103] I. Kaufmann-Raab, H.G. Jonen, E. Jähnchen, G.F. Kahl, U. Groth, Interference by acetaminophen in the glucose oxidase-peroxidase method for blood glucose determination., *Clin Chem* 22 (1976) 1729–1731. <https://doi.org/10.1093/clinchem/22.10.1729>.
- [104] A. Orieux, J. Brunier, C. Rigother, B. Pinson, S. Dabernat, M.-L. Bats, Plasma creatinine below limit of quantification in a patient with acute kidney injury, *Clinica Chimica Acta* 524 (2022) 101–105. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.12.001>.
- [105] R.S. Silva, C.P. Domingueti, M.S. Tinoco, J.C. Veloso, M.L. Pereira, A.O. Baldoni, D.R.A. Rios, Interference of medicines in laboratory exams, *J Bras Patol Med Lab* 57 (2021). <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20210014>.
- [106] G. Constantinescu, M. Bidlingmaier, M. Gruber, M. Peitzsch, D.M. Poitz, A.E. van Herwaarden, K. Langton, C. Kunath, M. Reincke, J. Deinum, J.W.M. Lenders, T. Hofmockel, S.R. Bornstein, G. Eisenhofer, Mass spectrometry reveals misdiagnosis of primary aldosteronism with scheduling for adrenalectomy due to immunoassay interference, *Clinica Chimica Acta* 507 (2020) 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.04.019>.
- [107] D. Tarasek, **B. Gašowska-Bajger**, H. Wojtasek, Mechanisms of interference of p-diphenols with the Trinder reaction, *Bioorg Chem* 97 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103692>.
- [108] J.C. Seegmiller, K.A. Larson, A.K. Saenger, An investigation of enzymatic creatinine interference in a patient receiving dopamine and dobutamine, *Clin Biochem* 73 (2019) 115–117. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2019.08.001>.
- [109] D. Tarasek, **B. Gašowska-Bajger**, B. Frąckowiak-Wojtasek, C. Kersten, M. Jewgiński, Ł. Kołodziej, R. Latajka, H. Wojtasek, Oxidation of dobutamine and dopamine by horseradish peroxidase, *J Mol Struct* 1252 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132169>.
- [110] S.J. Klebanoff, An Effect of Thyroxine and Related Compounds on the Oxidation of Certain Hydrogen Donors by the Peroxidase System, *Journal of Biological Chemistry* 234 (1959) 2437–2442. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)69831-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)69831-X).
- [111] S.J. Klebanoff, An Effect of Thyroxine on the Oxidation of Reduced Pyridine Nucleotides by the Peroxidase System, *Journal of Biological Chemistry* 234 (1959) 2480–2485. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)69838-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)69838-2).
- [112] U. Takahama, K. Yoshitama, Hydroxycinnamic acid esters enhance peroxidase-dependent oxidation of 3, 4-dihydroxyphenylalanine. differences in the enhancement among the esters, *J Plant Res* 111 (1998) 97–100. <https://doi.org/10.1007/BF02507155>.
- [113] U. Takahama, T. Oniki, 3, 4-Dihydroxyphenylalanine is oxidized by phenoxy radicals of hydroxycinnamic acid esters in leaves of *Vicia faba* L, *J Plant Res* 111 (1998) 487–494. <https://doi.org/10.1007/BF02507783>.
- [114] L.K. Folkes, L.P. Candeias, Interpretation of the reactivity of peroxidase compounds I and II with phenols by the Marcus equation, *FEBS Lett* 412 (1997) 305–308. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)00792-8](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)00792-8).
- [115] G.G.J.M. Kuiper, M.H.A. Kester, R.P. Peeters, T.J. Visser, Biochemical Mechanisms of Thyroid Hormone Deiodination, *Thyroid* 15 (2005) 787–798. <https://doi.org/10.1089/thy.2005.15.787>.

- [116] H. Engler, A. Taurog, T. Nakashima, Mechanism of inactivation of thyroid peroxidase by thioureyline drugs, *Biochem Pharmacol* 31 (1982) 3801–3806. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(82\)90296-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(82)90296-9).
- [117] D.R. Morris, L.P. Hager, Mechanism of the Inhibition of Enzymatic Halogenation by Antithyroid Agents, *Journal of Biological Chemistry* 241 (1966) 3582–3589. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)99870-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)99870-4).
- [118] S. Ohtaki, H. Nakagawa, M. Nakamura, I. Yamazaki, Reactions of purified hog thyroid peroxidase with H₂O₂, tyrosine, and methylmercaptoimidazole (goitrogen) in comparison with bovine lactoperoxidase., *Journal of Biological Chemistry* 257 (1982) 761–766. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)68261-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)68261-X).
- [119] A. Taurog, The Mechanism of Action of the Thioureyline Antithyroid Drugs, *Endocrinology* 98 (1976) 1031–1046. <https://doi.org/10.1210/endo-98-4-1031>.
- [120] D.R. Doerge, R.S. Takazawa, Mechanism of thyroid peroxidase inhibition by ethylenethiourea, *Chem Res Toxicol* 3 (1990) 98–101. <https://doi.org/10.1021/tx00014a003>.
- [121] H. Engler, A. Taurog, C. Luthy, M.L. Dorris, Reversible and Irreversible Inhibition of Thyroid Peroxidase-Catalyzed Iodination by Thioureyline Drugs*, *Endocrinology* 112 (1983) 86–95. <https://doi.org/10.1210/endo-112-1-86>.
- [122] G. Roy, P.N. Jayaram, G. Mugesh, Inhibition of Lactoperoxidase-Catalyzed Oxidation by Imidazole-Based Thiones and Selones: A Mechanistic Study, *Chem Asian J* 8 (2013) 1910–1921. <https://doi.org/10.1002/asia.201300274>.
- [123] P.N. Jayaram, G. Roy, G. Mugesh, Effect of thione—thiol tautomerism on the inhibition of lactoperoxidase by anti-thyroid drugs and their analogues, *Journal of Chemical Sciences* 120 (2008) 143–154. <https://doi.org/10.1007/s12039-008-0017-0>.
- [124] G. Roy, M. Nethaji, G. Mugesh, Biomimetic Studies on Anti-Thyroid Drugs and Thyroid Hormone Synthesis, *J Am Chem Soc* 126 (2004) 2712–2713. <https://doi.org/10.1021/ja039860g>.
- [125] G. Roy, G. Mugesh, Anti-Thyroid Drugs and Thyroid Hormone Synthesis: Effect of Methimazole Derivatives on Peroxidase-Catalyzed Reactions, *J Am Chem Soc* 127 (2005) 15207–15217. <https://doi.org/10.1021/ja054497u>.
- [126] G. Roy, D. Das, G. Mugesh, Bioinorganic chemistry aspects of the inhibition of thyroid hormone biosynthesis by anti-hyperthyroid drugs, *Inorganica Chim Acta* 360 (2007) 303–316. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2006.07.052>.
- [127] B. Frąckowiak-Wojtasek, **B. Gąsowska-Bajger**, D. Tarasek, M. Mytnik, H. Wojtasek, Oxidation of anti-thyroid drugs and their selenium analogs by ABTS radical cation, *Bioorg Chem* 141 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106891>.
- [128] X. Tian, K.M. Schaich, Effects of Molecular Structure on Kinetics and Dynamics of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity Assay with ABTS⁺, *J Agric Food Chem* 61 (2013) 5511–5519. <https://doi.org/10.1021/jf4010725>.
- [129] R.B. Walker, J.D. Everette, Comparative Reaction Rates of Various Antioxidants with ABTS Radical Cation, *J Agric Food Chem* 57 (2009) 1156–1161. <https://doi.org/10.1021/jf8026765>.
- [130] G. Roy, M. Nethaji, G. Mugesh, Biomimetic Studies on Anti-Thyroid Drugs and Thyroid Hormone Synthesis, *J Am Chem Soc* 126 (2004) 2712–2713. <https://doi.org/10.1021/ja039860g>.

- [131] A. Taurog, The Mechanism of Action of the Thioureydene Antithyroid Drugs, *Endocrinology* 98 (1976) 1031–1046. <https://doi.org/10.1210/endo-98-4-1031>.
- [132] J.L. Michot, J. Nunez, M.L. Johnson, G. Irace, H. Edelhoeh, Iodide binding and regulation of lactoperoxidase activity toward thyroid goitrogens, *Journal of Biological Chemistry* 254 (1979) 2205–2209. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)30207-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)30207-7).
- [133] A.A. Khan, A.H. Rahmani, Y.H. Aldebasi, S.M. Aly, Biochemical and Pathological Studies on Peroxidases –An Updated Review, *Glob J Health Sci* 6 (2014). <https://doi.org/10.5539/gjhs.v6n5p87>.
- [134] G.M. Saed, R. Ali-Fehmi, Z.L. Jiang, N.M. Fletcher, M.P. Diamond, H.M. Abu-Soud, A.R. Munkarah, Myeloperoxidase serves as a redox switch that regulates apoptosis in epithelial ovarian cancer, *Gynecol Oncol* 116 (2010) 276–281. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2009.11.004>.
- [135] J. Guo, Y. Zhu, L. Yu, Y. Li, J. Guo, J. Cai, L. Liu, Z. Wang, Aspirin inhibits tumor progression and enhances cisplatin sensitivity in epithelial ovarian cancer, *PeerJ* 9 (2021) e11591. <https://doi.org/10.7717/peerj.11591>.
- [136] Włodzimierz Samborski, Arkadiusz Niklas, Krzysztof J. Filipiak, Jacek Kaczmarczyk, Agnieszka Dobrowolska-Zachwieja, Andrzej Tykarski, Niesteroidowe leki przeciwzapalne a powikłania sercowo-naczyniowe i gastroenterologiczne — algorytm wyboru, *Choroby Serca i Naczyn* 14 (2017) 238–247.
- [137] A. Bashir, C. Kankipati, S. Jones, R. Newman, S. Safrany, C. Perry, I. Nicholl, A novel mechanism for the anticancer activity of aspirin and salicylates, *Int J Oncol* (2019). <https://doi.org/10.3892/ijo.2019.4701>.
- [138] A.T. Chan, N. Arber, J. Burn, W.K. Chia, P. Elwood, M.A. Hull, R.F. Logan, P.M. Rothwell, K. Schrör, J.A. Baron, Aspirin in the Chemoprevention of Colorectal Neoplasia: An Overview, *Cancer Prevention Research* 5 (2012) 164–178. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-11-0391>.
- [139] M.A. Merritt, M.S. Rice, M.E. Barnard, S.E. Hankinson, U.A. Matulonis, E.M. Poole, S.S. Tworoger, Pre-diagnosis and post-diagnosis use of common analgesics and ovarian cancer prognosis (NHS/NHSII): a cohort study, *Lancet Oncol* 19 (2018) 1107–1116. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30373-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30373-5).
- [140] M. Pollard, P.H. Luckert, M.A. Schmidt, The suppressive effect of piroxicam on autochthonous intestinal tumors in the rat, *Cancer Lett* 21 (1983) 57–61. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(83\)90082-4](https://doi.org/10.1016/0304-3835(83)90082-4).
- [141] **B. Gąsowska-Bajger**, K. Sosnowska, A. Gąsowska-Bodnar, L. Bodnar, The Effect of Acetylsalicylic Acid, as a Representative Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug, on the Activity of Myeloperoxidase, *Pharmaceuticals* 16 (2023). <https://doi.org/10.3390/ph16071012>.

5. *Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.*

Odbyte staże i wizyty studyjne:

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych odbyłam kilka staży naukowych.

1. Tygodniowy staż naukowy (28 styczeń 2008 – 5 luty 2008) w Laboratorium Onkologii Molekularnej Wojskowego Instytutu Medycznego, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa pod kierunkiem mgr Agnieszki Synowiec

W czasie pobytu na stażu w tej jednostce zapoznałam się z metodami izolacji RNA z tkanek utrwalonych w bloczkach parafinowych oraz świeżo mrożonych tkanek pobranych od pacjentek w trakcie operacji w Klinice Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie z powodu raka jajnika.

2. Trzydniowy indywidualny kurs doskonalący (7 maj 2008 – 9 maj 2008) z zakresu „Podstawy chromatografii. Wysokosprawną chromatografią cieczową (HPLC) peptydów i białek”, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Studium Kliniczno-Dydaktyczne, Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Warszawa

W czasie pobytu na kursie pogłębiłam swoją wiedzę na temat tego rodzaju technik chromatograficznych. Metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) na co dzień wykorzystuję w swojej pracy naukowej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Opolskiego.

3. Trzymiesięczny staż (1 październik 2009 – 31 grudzień 2009) w Laboratorium Analitycznym Szpitala Wojewódzkiego w Opolu, pod kierunkiem mgr Krystyny Ginter. Staż zorganizowano w ramach projektu „Dobry Staż” realizowanego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki Działanie 8.2 Transfer wiedzy Poddziałanie 8.2.1 Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw

W trakcie trwającego trzy miesiące stażu zapoznałam się z zasadami wykonywania analiz różnych składników w płynach ustrojowych, a następnie przeprowadzałam te analizy. Tymi analizami było m.in.. ilościowe oznaczanie dehydrogenazy mleczanowej w surowicy ludzkiej i osoczu; ilościowe oznaczanie magnezu w surowicy ludzkiej i osoczu; oznaczanie mocznika/azotu z mocznika w ludzkiej surowicy, osoczu i moczu; ilościowe oznaczanie triglicerydów; oznaczanie wapnia w surowicy ludzkiej, osoczu i moczu; oznaczanie żelaza w surowicy ludzkiej i osoczu; ilościowe oznaczanie autoprzeciwciał przeciwko receptorowi TSH wykorzystujący monoklonalne przeciwciała stymulujące tarczycę; oznaczanie stężenia hormonu adrenokortykotropowego (ACTH); oznaczanie przeciwciał przeciwko tyreoperoksydazie w surowicy ludzkiej lub osoczu; ilościowe oznaczanie stężenia reaktywnych determinant OC125 w surowicy ludzkiej lub osoczu; ilościowe oznaczanie stężenia antygenu karcynoembrionalnego (CEA); oznaczanie estradiolu II; oznaczanie ferrytyny metodą elektroluminescencji; oznaczanie TSH (hormon folikulotropowy); oznaczanie natywnej ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej + podjednostka beta (HCG+β); oznaczanie insuliny; ilościowe oznaczanie stężenia kortyzolu w surowicy, osoczu, moczu i ślinie; oznaczanie LH (hormon luteinizujący); oznaczanie witaminy B12; oznaczanie fibrynogenu; ilościowe oznaczanie albuminy w surowicy ludzkiej i osoczu; oznaczanie etanolu w surowicy ludzkiej, osoczu i moczu; oznaczanie aminotransferazy alaninowej

(ALT) w surowicy ludzkiej i osoczu; oznaczanie α -amylazy (AMYL-2) w surowicy ludzkiej, osoczu i moczu; ilościowe oznaczanie antystreptolizyny O w surowicy i osoczu, np. stopień zakażenia paciorkowcem (ASLOT); ilościowe oznaczanie aminotransferazy asparaginowej (AST); ilościowe oznaczanie białka całkowitego w surowicy ludzkiej i osoczu (TP2); całkowite oznaczanie bilirubiny w surowicy ludzkiej i osoczu; ilościowe oznaczanie kreatyniny w surowicy ludzkiej, osoczu i moczu.

4. Czterodniowy wyjazd studyjny (30 maj 2010 – 2 luty 2010) do Berlina-Drezna-Bautzen w ramach projektu „Od nauki do biznesu. Projekt wsparcia SPIN-OFF”, Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego
5. Pięciodniowa wizyta studyjna (20 wrzesień 2010 – 25 wrzesień 2010) w firmie naukowo-badawczej Polymerics GmbH, Berlin, Niemcy – opiekun naukowy dr Aniela Leistner

Podczas pięciodniowego pobytu w firmie Polymerics GmbH właściciele przedstawili mi historię swojej firmy i przekazali, że pomysł na jej powstanie zrodził się w trakcie ich pracy na Uniwersytecie Humboldta. Tam też zrodziły się pierwsze pomysły na produkty, a Uniwersytet jest ich zapleczem do badań i rozwoju, z którym ściśle współpracują. Dzięki uprzejmości pracowników zwiedziłam Wydział Chemii na Uniwersytecie Humboldta, oraz wygłosiłam referat o moich zainteresowaniach naukowych pracownikom firmy Polymerics.

6. Sześciomiesięczny staż (1 październik 2010 – 30 marzec 2011) w Laboratorium Mikrobiologicznym Szpitala Wojewódzkiego w Opolu pod kierunkiem naukowym mgr Alicji Mogiły. Staż został zorganizowany w ramach projektu pt. „Wiedza i praktyka-klucz do sukcesu w biznesie” realizowanego w ramach Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki Działanie 8.2 Transfer wiedzy Poddziałanie 8.2.1 Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw Programu Operacyjnego kapitał Ludzki

Podczas trwającego stażu nauczyłam się wielu metod, które na co dzień stosuje się w tym laboratorium. Mój staż rozpoczęłam od zapoznania się z przepisami BHP, organizacją pracy w poszczególnych pracowniach, a także z prowadzeniem ewidencji danych pacjenta (elektronicznie i w książce badań). Następnie nauczyłam się wykonywania posiewów materiału w kierunku bakterii tlenowych (plwociny, żółci, ropy, płynów wysiękowych, wymazów z rany, gardła, nosa, oka, ucha, moczu i innych) i beztlenowych (żółci, ropy, płynów wysiękowych, punktatów i innych) oraz posiewy krwi, płynu mózgowo-rdzeniowego i innych płynów ustrojowych w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych. W dalszej części stażu naukowego zapoznałam się i samodzielnie wykonywałam m. in. badania kału w kierunku bakterii *Salmonella* i *Shigella*; badań kału w kierunku bakterii *Yersinia*; kału w kierunku grzybów drożdżopodobnych; badań bakteriologicznych wymazu z cewki moczowej w kierunku bakterii *Neisseria gonorrhoeae*. Wykonałam kontrole mikrobiologicznej sterylizacji Attest i Sporal. Wykonałam badanie czystości mikrobiologicznej powietrza metodą sedymentacyjną. Wykonałam testy na antygeny *Helicobacter pylori* w kale, testy na antygeny paciorkowców grupy A w wymazie z gardła, testy na antygeny A i B w wymazie z gardła i nosa oraz przeciwciała heterofilne anti-EBV w surowicy. Na serologii zapoznałam się i wykonywałam: badania na odczyn kiłowy USR, FTA-ABS, FTA, TPHA-jakościowy, TPHA-ilościowy; badania na antygen HBs, przeciwciała anti-HBc IgM, przeciwciała anti-HBc (całkowite), antygen HBe, przeciwciała anti-HBe, przeciwciała anti-HBs, przeciwciała anti-HCV; badanie na przeciwciała anti HIV1, anti HIV2; badania na przeciwciała anti CMV IgM, przeciwciała anti CMV IgG; badanie na przeciwciała anti *Toxoplasma* IgM, przeciwciała anti *Toxoplasma* IgG; badania

na przeciwciała anty *Borrelia burgdorferia* IgG, przeciwciała anty *Borrelia burgdorferia* IgM; western blot *Borrelia burgdorferia* IgG, western blot *Borrelia burgdorferia* IgM.

Podczas stażu wykonywałam posiewy materiałów biologicznych na podłoża hodowlane, pobierałam wymazy z rąk do badań epidemiologicznych, wykonywałam preparaty, barwiłam je i oceniałam pod mikroskopem. Przeprowadzałam identyfikację drobnoustrojów z zastosowaniem testów biochemicznych. Przeprowadzałam identyfikację drobnoustrojów bezpośrednio w materiałach klinicznych z zastosowaniem szybkich testów lateksowych i immunochromatograficznych. Wykonywałam badania lekowrażliwości izolatów bakteryjnych metodą dyfuzyjno-krażkową oraz oznaczanie najmniejszych stężeń hamujących wzrost drobnoustrojów z użyciem pasków z gradientem stężeń. Wykonałam badania z zakresu serologicznej diagnostyki zakażeń metodami: ELISA, Western blot, immunofluorescencji pośredniej, elektrochemiluminescencji, immunochromatografii kasetowej i aglutynacyjnymi.

7. Trzydniowy indywidualny kurs doskonalący (8 luty 2011 - 10 luty 2011) z zakresu „Techniki molekularne w biologii i medycynie”, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Studium Kliniczno-Dydaktyczne, Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Warszawa

W czasie pobytu na kursie pogłębiłam swoją wiedzę na temat izolacji DNA z białek parafinowych (tkanek pobranych w trakcie operacji od pacjenta), reakcji PCR, elektroforezy w żelu poliakryloamidowym.

8. Trzymiesięczny staż (1 lipiec 2012 – 30 wrzesień 2012) w Laboratorium Mikrobiologicznym Szpitala Wojewódzkiego w Opolu pod kierunkiem mgr Alicji Mogieły. Staż zorganizowano przez Akademicki Inkubator Przedsiębiorczości Uniwersytetu Opolskiego w ramach Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki Działanie 8.2 Transfer wiedzy Poddziałanie 8.2.1 Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw, Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Podczas trwającego stażu pogłębiałam wiedzę, którą zdobyłam już w tym Laboratorium na poprzednim stażu w okresie od 1 października 2010 – 30 marzec 2011.

W trakcie stażu opracowałyśmy razem z magister Alicją Mogiełą metodę archiwizowania szczepów prątków gruźlicy przez zamrażanie w specjalnym buforze (Tryptone Soya Broth, glicerol, woda autoklawowana) w temperaturze -75°C .

9. Trzymiesięczny staż (2 luty 2015 – 30 kwiecień 2015) w Firmie PPHU Germax, która zajmuje się produkcją np. środków czystości dla domu, biura, gastronomii, przemysłu oraz adiuwantów dla rolnictwa. Staż ten został zrealizowany jako „Innowacyjne Opolskie”, w ramach Priorytetu VIII Regionalne kadry gospodarki, Działania 8.2 Transfer wiedzy, Poddziałania 8.2.1 Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki przez Opolskie Centrum Demokracji Lokalnej FRDL w Opolu, numer umowy: POK1.08.02.01-16-007/13-00

10. Miesięczny staż (31 sierpień 2016 – 30 wrzesień 2016) w Laboratorium Onkologii Molekularnej w Wojskowym Instytucie Medycznym, Warszawa, ul. Szaserów 1, 04-141 Warszawa pod kierunkiem ppłk dr hab. n. med. Lubomira Bodnara oraz mgr Agnieszki Synowiec

W trakcie pobytu na tym stażu naukowym wykonywałam izolację DNA z tkanek pobranych od pacjentek, u których została stwierdzona choroba nowotworowa jajników. Następnie, po wyizolowaniu DNA, badałam ekspresję surwiwiny, która jest białkiem należącym do inhibitorów apoptozy (zaprogramowanej śmierci komórki), a jej obecność jest stwierdzona niemal we wszystkich typach nowotworów.

11. Czteromiesięczny staż (5 czerwiec 2017 – 30 wrzesień 2017) w Laboratorium Onkologii Molekularnej w Klinice Onkologii w Wojskowym Instytucie Medycznym Centralnego Szpitala Klinicznego MON, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa pod kierunkiem ppłk dr hab. n. med. Lubomira Bodnara oraz mgr Agnieszki Synowiec

W trakcie trwania tego stażu naukowego wykorzystałam wiedzę pozyskaną już na wcześniejszym stażu, jaki odbywałam w tej jednostce w okresie 31 sierpień 2016 – 30 wrzesień 2016. Podczas stażu poznałam metodę oznaczania stężenia markera CA125 u nosicieli mutacji genów BRCA. Badania te są wykonywane na całym świecie w kierunku wczesnego wykrywania raka jajnika.

Współpraca z innymi jednostkami badawczymi:

Instytut Chemii Organicznej, Biochemii i Biotechnologii, Politechnika Wroclawska, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław. Prof. dr hab. inż. Paweł Kafarski, prof. dr hab. Marcin Drąg.

Efekty tej współpracy:

Publikacje:

1. **Gąsowska B**, Kafarski P, Wojtasek H, *Interaction of mushroom tyrosinase with aromatic amines, o-diamines and o-aminophenols*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 2004, **1673**(3), 170-177
2. **Gąsowska B**, Wojtasek H, Hurek J, Drąg M, Nowak K, Kafarski P, *Redox reaction between amino-(3,4-dihydroxyphenyl)methyl phosphonic acid and dopaquinone is responsible for the apparent inhibitory effect on tyrosinase*. European Journal of Biochemistry, 2002, **269**(16), 4098-4104

Wystąpienia konferencyjne:

1. Drąg M, Wojtasek H, Jeziernski A, **Gąsowska B**, Kafarski P, *“First example of the chemical, oxidative cleavage of the C-P bond in organophosphorus chemistry. The oxidation of phosphonic and phosphinic homologues of DOPA by NaIO₄”* 13th European Symposium on Organic Chemistry, 10-15.09.2003 Cavtat-Dubrovnik, Chorwacja
2. Kafarski P, Drąg M, Wojtasek H, **Gąsowska B**, *“Chemical versus enzymatic oxidation of phosphonic analogues of tyrosine and dihydroxyphenylalanine (DOPA)”* The International Symposium Devoted to the 100th Anniversary of Academician A.V. Kirsanov, 2002, Kijów, Ukraina
3. Kafarski P, Drąg M, Wojtasek H, **Gąsowska B**, *„Chemiczne utlenienie fosfonowych analogów DOPA – dihydroksyfenyloalaniny”* Chemistry for Agriculture, XXVIII International Scientific Research Seminar, 2002, Jeseník, Republika Czeska

Postery na konferencjach:

1. **Gąsowska B**, Wojtasek H, Hurek J, Drąg M, Nowak K, Kafarski P „*Apparent inhibition of tyrosinase by a phosphonic analog of 3,4-dihydroxyphenylglycine*” Chemistry for Agriculture, XXVIII International Scientific Research Seminar, 2002, Jeseník, Republika Czeska
2. **Gąsowska B**, Hurek J, Nowak K „Zmiany potencjału redoks w reakcjach enzymatycznych katalizowanych przez tyrozinazę” XXXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, 2002, Wrocław
3. **Gąsowska B**, Nowak K, Kafarski P “*Influence of dipeptides containing C-terminal phosphonate analog of dihydroxyphenylalanine on the activity of tyrosinase*” XVI Polish Peptide Symposium, 2001, Kraków–Przegorzały

Department of Chemical Biology, Max-Planck-Institute of Molecular Physiology, Otto-Hahn-Strasse 11, 44227 Dortmund, Germany, Prof. dr. dr. h.c. Herbert Waldmann, dr Martin Völkert.

Efekty tej współpracy:

Wystąpienie konferencyjne:

1. **Gąsowska B**, Völkert M, Waldmann H, Wojtasek H „*Oxidation of synthetic and natural amino acid phenylhydrazides by tyrosinase – implications for their mutagenic effects*” Chemistry for Agriculture, XXIX International Scientific Research Seminar, 9-12.12.2003, Jeseník, Republika Czeska

Zakład Biologii Molekularnej, Centrum Onkologii, im. Marii Skłodowskiej-Curie, Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice, dr hab. Tomasz Cichoń, dr Ryszard Smolarczyk, prof. dr hab. Stanisław Szala.

Efekty tej współpracy:

Publikacje:

1. **Gąsowska-Bajger B**, Frąckowiak-Wojtasek B, Koj S, Cichoń T, Smolarczyk R, Szala S, Wojtasek H, *Oxidation of carbidopa by tyrosinase and its effect on murine melanoma*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009, **9**(13), 3507-3510
2. Frąckowiak-Wojtasek B, **Gąsowska-Bajger B**, Mazurek M, Raniszewska A, Logghe M, Smolarczyk R, Cichoń T, Szala S, Wojtasek W, *Synthesis and analysis of activity of a potential anti-melanoma prodrug with a hydrazine linker*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2014, **71**, 98-104

Grant:

1. Projekt własny MEiN Nr 2 P05F 003 30 „Synteza i analiza aktywności proleków przeciwko czerniakowi opartych na łączniku hydrazynowym, aktywowanych przez tyrozinazę” okres realizacji 24.05.2006-23.05.2009, Kierownik – dr hab. Hubert Wojtasek, wykonawcy dr inż. Bożena Frąckowiak, mgr **Beata Gąsowska** i inni.

Wystąpienie konferencyjne:

1. Wojtasek H, Frąckowiak-Wojtasek B, **Gąsowska-Bajger B**, Gonska A, Pasternak M, Cichoń T, Smolarczyk R, Szala S „*Tyrosinase-activated anti-melanoma prodrugs with a hydrazine linker-synthesis and activity*”, 51 Zjazd Polskiego Towarzystwa

Chemicznego oraz Stowarzyszenia Inżynierów I Techników Przemysłu Chemicznego,
7-11 września 2008, Opole

Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, ul. Kominka 6A, 45-035 Opole,
dr hab. Ewa Moliszewska, prof. UO.

Efekt tej współpracy:

Wystąpienie konferencyjne:

1. Moliszewska, E, **Gąsowska-Bajger B, K.**, *Melaniny grzybowe a patogeniczność względem roślin*, w: Nowe osiągnięcia w biologicznej ochronie roślin przed chorobami, Bydgoszcz, 20-21 października 2016 : XV Konferencja Sekcji Biologicznej Ochrony Roślin przed Chorobami Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego [streszczenia] / Mańka Małgorzata, Sadowski Czesław (red.), 2016, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy

Advanced Analysis Center, National Agriculture and Food Research Organization (NARO), 2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan, dr Yuki Nishigaya i dr Toshimasa Yamazaki.

Efekt tej współpracy:

Publikacja:

1. **Gąsowska-Bajger B,** Nishigaya Y, Hirsz-Wiktorzak K, Rybczyńska A, Yamazaki T, Wojtasek H* *Interference of carbidopa and other catechols with reactions catalyzed by peroxidases.* Biochemica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects, 2018, **1862**(7), 1626-1634

Wojskowy Instytut Medyczny, Klinika Ginekologii i Ginekologii Klinicznej, Klinika Onkologii, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa, dr Agnieszka Gąsowska-Bodnar, ppłk dr hab. n. med. Lubomir Bodnar, prof. UPH.

Efekty tej współpracy:

Trzy staże naukowe pod kierunkiem ppłk dr hab. n. med. Lubomira Bodnara:

1. 11 - 21 lipiec 2011 (dwutygodniowy)
2. 31 sierpień 2016 – 30 wrzesień 2016 (miesięczny)
3. 5 czerwiec 2017 – 30 wrzesień 2017 (czteromiesięczny)

Złożone zostały dwa wnioski grantowe:

1. „Rola inhibitorów apoptozy jako czynników prognostycznych u chorych na raka jajnika”, 3 wykonawców (kierownik **dr Beata Gąsowska-Bajger**) – 11.12.2011, 2011/03/B/NZ4/00048 – nie przyznano finansowania
2. „Inhibitory apoptozy, jako czynnik prognostyczny u chorych na raka jajnika”, 3 wykonawców (kierownik **dr Beata Gąsowska-Bajger**) – 2012/05/B/NZ4/02581 – nie przyznano finansowania

Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej; Klinika Onkologii i Immuno-onkologii Warmińsko-Mazurskiego Centrum Onkologii Szpitala Klinicznego Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji, Olsztyn, Katedra Onkologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, Olsztyn, dr Agnieszka Gąsowska-Bodnar, ppłk dr hab. n. med. Lubomir Bodnar, prof. UPH.

Efekty tej współpracy:

Publikacja:

1. **Gąsowska-Bajger B**, Gąsowska-Bodnar A, Knapp P, Bodnar L, *Prognostic Significance of Survivin Expression in Patients with Ovarian Carcinoma: A Meta-Analysis*. Journal of Clinical Medicine, 2021, **10**(4), 879

Wystąpienie konferencyjne:

1. **Gąsowska-Bajger B**, Gąsowska-Bodnar A, Knapp P, Bodnar L, „*Surwiwina jako potencjalny biomarker raka jajnika*” VIII Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 21 maj 2021, Gliwice

Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny, Białystok, prof. dr hab. n. med. **Paweł Knapp**.

Efekty tej współpracy:

Publikacja:

1. **Gąsowska-Bajger B**, Gąsowska-Bodnar A, Knapp P, Bodnar L, *Prognostic Significance of Survivin Expression in Patients with Ovarian Carcinoma: A Meta-Analysis*. Journal of Clinical Medicine, 2021, **10**(4), 879

Wystąpienie konferencyjne:

1. **Gąsowska-Bajger B**, Gąsowska-Bodnar A, Knapp P, Bodnar L, „*Surwiwina jako potencjalny biomarker raka jajnika*” VIII Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 21 maj 2021, Gliwice

Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Katedra Inżynierii i Biologii Systemów, Centrum Biotechnologii, Politechnika Śląska, Gliwice, dr hab. Magdalena Skonieczna, prof. uczelni.

Efekty tej współpracy:

Publikacja:

1. Nackiewicz J, **Gąsowska-Bajger B**, Kołodziej Ł, Poliwoda A, Pogoda-Mieszczak K, Skonieczna M, *Comparison of the degradation mechanisms of diclofenac in the presence of iron octacarboxyphthalocyanine and myeloperoxidase*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2023, **287**(2), 122113

Wniosek grantowy:

1. ID: 577971 „Indukcja regulowanej śmierci komórkowej w liniach nowotworowych poddanych edycji genomu techniką CRISPR/Cas9 w obecności niesteroidowych leków przeciwzapalnych i ich pochodnych” kierownik dr hab. Magdalena Skonieczna, wykonawca **dr Beata Gąsowska-Bajger** i inni, konkurs OPUS 24 -wysłany 15-12-2022 r. - nie przyznano finansowania

Referaty konferencyjne:

1. Nackiewicz J, Kołodziej Ł, **Gąsowska-Bajger B**, Poliwoda A, Skonieczna M „*Porównanie aktywności oktakarboxyftalocyanin żelaza i mieloperoksydazy w procesie degradacji diklofenaku*” IX Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem

Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 27-28 maj 2022, Istebna

2. Stok A, Komisarczyk E, Klabuhn B, Herman K, Gulec A, Skubisz W, Mainka A, Kasprzycka A, Nackiewicz J, **Gąsowska-Bajger B**, Skonieczna M „*Mikro i nanozanieczyszczenia środowiskowe o potencjale pro- i przeciwnowotworowym w badaniach in vitro*” IX Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 27-28 maj 2022, Istebna
3. Nackiewicz J, Kołodziej Ł, **Gąsowska-Bajger B**, Skonieczna M „*Zastosowanie transdermalnych pochodnych diclofenaku o potencjale przeciwnowotworowym w badaniach in vitro wobec linii komórkowej me45*” VIII Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 21 maj 2021, Gliwice

Udział w projektach

1. Grant współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego - Politechnika Śląska jako Centrum Nowoczesnego Kształcenia, opartego o badania i innowacje - (POWR.03.05.00.00-z098/17):

Edycja nr VII - Tytuł projektu: „Badanie transdermalnych mikro- i nanozanieczyszczeń środowiskowych, związków syntetycznych i pochodnych diklofenaku o potencjale pro- i przeciwnowotworowym w badaniach *in vitro* z użyciem zaawansowanych systemów hodowli 3D.” – wykonawca/ekspert w okresie 2021-2023

Edycja nr VIII - Tytuł projektu: „Nieinwazyjne badanie biodostępności (transportu) substancji aktywnych poprzez obserwacje mechanizmów dokomórkowego wnikania i lokalizacji w komórkach *in vitro*/Non-invasive study of the bioavailability (transport) of active substances by observing the mechanisms of intracellular penetration and localization in cells *in vitro*” - wykonawca/ekspert w okresie 2021-2023

Edycja nr IX - Tytuł projektu: „Indukcja regulowanej śmierci komórkowej w liniach nowotworowych poddanych edycji genomu techniką CRISPR/Cas-9 w obecności niesteroidowych leków przeciwzapalnych i ich pochodnych” – wykonawca/ekspert w okresie 2021-2023

2. VI konkurs o przyznanie finansowania projektów studenckich kół naukowych (Program Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza). Konkurs jest zorganizowany w ramach projektu *Włączenia studentów w badania naukowe za pośrednictwem kół naukowych, w ramach programu Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza*, w związku z udziałem Politechniki Śląskiej w programie Inicjatywa Doskonałości-Uczelnia Badawcza. Temat projektu: „*Produkty komórkowego rozkładu niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ), jako potencjalne fotouczulacze w terapiach łączonych.*” Termin realizacji (01-10-2024 do 28-02-2025 r.). Pełniona funkcja-ekspert.

Wydział Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet w Siedlcach, dr Agnieszka Gąsowska-Bodnar, ppłk dr hab. n. med. Lubomir Bodnar, prof. UPH.

Efekty tej współpracy:

Publikacja:

1. **Gąsowska-Bajger B**, Sosnowska K, Gąsowska-Bodnar A, Bodnar L, *The Effect of Acetylsalicylic Acid, as a Representative Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug, on the Activity of Myeloperoxidase*. *Pharmaceuticals*, 2023, **16**(7), 1012
2. **Gąsowska-Bajger B**, Gąsowska-Bodnar A, Bodnar L, *Properties and functions of myeloperoxidase and its role in ovarian cancer*. *Medical Science Pulse*, 2022, **16**(3), 23-32

Referaty konferencyjne:

1. **Gąsowska-Bajger B**, Pawełczak M, „Wpływ związków powszechnie stosowanych w chemioterapii na aktywność aminopeptydaz”. XI Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 17-19 maj 2024, Ustroń

Katedra Chemii Bioorganicznej, Wydział Chemii, Politechnika Wroclawska, prof. dr hab. Rafał Latajka, dr Michał Jewgiński.

Efekt tej współpracy:

Publikacja:

1. Tarasek D, **Gąsowska-Bajger B**, Frąckowiak-Wojtasek B, Kersten C, Jewgiński M, Kołodziej Ł, Latajka R, Wojtasek H, *Oxidation of dobutamine and dopamine by horseradish peroxidase*. *Journal of Molecular Structure*, 2022, **1252**, 132169

Department of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, Institute of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, Johannes Gutenberg University, Mainz, Niemcy, dr Christian Kersten.

Efekt tej współpracy:

Publikacja:

1. Tarasek D, **Gąsowska-Bajger B**, Frąckowiak-Wojtasek B, Kersten C, Jewgiński M, Kołodziej Ł, Latajka R, Wojtasek H, *Oxidation of dobutamine and dopamine by horseradish peroxidase*. *Journal of Molecular Structure*, 2022, **1252**, 132169

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Osiągnięcia dydaktyczne

Przedmioty nauczane w ramach pensum dydaktycznego

Wykłady z przedmiotu Biochemia dla:

- studentów I roku kierunku Rolnictwo (stacjonarne), Wydziału Przyrodniczo - Technicznego – koordynator przedmiotu
- studentów I roku kierunku Rolnictwo (niestacjonarne), Wydziału Przyrodniczo - Technicznego - koordynator przedmiotu
- studentów II roku kierunku Biotechnologia Medyczna, Wydziału Przyrodniczo - Technicznego

- studentów II roku (I stopień) kierunku Biologia, Wydziału Przyrodniczo-Technicznego – koordynator przedmiotu
- studentów II roku (I stopień) kierunku Biotechnologia Inżynierska, Wydziału Przyrodniczo -Technicznego – koordynator przedmiotu

Zajęcia laboratoryjne na Wydziale Chemii z przedmiotów:

- Biochemia z podstawami biologii dla II roku kierunku Chemia
- Pracownia magisterska dla studentów kierunku Chemia
- Biochemia z elementami chemii dla I roku kierunku lekarskiego (semestr I)
- Biochemia z elementami chemii dla I roku kierunku lekarskiego (semestr II)
- Praktyka zawodowa dla studentów kierunku Chemia
- Biochemia dla studentów I roku Optyki okularowej z elementami optometrii
- Biochemia dla studentów I roku Rolnictwa (stacjonarne)
- Biochemia dla studentów I roku Rolnictwa (niestacjonarne)
- Biochemia dla studentów Biologii
- Biochemia ogólna dla studentów Biotechnologii Inżynierskiej
- Chemia sądowa – rozwiązywanie zagadek kryminalnych (zajęcia ogólnouczelniane) dla kierunku Prawo zaoczne)
- Chemia sądowa – rozwiązywanie zagadek kryminalnych (zajęcia ogólnouczelniane) dla kierunku Pedagogika (zaoczne)
- Chemia sądowa – rozwiązywanie zagadek kryminalnych (zajęcia ogólnouczelniane) dla kierunku Psychologia (zaoczne)
- Podstawy Biochemii, dla studentów III roku (I stopień) Fizyki
- Chemia Fizyczna dla studentów II roku (I stopień) kierunku Chemia
- Chemia analityczna dla studentów I roku (I stopień) kierunku Chemia
- Podstawy chemii medycznej dla studentów III roku (I stopień) kierunku Chemia

Opracowanie programów do nowych zajęć.

W 2015 roku opracowałam:

- program zajęć laboratoryjnych z przedmiotu ogólnouczelnianego *Chemia sądowa-rozwiązywanie zagadek kryminalnych*;
- program zajęć laboratoryjnych (z prelekcjami) z przedmiotu *Biochemia z elementami chemii* dla studentów I roku (semestr I) kierunku lekarskiego;

W 2019 roku opracowałam:

- program zajęć laboratoryjnych (z prelekcjami) z przedmiotu *Biochemia z elementami chemii* dla studentów I roku (semestr II) kierunku lekarskiego;

W 2020 roku opracowałam:

- program zajęć laboratoryjnych i wykłady z przedmiotu Biochemia dla studentów II roku (I stopień) Biologii;
- program zajęć laboratoryjnych i wykłady z przedmiotu Biochemia dla studentów II roku (I stopień) Biotechnologii Medycznej i Biotechnologii Inżynierskiej;
- program zajęć laboratoryjnych i wykłady z przedmiotu Biochemia dla studentów II roku (I stopień, stacjonarne i niestacjonarne) Rolnictwa;
- program zajęć laboratoryjnych z przedmiotu Biochemia dla studentów I roku (I stopień) kierunku Optyka Okularowa z elementami optometrii;

W latach 2004-2015 pełniłam funkcję tutora dla:

- III roku kierunku Chemia Środowiska (2004/2005; 2005/2006);
- I (2006/2007), II (2007/2008) i III (2008/2009, 2012/2013, 2014/2015) roku kierunku Chemia, specjalność chemia biologiczna

- I (2009/2010), II (2010/2011) i III (2011/2012, 2012/2013, 2014/2015) roku kierunku Chemia, specjalność chemia kosmetyczna

Opieka naukowa nad magistrantami i doktorantami:

Promotor prac licencjackich:

1. Marta Mazur, „Porównanie wpływu L-tyrozyny i L-tyrozynamidu na aktywność mieloperoksydazy i laktoperoksydazy wołowej”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO, (2014/2015)
2. Magdalena Leśnik, „Badanie kinetyki reakcji Trindera z różnymi substratami”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO, (2018/2019)
3. Jagoda Kulczyńska, „Analiza wpływu cisplatyny na reakcje katalizowane przez mieloperoksydazę”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO, (2019/2020)
4. Kinga Sosnowska, „Wpływ niesteroidowego leku przeciwzapalnego – kwasu acetylosalicylowego – na aktywność mieloperoksydazy”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO, (2019/2020)

Promotor prac magisterskich:

1. Jagoda Kulczyńska, „Analiza wpływu pochodnych pirazoli na reakcje katalizowane przez aminopeptydazę leucynową”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO, (2021/2022)
2. Kinga Sosnowska, „Wpływ wybranych związków chemicznych, powszechnie stosowanych w chemioterapii, na aktywność aminopeptydazy leucynowej”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO, (2021/2022)

Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim mgr Damiana Taraska z Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego pod tytułem „Utlenianie wybranych leków i związków naturalnych w reakcjach katalizowanych przez peroksydazę chrzanową”. Promotorem pracy był dr hab. Hubert Wojtasek prof. UO. Publiczna obrona pracy doktorskiej odbyła się na Uniwersytecie Opolskim 26 września 2023 roku.

Opieka nad pracami licencjackimi/opieka naukowa:

1. Marcin Staśko, „Badanie utleniania N-benzoilo-N-(4-hydroksybenzylo)hydrazyny przez tyrozynazę”, kierunek Chemia/specjalność chemia biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2014/2015)
2. Karolina Dobrzańska, „Badanie wpływu wybranych kumaryn na aktywność tyrozynazy grzybowej”, kierunek Chemia/specjalność chemia biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2015/2016)

Opieka nad pracami magisterskimi/opieka naukowa:

1. Sabina Koj, „Analiza utleniania przez tyrozinazę leków stosowanych w chorobie Parkinsona”. kierunek Chemia/specjalność Chemia Środowiska/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2005/2006)
2. Róża Sagan, „Opracowanie warunków izolacji enzymu konwertującego dopachrom z jedwabnika morwowego, *Bombyx Mori*, na skalę preparatywną”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2005/2006)
3. Helena Barysz, „Identyfikacja enzymu konwertującego dopachrom z jedwabnika morwowego, *Bombyx mori*”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna, ITS/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2006/2007)
4. Grzegorz Sabura, „Analiza reakcji konwersji homodopachromu katalizowanej jonami cynku i niklu”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2006/2007)
5. Anna Buga, „Analiza utleniania leków z ugrupowaniem hydrazynowym przez mieloperoksydazę i laktoperoksydazę wołową”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Środowiska/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2006/2007)
6. Justyna Jaśniewicz, „Ekspresja białka wiążącego hormony juvenilne z jedwabnika morwowego, *Bombyx mori*, w peryplazmie *Escherichia coli*”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2007/2008)
7. Joanna Narolska, „Analiza reakcji konwersji homodopachromu w obecności jonów metali i w różnych warunkach pH”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Środowiska/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2007/2008)
8. Małgorzata Godyń, „Analiza reakcji cytochromów P450 z potencjalnymi prolekami przeciwko czerniakowi z ugrupowaniem hydrazynowym”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2008/2009)
9. Agnieszka Musioł, „Analiza mechanizmu działania enzymu konwertującego dopachrom z jedwabnika morwowego za pomocą ukierunkowanej mutagenezy”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2008/2009)
10. Krystyna Hirsz, „Badanie wpływu leków z ugrupowaniem hydrazynowym na aktywność mieloperoksydazy wołowej”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2009/2010)
11. Aleksander Rosiński, „Badanie wpływu leków z ugrupowaniem hydrazynowym na aktywność tyrozinazy grzybowej”, kierunek Chemia/specjalność Chemia

Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2009/2010)

12. Angelika Morga, „Identyfikacja intermediatów reakcji konwersji homodopachromu”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2010/2011)
13. Marieke Logghe, “Analysis of activation by tyrosinase of a potential anti-melanoma prodrug N-{4-[bis-(2-chloroethyl)amino]benzoyl}-N’-(4-hydroxybenzyl)-hydrazine”. Katholieke Hogeschool Sint-Lieven, Belgia. Funkcję promotor pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2011/2012)
14. Donata Kotarska, „Badanie wpływu paracetamolu na reakcje katalizowane przez peroksydazy”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2015/2016)
15. Damian Tarasek, „Badanie wpływu aminoacetofenonów i ich tiosemikarbazonów na reakcje katalizowane przez tyrozynazę grzybową”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr hab. Hubert Wojtasek, prof. UO. (2016/2017)

Recenzja pracy magisterskiej:

1. Marzena (Kotowicz) Nędzka, „Oznaczanie typu i stałych odwracalnej inhibicji enzymatycznej metodami linearyzacyjnymi z zastosowaniem regresji ważonej”, kierunek Chemia/specjalność Chemia Biologiczna/UO. Funkcję promotora pełnił dr Józef Hurek. (2009)

Zajęcia popularyzujące naukę:

- ✓ W roku 2009 i 2010 brałam czynny udział w drzwiach otwartych na Wydziale Chemii.
- ✓ Od 2 listopada 2010 do 31 maja 2011 byłam organizatorem 4 zajęć laboratoryjnych z chemii dla Zespołu Szkół Ogólnokształcących nr II w Opolu w ramach projektu „Nauka kluczem do sukcesu – program rozwojowy licealistów ogólnokształcących Miasta Opola (KSI nr POKL.09.01.02-16-042/10.
- ✓ W roku 2012 prowadziłam serię zajęć laboratoryjnych w ramach projektu: „Z peryferii do centrum”, POKL.03.03.04-00-097/09. Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Strukturalnego. OPTIMA, ul. Kościuszki 16, 45-062 Opole.
- ✓ W okresie od 28 maja do 31 maja 2012 roku prowadziłam pokazy doświadczeń chemicznych podczas festiwalu „Z Nauką na Ty” w ramach projektu „Od nauki do biznesu. Spin - off 2” realizowanego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Priorytet VIII „Regionalne kadry gospodarki”, Działanie 8.2 „Transfer wiedzy”, Poddziałanie 8.2.1 „Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw” finansowanego w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

- ✓ W dniach 8 i 9 listopad 2014 roku przeprowadziłam pokazy chemiczne dla dzieci podczas Targów Zabawek i Artykułów dla dzieci Kids&Fun Expo zorganizowane w Centrum Wystawienniczo-Kongresowym w Opolu.
- ✓ W okresie od 1 lutego do 31 maja 2015 roku prowadziłam zajęcia dydaktyczne: matematyczno-przyrodniczo-techniczne dla szczególnie uzdolnionych licealistów w ramach projektu pn.: „Szlifujemy Opolskie Diamenty”. Umowa nr RU DOA-IV.273.109/2014 z dnia 22.XII.2014 r.
- ✓ W okresie od 18 do 22 września 2017 roku prowadziłam zajęcia laboratoryjne w ramach obozu naukowego: „Nauka i Technika Zmienia Świat” adresowanego do uczniów szkół licealnych z Aglomeracji Opolskiej.
- ✓ W okresie od sierpnia do grudnia 2017 roku prowadziłam zajęcia laboratoryjne w ramach projektu: „Młodzi Odkrywczy Sekretów Nauki AO” – obszar I, II i III (nr RPOP.09.01.02-16-006/15/zadani nr 10/90; nr RPOP.09.01.02-16-007/15/Zadani nr 10/92; nr RPOP.09.01.02-16-008/15/Zadani nr 10/91)
- ✓ W latach 2009-2017 byłam współorganizatorem ośmiu, corocznych, sobotnich edycji repetytoriów z chemii dla maturzystów. Opracowałam i prowadziłam w kolejnych latach zajęcia laboratoryjne na temat: SEM ogniwa. Elektroliza roztworów wodnych elektrolitów i soli stopionych. Reakcje utleniania - redukcji. Ogniwa galwaniczne i ich zastosowania. Prawa elektrolizy. Korozja elektrochemiczna i metody jej zapobiegania. Elektrolity słabe i mocne. Stopień i stała dysocjacji. Prawo rozcieńczeń Ostwalda, pH roztworu, wskaźniki. Reakcje w roztworach wodnych elektrolitów - reakcje zobojętniania, strącania osadów i hydrolizy. Amfoteryczność. Wielofunkcyjne pochodne węglowodorów. Aminokwasy, peptydy i białka, najważniejsze cukry oraz kwasy nukleinowe - występowanie, właściwości i ich znaczenie w życiu człowieka. Polimeryzacyjne tworzywa sztuczne - budowa i zastosowanie. Konsekwencje niewłaściwego wykorzystywania substancji chemicznych.
- ✓ Przez lata brałam czynny udział w opolskim Festiwalu Nauki:
 - 2005 - „Izolowanie kwasów nukleinowych”
 - 2006 - „Barwne kompleksy skrobi z jodem”
 - 2007 - „Hydroliza skrobi oraz tworzenie barwnych kompleksów skrobi z jodem”
 - 2008 - „Napłuj i zbadaj - jak pH wpływa na aktywność amylazy ślinowej”
 - 2009 - „Jak otrzymać pastę do zębów domowym sposobem” i „Krem do rąk. Jak w prosty sposób można go otrzymać”
 - 2012 - „Chemia od A do Z”, „Co z tym cukrem, czyli słodkie ciekawostki (wykład)”
 - 2015 - „Białko czy cukier?”
 - 2016 - „Kolorowy świat cukrów”
 - 2017 - „Pranie za pomocą ciekłego dwutlenku węgla. Przemiany fazowe dwutlenku węgla”
- ✓ W roku 2017 uczestniczyłam w Nocy Nauki organizowanym na Wydziale Chemii - „Analiza materiału zabrudzonego krwią” i „Identyfikacja odcisków palca”
- ✓ W latach 2012, 2013, 2014 - Prowadziłam zajęcia w ramach promocji Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego - projekt pt: „Poprawa atrakcyjności studiowania na kierunku chemia w Uniwersytecie Opolskim” nr POKL.04.01.02-00-014/09.
- ✓ Brałam udział w licznych niedzielnych piknikach naukowych w ramach Festiwalu Nauki

Udział w pokazach dla dzieci i młodzieży

- ✓ Zajęcia laboratoryjne dla uczniów Gimnazjum z Brzegu, „Izolowanie kwasów nukleinowych” i „Hydroliza skrobi oraz tworzenie barwnych kompleksów skrobi z jodem”, październik 2006.
- ✓ Zajęcia laboratoryjne dla uczniów Liceum ze Strzelec Opolskich, „Izolowanie kwasów nukleinowych” i „Hydroliza skrobi oraz tworzenie barwnych kompleksów skrobi z jodem”, kwiecień 2006.
- ✓ Zajęcia laboratoryjne dla uczniów Publicznego Liceum Ogólnokształcące nr IV im. Generała Leopolda Okulickiego „Niedźwiadka” w Opolu, 18 grudzień 2009.
- ✓ Zajęcia laboratoryjne dla uczniów Publicznego Liceum Ogólnokształcące nr IV im. Generała Leopolda Okulickiego „Niedźwiadka” w Opolu, 8 styczeń 2010.
- ✓ Zajęcia z pokazami chemicznymi przeprowadzone w ramach promocji Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego – projekt pt: „Poprawa atrakcyjności studiowania na kierunku chemia w Uniwersytecie Opolskim”, nr POKL.04.01.02-00-014/09 w Gimnazjum w Skorogoszczy, 25 czerwiec 2010.
- ✓ Zajęcia laboratoryjne dla uczniów Gimnazjum w Skorogoszczy, 2 grudzień 2010.
- ✓ Pokazy dla dzieci z Sołectwa Chróścina, zajęcia zostały przeprowadzone w ramach promocji Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego, 21 maj 2011.
- ✓ Pokazy dla dzieci z Sołectwa Chróścina, zajęcia zostały przeprowadzone w ramach promocji Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego, 5 maj 2012.
- ✓ Pokazy chemiczne w Bibliotece w Skorogoszczy dla dzieci przebywających na półkoloniach, 6 lipiec 2012.
- ✓ Pokaz doświadczeń chemicznych dla uczniów Publicznego Gimnazjum nr 4 im. Karola Wojtyły w Kędzierzynie Koźlu, 29 listopad 2012.
- ✓ Zajęcia z pokazami chemicznymi przeprowadzone w ramach promocji Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego – projekt pt: „Poprawa atrakcyjności studiowania na kierunku chemia w Uniwersytecie Opolskim”, nr POKL.04.01.02-00-014/09 w Gimnazjum w Skorogoszczy, 18 grudzień 2012.
- ✓ Pokazy dla uczniów Zespołu Szkół w Komornie, 18 marzec 2013.
- ✓ Pokazy dla dzieci z Sołectwa Chróścina, zajęcia zostały przeprowadzone w ramach promocji Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego, 25 maj 2013.
- ✓ Pokazy dla uczniów Zespołu Szkół w Dobrzeniu Wielkim, 11 czerwiec 2013.
- ✓ Pokazy dla Publicznego Liceum Ogólnokształcącego nr. VI im. Generała Leopolda Okulickiego „Niedźwiadka” w Opolu, 10 grudzień 2013.
- ✓ Pokazy dla dzieci z Sołectwa Chróścina, zajęcia zostały przeprowadzone w ramach promocji Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego, 17 maj 2014.
- ✓ Pokazy dla uczniów Gimnazjum im. Polskich Noblistów w Łosiu, 16 czerwiec 2014.
- ✓ Pokazy dla uczniów Zespołu Szkół Licealno-Technicznych w Kluczborku. Zajęcia zostały przeprowadzone w ramach promocji Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego – projekt pt.: „Poprawa atrakcyjności studiowania na kierunku chemia w Uniwersytecie Opolskim”, 17 listopad 2014.
- ✓ Pokazy dla uczniów z Zespołu Szkół im. Polskich Noblistów w Łambinowicach, 19 marzec 2015.
- ✓ Pokazy dla uczniów z Zespołu Szkół im. Polskich Noblistów w Łambinowicach, 26 marzec 2015.
- ✓ Pokaz doświadczeń chemicznych dla dzieci w Zespole Szkolno-Przedszkolnym w Halinowie (woj. Mazowieckie), 30 kwiecień 2015.
- ✓ Pokazy dla Zespołu Gimnazjalno-Szkolnego w Długomiłowicach, 7 maj 2015.

- ✓ Pokazy dla II Liceum Ogólnokształcącego im. Mikołaja Kopernika w Kędzierzynie – Koźlu, 11 maj 2015.
- ✓ Pokazy dla II Liceum Ogólnokształcącego im. Mikołaja Kopernika, w Kędzierzynie – Koźlu, 29 październik 2015.
- ✓ Pokazy dla uczniów Zespołu Szkół Ogólnokształcących nr 1 Publicznego Gimnazjum nr 6 w Opolu, 28 styczeń 2016.
- ✓ Pokazy dla uczniów Publicznego Gimnazjum nr 1 w Zawadzkiem, 10 marzec 2016.
- ✓ Pokazy dla uczniów Zespołu Szkół Ogólnokształcących w Strzelcach Opolskich, 9 wrzesień 2016.
- ✓ Pokazy dla uczniów Publicznej szkoły Podstawowej nr 11 w Opolu, 24 listopad 2016.
- ✓ Pokaz doświadczeń chemicznych dla dzieci w Zespole Szkolno-Przedszkolnym w Halinowie (woj. Mazowieckie), 21 maj 2018.
- ✓ Pokazy dla uczniów Zespołu Szkół zawodowych w Brzegu, 26 październik 2023.

Aktywność organizacyjna:

- Od 2007 roku jestem kierownikiem pracowni Biochemii;
- Brałam czynny udział przy organizacji 51 Zjazdu Polskiego Towarzystwa Chemicznego oraz Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Crzemysłu chemicznego organizowanego w Opolu w dniach 7-11 wrzesień 2008;
- W latach 2009 i 2010 byłam Członkiem Komisji Rekrutacyjnej na Wydziale Chemii;
- W roku 2010 byłam koordynator Festiwalu Nauki na Wydziale Chemii;
- W kadencjach: 2012-2016 i 2016-2020 byłam członkiem Rady Wydziału Chemii na Uniwersytecie Opolskim;
- Od 2012 roku jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Chemicznego;
- W kadencjach: 2008-2012, 2012-2016 i 2016-2020 byłam członkiem Wydziałowej Komisji Wyborczej na Wydziale Chemii, Uniwersytetu Opolskiego;
- W kadencjach 2016 – 2018 i 2019 – 2020 byłam zastępcą Przewodniczącego Opolskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Chemicznego;
- 6 lipca 2017 brałam udział w organizacji testu kompetencji poznawczych dla kandydatów na pierwszy rok kierunku lekarskiego;
- Jestem członkiem Związku Nauczycielstwa Polskiego;
- W kadencji 2019-2024 jestem przewodniczącą Komisji Rewizyjnej ZNP w Uniwersytecie Opolskim;

Nagrody:

- ✓ W roku 2010 otrzymałam Nagrodę JM Rektora Uniwersytetu Opolskiego za pełne zaangażowanie wykonywanie obowiązków nauczyciela akademickiego, aktywność naukową i organizacyjną oraz działalność na rzecz rozwoju i stałego podnoszenia prestiżu Wydziału Chemii w roku akademickim 2009/2010.

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

- ✓ Uczestniczyłam w szkoleniu „Możliwości rozwoju firm spin-off i spin-out na Uniwersytecie Opolskim” zorganizowanym przez Akademicki Inkubator Przedsiębiorczości Uniwersytetu Opolskiego, 22 czerwiec 2009 – 30 lipiec 2009.

- ✓ Uczestniczyłam w indywidualnych konsultacjach z zakresu komercjalizacji wiedzy o tematyce tworzenia firm typu spin-off oraz spin-out skierowanych do pracowników przedsiębiorstw i pracowników naukowo-dydaktycznych zorganizowanych w ramach projektu pt. „Od nauki do biznesu. Projekt wsparcia spin-off” realizowanego w ramach Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki Działanie 8.2 Transfer wiedzy Poddziałanie 8.2.1. Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, 26 październik 2010 – 16 grudzień 2010.
- ✓ 17 października 2012 uczestniczyłam w seminarium poświęconym technice Real-Time PCR, prowadzonym przez dr Steve’a Hawkinsa (Bioline Ltd.) organizowanym przez Blirt S.A., dział DNA-Gdańsk na Uniwersytecie Opolskim.
- ✓ W terminach: 22 marzec 2023 (6 godzin), 5 Kwiecień 2023 (6 godzin), 26 Kwiecień 2023 (6 godzin) uczestniczyłam w Warsztatach Specjalistycznych Doskonalących z Zakresu Wiedzy o Niepełnosprawności. Szkolenie to zostało zrealizowane w ramach projektu „Uniwersytet Opolski uczelnia (bardzo!) dostępna.

Beata Gąsowska-Bajger
(podpis wnioskodawcy)



**WYDZIAŁ
CHEMII I FARMACJI**
UNIWERSYTET OPOLSKI

WYKAZ OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

dr Beata Gąsowska-Bajger

Opole 2025

Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny

I. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY

Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, stanowiących osiągnięcia naukowe, zgodnie z art. 219 ust. 1. Pkt 2b Ustawy, z określeniem wkładu pracy udziału habilitanta:

(*) Autor korespondencyjny

| | | |
|-----------|--|---|
| H1 | Frąckowiak-Wojtasek B, Gąsowska-Bajger B , Mazurek M, Raniszewska A, Logghe M, Smolarczyk R, Cichoń T, Szala S, Wojtasek W* | IF ₂₀₁₄ = 3,447 IF ₂₀₂₂ = 6,7 |
| | <i>Synthesis and analysis of activity of a potential anti-melanoma prodrug with a hydrazine linker.</i> | IF _{5-letni} = 6,5 |
| | European Journal of Medicinal Chemistry, 2014 , 71, 98-104 doi:10.1016/j.ejmech.2013.10.080 | Pkt. MEiN ₂₀₁₄ = 40 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 140 |

Praca oryginalna

Mój wkład w publikację obejmował: udział w sformułowaniu koncepcji pracy dotyczącej badań enzymatycznych (opracowanie metody izolacji tyrozynazy z pieczarki (*Agaricus bisporus*), opracowanie metodologii i warunków badań dla reakcji enzymatycznych w tym pomiarów spektrofotometrycznych dla reakcji enzymatycznego utleniania N-{4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-N'-(4-hydroksybenzylideno)-hydrazyna przez tyrozinazę; przygotowanie wszystkich próbek do analiz HPLC; opracowanie koncepcji metody izolacji produktu enzymatycznego utleniania N-{4-[bis-(2-chloroetylo)amino]benzoilo}-N'-(4-hydroksybenzylideno)-hydrazyny przez tyrozinazę; przygotowanie próbek poreakcyjnych do analiz NMR; analiza wszystkich przeprowadzonych przeze mnie badań oraz interpretacja wyników; udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu; edycja tekstu; czynny udział w przygotowaniu odpowiedzi na pytania i uwagi recenzentów;

| | | |
|-----------|--|---|
| H2 | Gąsowska-Bajger B , Wojtasek H* | IF ₂₀₁₆ = 3,154 IF ₂₀₂₂ = 6,1 |
| | <i>Reactions of flavonoids with o-quinones interfere with the spectrophotometric assay of tyrosinase activity.</i> | IF _{5-letni} = 6,3 |
| | Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016 , 64(26), 5417-27 doi:10.1021/acs.jafc.6b01896 | Pkt. MEiN ₂₀₁₆ = 45 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 140 |

Artykuł ten został wybrany do specjalnego wydania internetowego zatytułowanego „Advances in Polyphenol Research” (S. de Pascual-Teresa, M.N. Clifford, Advances in Polyphenol Research: A Journal of Agricultural and Food Chemistry Virtual Issue, *J. Agr. Food Chem.* **65** (2017) 8093-8095) spośród ok. 500 artykułów poświęconych polifenolom, opublikowanych w latach 2016 i 2017 w tym czasopiśmie jako jeden z 22 artykułów, które, w opinii redaktorów, „excel in terms of novelty in their hypothesis and methodology”.

Praca oryginalna

Mój wkład w publikację obejmował: udział w sformułowaniu koncepcji pracy dotyczącej przeprowadzenia wszystkich badań enzymatycznych (spektrofotometrycznych i pomiarów zużycia tlenu); wykonanie przeglądu literatury dotyczącej tematu; wykonanie wszystkich eksperymentów; analiza wszystkich przeprowadzonych przeze mnie badań i interpretacja

wyników; udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu; edycja tekstu; udział w opracowaniu odpowiedzi na pytania i uwagi recenzentów;

| | | |
|-----------|--|--|
| H3 | Gąsowska-Bajger B , Nishigaya Y, Hirsz-Wiktorzak K, Rybczyńska A, Yamazaki T, Wojtasek H* <i>Interference of carbidopa and other catechols with reactions catalyzed by peroxidases.</i> Biochemica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects, 2018 , 1862(7), 1626-1634 doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.04.007 | IF ₂₀₁₈ = 3,681 IF ₂₀₂₂ = 3,0 IF _{5-letni} = 3,4 Pkt. MEiN ₂₀₁₈ = 35 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 100 |
|-----------|--|--|

Praca oryginalna

Mój wkład w publikację obejmował: udział w sformułowaniu koncepcji pracy dotyczącej badań enzymatycznych; koncepcja metodologii izolacji mieloperoksydazy ze śledziony wołowej; opracowanie metody i warunków wykonania pomiarów spektrofotometrycznych podczas reakcji enzymatycznego utleniania karbidopy przez mieloperoksydazę, laktoperoksydazę, peroksydazę chrzanową oraz tyrozinazę; opracowanie metody i warunków wykonania pomiarów spektrofotometrycznych podczas reakcji wykazujących wpływ karbidopa na aktywność peroksydazową mieloperoksydazy i laktoperoksydazy; opracowanie i przygotowanie wszystkich próbek do analiz HPLC dla mieszanin reakcyjnych po inkubacji karbidopa z mieloperoksydazą, laktoperoksydazą, peroksydazą chrzanową i tyrozinazą; koncepcja przeprowadzenia oraz wykonanie nieodwracalnej inhibicji karbidopy z mieloperoksydazą i laktoperoksydazą; koncepcja metodologii dla pomiarów zużycia nadtlenu wodoru (podczas reakcji enzymatycznego utleniania *o*-dianizydiny przez mieloperoksydazę w obecności karbidopa, podczas reakcji enzymatycznego utleniania kwasu 2,2'-azyno-bis-(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego (ABTS) przez laktoperoksydazę w obecności karbidopa); zaprojektowanie i wykonanie pomiarów spektrofotometrycznych dla reakcji enzymatycznego utleniania *o*-dianizydiny w obecności L-dopa, kwasu 3-(3,4-dihydroksyfenylo)propanowego, kwasu 3,4-dihydroksyfenylooctowego, hydrazyny, fenelzyny i izoniazydu przez mieloperoksydazę; zaprojektowanie i wykonanie pomiarów spektrofotometrycznych dla reakcji enzymatycznego utleniania 4-aminoantypiryny w obecności L-dopa, dopaminy, kwasu 3-(3,4-dihydroksyfenylo)propanowego i kwasu 3,4-dihydroksyfenylooctowego przez peroksydazę chrzanową; analiza wszystkich przeprowadzonych przeze mnie badań oraz interpretacja uzyskanych wyników; udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu; edycja tekstu; udział w opracowaniu odpowiedzi na pytania i uwagi recenzentów;

| | | |
|-----------|---|--|
| H4 | Tarasek D, Gąsowska-Bajger B , Wojtasek H* <i>Mechanisms of interference of p-diphenols with the Trinder reaction.</i> Bioorganic Chemistry, 2020 , 97, 103692 doi:10.1016/j.bioorg.2020.103692 | IF ₂₀₂₀ = 5,275 IF _{obecnie} = 5,1 IF _{5-letni} = 5,3 Pkt. MEiN ₂₀₂₀ = 100 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 100 |
|-----------|---|--|

Praca oryginalna

Mój wkład w publikację jako promotora pomocniczego w pracy doktorskiej mgr Damiana Taraska obejmował: udział w sformułowaniu koncepcji pracy dotyczącej przeprowadzenia spektrofotometrycznej reakcji enzymatycznych; wsparcie i nadzór przy opracowaniu przeglądu literatury tematu; zaplanowanie, dobór metodologii badań i wykonanie pomiarów spektrofotometrycznych dla wykazania wpływu badanych *p*-difenoli na tworzenie chromoforu chinonoiminowego w reakcji Trindera z 4-aminoantypiryną i fenolem; analiza wszystkich przeprowadzonych przeze mnie i doktoranta badań oraz udział w interpretacji wyników; udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu; edycja tekstu; udział w opracowaniu odpowiedzi na pytania i uwagi recenzentów;

| | | |
|-----------|---|--|
| H5 | Tarasek D, Gąsowska-Bajger B , Frąckowiak-Wojtasek B, Kersten C, Jewgiński M, Kołodziej Ł, Latajka R, Wojtasek H* <i>Oxidation of dobutamine and dopamine by horseradish peroxidase.</i> Journal of Molecular Structure, 2022 , 1252, 132169 doi:10.1016/j.molstruc.2021.132169 | IF ₂₀₂₂ = 3,8 IF _{obecnie} = 3,8 IF _{5-letni} = 3,2 Pkt. MEiN ₂₀₂₂ = 70 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 70 |
|-----------|---|--|

Praca oryginalna

Mój wkład w publikację jako promotor pomocniczy w pracy doktorskiej mgr Damiana Taraska obejmował: udział w sformułowaniu koncepcji pracy dotyczącej pomiarów spektrofotometrycznych; koncepcja, zaplanowanie, dobór metodologii badań oraz wykonanie pomiarów spektrofotometrycznych wykazujących wpływ fenoli (fenol, *p*-krezol, 4-*n*-butylofenol i 4-*tert*-butylofenol) na reakcję enzymatycznego utleniania dopaminy przez peroksydazę chrzanową oraz pomiarów spektrofotometrycznych dla reakcji enzymatycznego utleniania dopaminy, dobutaminy i metylowego analogu dobutaminy przez peroksydazę chrzanową; interpretacja wszystkich uzyskanych przeze mnie i doktoranta wyników oraz udział w ich analizie; udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu; edycja tekstu; udział w przygotowaniu odpowiedzi na pytania i uwagi recenzentów;

| | | |
|-----------|---|--|
| H6 | Gąsowska-Bajger B , Wojtasek H* <i>Oxidation of baicalein by tyrosinase and by o-quinones.</i> International Journal of Biological Macromolecules, 2023 , 231, 123317 doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.123317 | IF ₂₀₂₃ = 8,2 IF _{obecnie} = 8,2 IF _{5-letni} = 7,8 Pkt. MEiN ₂₀₂₃ = 100 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 100 |
|-----------|---|--|

Praca oryginalna

Mój wkład w publikację obejmował: udział w sformułowaniu koncepcji pracy; wykonanie przeglądu literatury dotyczącej tematyki badań; koncepcja, dobór metodologii oraz przeprowadzenie wszystkich eksperymentów (pomiarów spektrofotometrycznych, zużycia tlenu oraz analiz HPLC); interpretacja i analiza wszystkich uzyskanych przeze mnie wyników; udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu; edycja tekstu; udział w przygotowaniu odpowiedzi na pytania i uwagi recenzentów;

| | | |
|-----------|---|--|
| H7 | Frąckowiak-Wojtasek B, Gąsowska-Bajger B , Tarasek D, Mytnik M, Wojtasek H* <i>Oxidation of anti-thyroid drugs and their selenium analogs by ABTH radical cation.</i> Bioorganic Chemistry, 2023 , 141, 106891 doi:10.1016/j.bioorg.2023.106891 | IF ₂₀₂₄ = 5,1 IF _{obecnie} = 5,1 IF _{5-letni} = 5,3 Pkt. MEiN ₂₀₂₃ = 140 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 100 |
|-----------|---|--|

Praca oryginalna

Mój wkład w publikację obejmował: udział w sformułowaniu koncepcji pracy dotyczącej badań enzymatycznych; dobór metodologii badań oraz wykonanie pomiarów spektrofotometrycznych enzymatycznego utleniania kwasu 2,2'-azy-no-bis-(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego (ABTS) przez laktoperoksydazę w obecności 6-*n*-propylo-2-tiouracylu, metimazolu, i jego selenowych analogów; dobór metody i wykonanie pomiarów stężenia nadtlenu wodoru podczas utleniania ABTS przez laktoperoksydazę w obecności wszystkich badanych związków; interpretacja wyników; udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu; edycja tekstu;

udział w przygotowaniu odpowiedzi na pytania i uwagi recenzentów;

| | | |
|-----------|--|--|
| H8 | Gąsowska-Bajger B* , Sosnowska K, Gąsowska-Bodnar A, Bodnar L, <i>The Effect of Acetylsalicylic Acid, as a Representative Non-Steroid Anti-Inflammatory Drug, on the Activity of Myeloperoxidase.</i> Pharmaceuticals, 2023 , 16(7), 1012 doi:10.3390/ph16071012 | IF ₂₀₂₃ = 4,6 IF _{obecnie} = 4,6 IF _{5-letni} = 4,9 Pkt. MEiN ₂₀₂₃ = 140 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 100 |
|-----------|--|--|

Praca oryginalna

Mój wkład w publikację obejmował: sformułowanie i uzgodnienie ze współautorami koncepcji pracy; jako promotor pracy licencjackiej Kingi Sosnowskiej opracowanie programu tej pracy; wsparcie w przeglądzie i doborze literatury; udział w doborze metodologii badań; nadzór i koordynacja badań z zakresu pomiarów spektrofotometrycznych dla reakcji utleniania kwasu acetylosalicylowego przez mieloperoksydazę; wsparcie przy wykonywaniu pomiarów spektrofotometrycznych dla reakcji enzymatycznego utleniania *o*-dianizydyny przez mieloperoksydazę w obecności kwasu acetylosalicylowego; wyznaczenie % inhibicji dla różnych stężeń kwasu acetylosalicylowego po reakcji enzymatycznego utleniania *o*-dianizydyny; nadzór i opieka nad licencjatką przy wykonaniu pomiarów spektrofotometrycznych dla reakcji enzymatycznego utleniania monochlorodimedonu przez mieloperoksydazę w obecności kwasu acetylosalicylowego; wyznaczenie % inhibicji dla różnych stężeń kwasu acetylosalicylowego po reakcji enzymatycznego utleniania monochlorodimedonu; wykonanie pomiarów spektrofotometrycznych dla reakcji enzymatycznego utleniania fenolu/4-aminoantypiryny przez mieloperoksydazę w obecności kwasu acetylosalicylowego; wyznaczenie % inhibicji dla różnych stężeń kwasu acetylosalicylowego w reakcji enzymatycznego utleniania fenolu/4-aminoantypiryn; interpretacja wszystkich wykonanych przeze mnie i licencjatkę wyników; przygotowanie pierwotnej wersji manuskryptu; przeprowadzenie pracy przez proces publikacji (autor korespondencyjny);

| | | |
|-----------|--|---|
| H9 | Gąsowska-Bajger B , Wojtasek H* <i>Epigallocatechin and epigallocatechin-3-gallate are not inhibitors of tyrosinase.</i> Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2024 , 113(15), 129976 doi.org/10.1016/j.bmcl.2024.129976 | IF ₂₀₂₄ = 2,5 IF _{5-letni} = 2,832 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 70 |
|-----------|--|---|

Praca oryginalna

Mój wkład w publikację obejmował: udział w sformułowaniu koncepcji pracy; wykonanie przeglądu literatury; zaplanowanie, dobór metodologii badań i wykonanie wszystkich eksperymentów; udział w analizie wszystkich wykonanych przeze mnie eksperymentów oraz interpretacji uzyskanych wyników; udział w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu; edycja tekstu; udział w odpowiedziach na pytania i uwagi recenzentów;

1. Sumaryczny IF (z roku wydania publikacji) powyższych 9 prac wynosi: **39,757** (średnio **4,414** na jedną pracę)
2. Sumaryczny IF (obecnie) powyższych 9 prac wynosi: **45,100** (średnio **5,011** na jedną pracę)
3. Sumaryczny 5-letni IF powyższych 9 prac wynosi: **45, 532** (średnio **5,059** na jedną pracę)
4. Sumaryczna liczba punktów MEiN w oparciu o punkty na rok wydania publikacji wynosi: **740**

(średnio **82,222** na jedną pracę)

5. Sumaryczna liczba punktów MEiN w oparciu o zaktualizowane dane z dnia 19.03.2024 r. wynosi: **920**
(średnio **102,222** na jedną pracę)

II. INFORMACJA O AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ

1. Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).
-
2. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.
-
3. Wykaz członkostwa w redakcjach naukowych monografii.
-
4. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w osiągnięciu habilitacyjnym).

Po uzyskaniu stopnia doktora (P1-P8) z wyłączeniem prac H1-H9:

Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Web of Science Core Collection:

(*) Autor korespondencyjny

| | |
|---|---|
| <p>P1 Gąsowska B, Frąckowiak B, Wojtasek H* <i>Indirect oxidation of amino acid phenylhydrazides by mushroom tyrosinase.</i> Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 2006, 1760(9), 1373-1379 doi:10.1016/j.bbagen.2006.05.001</p> <p>Praca oryginalna</p> | <p>IF₂₀₀₆ = 2,024 IF₂₀₂₂ = 3,0 IF_{5-letni} = 3,40 Pkt. MEiN₂₀₀₆ = 20 Pkt. MEiN₂₀₂₄ = 100</p> |
| <p>P2 Gąsowska-Bajger B, Wojtasek H* <i>Indirect oxidation of the antitumor agent procarbazine by tyrosinase—Possible application in designing anti-melanoma prodrugs.</i> Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2008, 18(11), 3296-3300 doi:10.1016/j.bmcl.2008.04.041</p> <p>Praca oryginalna</p> | <p>IF₂₀₀₈ = 2,737 IF₂₀₂₂ = 2,7 IF_{5-letni} = 2,6 Pkt. MEiN₂₀₀₈ = 24 Pkt. MEiN₂₀₂₄ = 70</p> |
| <p>P3 Gąsowska-Bajger B, Frąckowiak-Wojtasek B, Koj S, Cichoń T, Smolarczyk R, Szala S, Wojtasek H* <i>Oxidation of carbidopa by tyrosinase and its effect on murine melanoma.</i> Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009, 9(13), 3507-3510 doi:10.1016/j.bmcl.2009.05.002</p> <p>Praca oryginalna</p> | <p>IF₂₀₀₉ = 2,65 IF₂₀₂₂ = 2,7 IF_{5-letni} = 2,6 Pkt. MEiN₂₀₀₉ = 32 Pkt. MEiN₂₀₂₄ = 70</p> |
| <p>P4 Gąsowska-Bajger B*, Gąsowska-Bodnar A, Knapp P, Bodnar L</p> | <p>IF₂₀₂₁ = 4,964</p> |

| | | |
|---------------------------------|---|---|
| | <i>Prognostic Significance of Survivin Expression in Patients with Ovarian Carcinoma: A Meta-Analysis.</i> Journal of Clinical Medicine, 2021 , 10(4), 879 doi:10.3390/jcm10040879 | IF ₂₀₂₂ = 3,9 IF _{5-letni} = 4,1 Pkt. MEiN ₂₀₂₁ = 140 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 140 |
| Metaanaliza | | |
| P5 | Nackiewicz J*, Gąsowska-Bajger B , Kołodziej Ł, Poliwoda A, Pogoda-Mieszczak K, Skonieczna M <i>Comparison of the degradation mechanisms of diclofenac in the presence of iron octacarboxyphthalocyanine and myeloperoxidase.</i> Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2023 , 287(2), 122113 doi:10.1016/j.saa.2022.122113 | IF ₂₀₂₃ = 4,4 IF ₂₀₂₂ = 4,4 IF _{5-letni} = 3,9 Pkt. MEiN ₂₀₂₃ = 140 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 140 |
| Praca oryginalna | | |
| <u>Prace nie wykazane w JCR</u> | | |
| P6 | Gąsowska-Bajger B , Wojtasek H* <i>Błędy w badaniach reakcji enzymatycznych wynikające z nieprzewidywanych reakcji utleniania-redukcji</i> Chemik, 2014 , 68(4), 341-343 | IF ₂₀₁₄ = 0 IF ₂₀₂₂ = 0 IF _{5-letni} = 0 Pkt. MEiN ₂₀₁₄ = 8 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 20 |
| Praca przeglądowa | | |
| P7 | Gąsowska-Bajger B , Wojtasek H* <i>Errors in the studies of enzymatic reactions resulting from unforeseen oxidation-reduction reactions,</i> Chemik, 2014 , 68(4), 343-346 | IF ₂₀₁₄ = 0 IF ₂₀₂₂ = 0 IF _{5-letni} = 0 Pkt. MEiN ₂₀₁₄ = 8 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 20 |
| P8 | Gąsowska-Bajger B* , Gąsowska-Bodnar A, Bodnar L <i>Properties and functions of myeloperoxidase and its role in ovarian cancer.</i> Medical Science Pulse, 2022 , 16(3), 23-32 doi:10.5604/01.3001.0015.9645 | IF ₂₀₂₂ = 0 IF ₂₀₂₂ = 0 IF _{5-letni} = 0 Pkt. MEiN ₂₀₂₂ = 40 Pkt. MEiN ₂₀₂₄ = 40 |
| Praca przeglądowa | | |

Oryginalne prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora (D1-D3):

Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Web of Science Core Collection:

| | | |
|-----------|--|--|
| D1 | Gąsowska B , Wojtasek H*, Hurek J, Drağ M, Nowak K, Kafarski P <i>Redox reaction between amino-(3,4-dihydroxyphenyl)methyl</i> | IF ₂₀₀₂ = 3,579 IF ₂₀₂₂ = 5,4 |
|-----------|--|--|

| | |
|---|---|
| <p><i>phosphonic acid and dopaquinone is responsible for the apparent inhibitory effect on tyrosinase.</i> European Journal of Biochemistry, 2002, 269(16), 4098-4104 doi:10.1046/j.1432-1033.2002.03103.x</p> <p>European Journal of Biochemistry od 2005 roku jako FEBS Journal</p> <p>Praca oryginalna</p> | <p>IF_{5-letni} = 5,4 Pkt. MEiN₂₀₀₂ = 16 Pkt. MEiN₂₀₂₄ = 100</p> |
| <p>D2 Hurek J*, Nowak K, Gąsowska B <i>Polarographic determination of tyrosinase activity in enzymatic reaction with tyrosine as a substrate.</i> Chemia Analityczna, 2003, 48, 283-291</p> <p>Praca oryginalna</p> | <p>IF₂₀₀₆ = 2,024 IF₂₀₂₂ = 3,0 IF_{5-letni} = 3,40 Pkt. MEiN₂₀₀₆ = 20 Pkt. MEiN₂₀₂₄ = 100</p> |
| <p>D3 Gąsowska B, Kafarski P, Wojtasek H* <i>Interaction of mushroom tyrosinase with aromatic amines, o-diamines and o-aminophenols.</i> Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 2004, 1673(3), 170-177 doi:10.1016/j.bbagen.2004.04.013</p> <p>Praca oryginalna</p> | <p>IF₂₀₀₄ = 3,369 IF₂₀₂₂ = 3,0 IF_{5-letni} = 3,40 Pkt. MEiN₂₀₀₄ = 20 Pkt. MEiN₂₀₂₄ = 100</p> |

5. Wykaz osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt. 1.3).

Nie dotyczy

6. Wykaz publicznych realizacji dzieł artystycznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt. 1.3)

Nie dotyczy

7. Wykaz wystąpień na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów planarnych.

Osobiście zaprezentowane wykłady na zaproszenie:

- Gąsowska-Bajger B** „*Indirect oxidation procarbazine (hydrazine derivative) by tyrosinase and the possibility of use as prodrug in the treatment of melanoma malignum*“, wykład dla pracowników Polymerics GmbH, Berlin, 24 wrzesień 2010
- Gąsowska-Bajger B** „Wpływ karbidopy na aktywność peroksydaz ssaczych: laktoperoksydazy i mieloperoksydazy”, wykład dla pracowników Laboratorium Analitycznego i Mikrobiologicznego Szpitala Wojewódzkiego w Opolu, 10 luty 2011

Referaty

1. Kafarski P, Drağ M, Wojtasek H, **Gąsowska B** „*Chemiczne utlenienie fosfonowych analogów DOPA – dihydroksyfenyloalaniny*” Chemistry for Agriculture, XXVIII International Scientific Research Seminar, 3-6 grudzień 2002, Jeseník, Republika Czeska
2. Kafarski, P, Drağ M, Wojtasek H, **Gąsowska B** “*Chemical versus enzymatic oxidation of phosphonic analogues of tyrosine and dihydroxyphenylalanine (DOPA)*” The International Symposium Devoted to the 100th Anniversary of Academician A.V. Kirsanov, 21-23 sierpień 2002, Kijów, Ukraina
3. Drağ M, Wojtasek H, Jezierski A, **Gąsowska B**, Kafarski P “*First example of the chemical, oxidative cleavage of the C-P bond in organophosphorus chemistry. The oxidation of phosphonic and phosphinic homologues of DOPA by NaIO₄*” 13th European Symposium on Organic Chemistry, 10-15 wrzesień 2003 Cavtat-Dubrovnik, Chorwacja
4. **Gąsowska B**, Völkert M, Waldmann H, Wojtasek H „*Oxidation of synthetic and natural amino acid phenylhydrazides by tyrosinase – implications for their mutagenic effects*” Chemistry for Agriculture, XXIX International Scientific Research Seminar, 9-12 grudzień 2003, Jeseník, Republika Czeska
5. **Gąsowska B** „*Pośrednie utlenianie pochodnych hydrazyny przez tyrozinazę – możliwości zastosowania w projektowaniu proleków przeciwko czerniakowi złośliwemu*” III Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów Wydziałów Chemicznych pn. „Na Pograniczu Biologii i Chemii”, 8-11 czerwiec 2005, Krasiczyn – Lwów
6. Wojtasek, H, **Gąsowska-Bajger B**, Frąckowiak B, Rychlik A “*Application of a hydrazine linker In construction of tyrosinase-activated anti-melanoma prodrugs*” 42 Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, 18-21 wrzesień 2007, Szczecin
7. Wojtasek H, Frąckowiak-Wojtasek B, Gąsowska-Bajger B, Gonska A, Pasternak M, Cichoń T, Smolarczyk R, Szala S „*Tyrosinase-activated anti-melanoma prodrugs with a hydrazine linker-synthesis and activity*” 51 Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego oraz Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego, 7-11 wrzesień 2008, Opole
8. Moliszewska E, **Gąsowska-Bajger B** „*Melaniny grzybowe a patogeniczność względem roślin, w: Nowe osiągnięcia w biologicznej ochronie roślin przed chorobami*” XV Konferencja Sekcji Biologicznej Ochrony Roślin przed Chorobami Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego, 20-21 październik 2016, Bydgoszcz
9. Wojtasek H, **Gąsowska-Bajger B** „*Błędy w badaniach oksydoreduktaz wynikające z nieprzewidzianych reakcji ubocznych*” 59 Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego oraz Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego, 19-20 wrzesień 2016, Poznań
10. Tarasek D, **Gąsowska-Bajger B**, Frąckowiak-Wojtasek B, Drop A, Wojtasek H „*Wpływ aminoacetofenonów i ich tiosemikarbazonów na reakcje katalizowane przez tyrozinazę grzybową*” XLVIII Ogólnopolska Szkoła Chemii, 28 kwiecień–2 maj 2018, Karczewisko
11. Tarasek D, **Gąsowska-Bajger B**, Wojtasek H „*Wpływ kwasu homogentyzynowego oraz dobesilanu wapnia na reakcję katalizowaną przez peroksydazę chrzanową*” XLIX Ogólnopolska Szkoła Chemii, 30 listopad–2 grudzień 2018, Obrzycko

12. Tarasek D, **Gąsowska-Bajger B**, Wojtasek H „*Wpływ związków z ugrupowaniem p-difenolowym na reakcję katalizowaną przez peroksydazę chrzanową*” VII Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, 9-10 maj 2019, Łódź
13. Nackiewicz J, Kołodziej Ł, **Gąsowska-Bajger B**, Skonieczna M „*Zastosowanie transdermalnych pochodnych diclofenaku o potencjale przeciwnowotworowym w badaniach in vitro wobec linii komórkowej me45*” VIII Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 21 maj 2021, Gliwice
14. **Gąsowska-Bajger B**, Gąsowska-Bodnar A, Knapp P, Bodnar L „*Surwiwina jako potencjalny biomarker raka jajnika*” VIII Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 21 maj 2021, Gliwice
15. Tarasek D, **Gąsowska-Bajger B**, Wojtasek H „*Różnice w utlenieniu dopaminy i dobutaminy przez peroksydazę chrzanową*” VIII Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, 24 wrzesień 2021, Łódź
16. Stok A, Komisarczyk E, Klabuhn B, Herman K, Gulec A, Skubisz W, Mainka A, Kasprzycka A, Nackiewicz J, **Gąsowska-Bajger B**, Skonieczna M „*Mikro- i nanozanieczyszczenia środowiskowe o potencjale pro- i przeciwnowotworowym w badaniach in vitro*” IX Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 27-28 maj 2022, Istebna
17. Nackiewicz J, Kołodziej Ł, **Gąsowska-Bajger B**, Poliwoda A, Skonieczna M „*Porównanie aktywności oktakarboksyfaloocyanin żelaza i mieloperoksydazy w procesie degradacji diklofenaku*” IX Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 27-28 maj 2022, Istebna
18. **Gąsowska-Bajger B**, Pawełczak M, Kusakiewicz-Dawid A, Kulczyńska J „*Analiza wpływu pochodnych pirazoli na reakcje katalizowane przez aminopeptydazę leucynową*”. X Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 19-21 maj 2023, Pokrzywna
19. **Gąsowska-Bajger B**, Pawełczak M, „*Wpływ związków powszechnie stosowanych w chemioterapii na aktywność aminopeptydaz*”. XI Śląskie Spotkania Naukowe pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 17-19 maj 2024, Ustroń

Postery

1. **Gąsowska B**, Nowak K, Kafarski P “*Influence of dipeptides containing C-terminal phosphonate analog of dihydroxyphenylalanine on the activity of tyrosinase*” XVI Polish Peptide Symposium, 1-4 wrzesień 2001, Kraków–Przegorzały
2. **Gąsowska B**, Hurek J, Nowak K „*Zmiany potencjału redoks w reakcjach enzyma-tycznych katalizowanych przez tyrozinazę*” XXXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, 18-22 wrzesień 2002, Wrocław
3. **Gąsowska B**, Wojtasek H, Hurek J, Drag M, Nowak K, Kafarski P „*Apparent inhibition of tyrosinase by a phosphonic analog of 3,4-dihydroxy-phenylglycine*” Chemistry for

Agriculture, XXVIII International Scientific Research Seminar, 3-6 grudzień 2002, Jesenik, Republika Czeska

4. **Gąsowska-Bajger B**, Nishigaya Y, Hirsz-Wiktorzak K, Rybczyńska A, Yamazaki T., Wojtasek H, „*Wpływ karbidopy na aktywność laktoperoksydazy i mieloperoksydazy*” 57 Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego oraz Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego, 14-18 wrzesień 2014, Częstochowa

8. *Wykaz udziału w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji*

1. Współorganizator (Sekretarz sekcji S12 – Chemia medyczna) 51 Zjazdu Polskiego Towarzystwa Chemicznego oraz Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego, 7-11 września 2008, Opole
2. Członek zespołu oceniającego wystąpienia w trakcie wirtualnej konferencji w VIII Śląskich spotkaniach Naukowych, pod patronatem Politechniki Śląskiej w Gliwicach, Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach i Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem, 21 maj 2021, Gliwice

9. *Wykaz uczestnictwa w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów*

1. Grant zamawiany KBN Nr PBZ/KBN/060/T09/2001/035, „*Projektowanie, synteza i badanie aktywności przyjaznych dla środowiska herbicydów*”, okres realizacji 2002-2005, **wykonawca**
2. Projekt własny MEiN Nr 2 P05F 003 30, „*Synteza i analiza aktywności proleków przeciwko czerniakowi opartych na łączniku hydrazynowym, aktywowanych przez tyrozynazę*”, okres realizacji 24.05.2006-23.05.2009, **wykonawca**

10. *Wykaz członkostwa w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach*

- ✓ Członek Polskiego Towarzystwa Chemicznego
- ✓ Zastępca Przewodniczącego Opolskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Chemicznego w kadencjach: 2016-2018 oraz 2019-2020
- ✓ Członek Związku Nauczycielstwa Polskiego
- ✓ Przewodniczący Komisji Rewizyjnej ZNP w Uniwersytecie Opolskim w kadencji 2019-2024
- ✓ Przewodniczący Komisji Rewizyjnej ZNP w Uniwersytecie Opolskim w kadencji 2024-2026

11. *Wykaz staży w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru*

1. 5 czerwiec 2017 – 30 wrzesień 2017, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa, Laboratorium Onkologii Molekularnej, staż naukowy (4 miesiące)
2. 31 sierpień 2016 – 30 wrzesień 2016, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa, Laboratorium Onkologii Molekularnej, staż naukowy (1 miesiąc)

3. 1 lipiec 2012 – 30 wrzesień 2012, Szpital Wojewódzki, Opole, Laboratorium Mikrobiologiczne, staż naukowy (zorganizowany w ramach projektu „Uniwersytecki Asystent Innowacji” realizowanego w ramach Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki Działanie 8.2 Transfer wiedzy Poddziałanie 8.2.1 wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki i współfinansowany przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Społecznego - aplikowanie na staż odbywało się w ramach konkursu) (3 miesiące)
 4. 11 - 21 lipiec 2011, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa, Laboratorium Onkologii Molekularnej, staż naukowy (2 tygodnie)
 5. 8 - 10 luty 2011, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa, Studium Kliniczno-Dydaktyczne Zakładu Biochemii i Biologii Molekularnej „Techniki molekularne w biologii i medycynie – kurs indywidualny”, kurs doskonalący
 6. 1 październik 2010 – 30 marzec 2011, Szpital Wojewódzki, Opole, Laboratorium Mikrobiologiczne, staż naukowy (zorganizowany w ramach projektu „Wiedza i praktyka-klucz do sukcesu w biznesie” realizowanego w ramach Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki Działanie 8.2 Transfer wiedzy Poddziałanie 8.2.1 wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki - aplikowanie na staż odbywało się w ramach konkursu) (6 miesięcy)
 7. 20 – 25 wrzesień 2010, Polymerics GmbH, Berlin, Niemcy, staż naukowy (1 tydzień)
 8. 1 październik 2009 - 31 grudzień 2009, Szpital Wojewódzki, Opole, Laboratorium Analityczne, staż naukowy (zorganizowany w ramach projektu „Dobry staż” realizowanego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki Działanie 8.2 Transfer wiedzy Poddziałanie 8.2.1 wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw – aplikowanie na staż odbywało się w ramach konkursu) (3 miesiące)
 9. 7 – 9 maj 2008, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa, Studium Kliniczno-dydaktyczne Zakładu Biochemii i Biologii Molekularnej „Podstawy chromatografii. Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) peptydów i białek”, kurs indywidualny
 10. 22 wrzesień 2005, Klinika Nowotworów Tkanek Miękkich i Kości Centrum Onkologii – Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa, „Czerniak skóry – postępy w diagnostyce i leczeniu” – II konferencja naukowo-szkoleniowa
12. *Wykaz członkostwa w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach (np. redaktora naczelnego, przewodniczącego rady naukowej, itp.)*
- Brak
13. *Wykaz recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych*

Recenzje 39 publikacji dla:

Metabolites (IF = 4,1) – 2023 (1)
 International Journal of Molecular Science (IF = 5,6) – 2023 (2), 2022 (1)
 Medicine (IF = 2,6) – 2023 (4)
 Nutrients (IF = 5,9) – 2023 (2), 2022 (4)
 Cancers (IF = 5,2) – 2023 (2), 2022 (4), 2021 (3)
 Diagnostics (IF = 3,6) – 2022 (2)
 Current Oncology (IF = 2,6/ IF₂₀₂₄ = 2,8) – 2024 (1)2023 (1), 2022 (1), 2021 (1)

Pharmacy (IF = 2,2) – 2023 (1)
Healthcare (IF = 2,8) – 2023 (1), 2022 (1)
Journal of Clinical Medicine (IF = 3,9) – 2023 (2)
Genes (IF = 3,5) – 2023 (1)
Pharmaceuticals (IF = 4.3) – 2024 (1)
International Journal of Environmental Research and Public Health – 2021 (2), 2022 (1)

14. Wykaz uczestnictwa w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych

1. Grant współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego - Politechnika Śląska jako Centrum Nowoczesnego Kształcenia, opartego o badania i innowacje - (POWR.03.05.00.00-z098/17):

Edycja nr VII - Tytuł projektu: „Badanie transdermalnych mikro- i nanozanieczyszczeń środowiskowych, związków syntetycznych i pochodnych diklofenaku o potencjale pro- i przeciwnowotworowym w badaniach *in vitro* z użyciem zaawansowanych systemów hodowli 3D.” – wykonawca/ekspert w okresie 2021-2023

Edycja nr VIII - Tytuł projektu: „Nieinwazyjne badanie biodostępności (transportu) substancji aktywnych poprzez obserwacje mechanizmów dokomórkowego wnikania i lokalizacji w komórkach *in vitro*/Non-invasive study of the bioavailability (transport) of active substances by observing the mechanisms of intracellular penetration and localization in cells *in vitro*” - wykonawca/ekspert w okresie 2021-2023

Edycja nr IX - Tytuł projektu: „Indukcja regulowanej śmierci komórkowej w liniach nowotworowych poddanych edycji genomu techniką CRISPR/Cas-9 w obecności niesteroidowych leków przeciwwzapalnych i ich pochodnych” – wykonawca/ekspert w okresie 2021-2023

2. Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego „Od nauki do biznesu. Projekt wsparcia SPIN-OFF”, wyjazd studyjny Berlin, Drezno, Bautzen – 30 maj – 2 czerwiec 2010.

15. Wykaz udziału w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. 14

1. VI konkurs o przyznanie finansowania projektów studenckich kół naukowych (Program Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza). Współpraca naukowa z dr hab. Magdaleną Skonieczną, prof. PŚ.
Konkurs zorganizowany w ramach projektu „Włączenia studentów w badania naukowe za pośrednictwem kół naukowych, w ramach programu Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza”, w związku z udziałem Politechniki Śląskiej w programie Inicjatywa Doskonałości-Uczelnia Badawcza
Temat projektu: „Produkty komórkowego rozkładu niesteroidowych leków przeciwwzapalnych (NLPZ), jako potencjalne fotouczulacze w terapiach łączonych.” Termin realizacji (01-10-2024 do 28-02-2025 r.). Pełniona funkcja w projekcie - **ekspert**.

16. Wykaz uczestnictwa w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny

Brak

III. INFORMACJA O WSPÓLPRACY Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

1. Wykaz dorobku technologicznego

Brak

2. Informacja o współpracy z sektorem gospodarczym

1. 2 luty – 30 marzec 2015 - Staż W Firmie PPHU Germax w ramach projektu „Innowacyjne Opolskie”, realizowanym w ramach Priorytetu VIII Regionalne kadry gospodarki, Działania 8.2 Transfer wiedzy, Poddziałania 8.2.1 Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki przez Opolskie Centrum Demokracji Lokalnej FRDL w Opolu w partnerstwie z Marcin Rękawek (Strzeleckie Centrum Obsługi Biznesu), numer umowy: POK1.08.02.01-16-007/13-00 (2 miesiące)
2. 1 sierpień - 1 wrzesień 2021 staż w przedsiębiorstwie I'EARL Pierre Lotz en France (1 miesiąc)
3. 15 lipiec - 15 wrzesień 2022 staż w przedsiębiorstwie I'EARL Pierre Lotz en France (2 miesiące)

3. Wykaz uzyskanych praw własności przemysłowej, w tym uzyskanych patentów, krajowych lub międzynarodowych

Brak

4. Wykaz wdrożonych technologii

- ✓ Opracowanie technologii formułacji zestawu adiuwantów agrochemicznych, w skład którego wchodzi: środek poprawiający skuteczność prowadzonego oprysku, środek zwiększający przyczepność, pokrywy liścia i wchłanianie stosowanych agrochemikaliów w opryskach oraz środek niwelujący powstawanie piany w trakcie mieszania, rozpuszczania i transportu środka roboczego stosowanego w opryskach. Opracowanie składu i technologii formułacji środka do mycia opryskiwaczy rolniczych zapewniającego dokładne usunięcie (wymycie) maszyny z wszelkich agrochemikaliów stosowanych do oprysku dla przedsiębiorstwa PPHU GERMAX.
- ✓ Wdrożenie do produkcji zestawu adiuwantów agrochemicznych poprawiających skuteczność prowadzonego oprysku, zwiększających przyczepność i wchłanianie stosowanych środków dolistnych dla przedsiębiorstwa PPHU GERMAX.

5. Wykaz wykonywanych ekspertyz lub innych opracowań wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorstw

- ✓ Wykonanie ekspertyzy i oceny skuteczności działania opracowanych adiuwantów w środkach agrochemicznych, wykonanie i aktualizacja dokumentacji niezbędnej do wprowadzenia do obrotu substancji chemicznych w ramach współpracy i umowy z przedsiębiorstwem PPHU GERMAX.
- ✓ Opracowanie procedur w zakresie przygotowania, stosowania, bezpiecznego przechowywania i utylizacji środków chemicznych stosowanych w przedsiębiorstwie rolniczym I'EARL Pierre Lotz zapewniających bezpieczeństwo pracowników podczas pracy z tymi środkami.

6. Wykaz udziału w zespołach eksperckich lub konkursowych

Brak

7. Wykaz projektów artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi.

Brak

IV. DANE NAUKOMETRYCZNE

1. Impact Factor

Sumaryczny Impact Factor podano zgodnie z rokiem ukazania się pracy.

- Publikacje wchodzące w skład cyklu stanowiącego osiągnięcie habilitacyjne: IF = **39,757**
- Pozostałe publikacje spoza osiągnięcia (przed i po uzyskaniu stopnia doktora): IF = **24,283**
- Łącznie wszystkie publikacje: IF_{5 letni} = **64,04**

2. Liczba cytowań publikacji wnioskodawcy, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań

(Dane z dnia 31 styczeń 2024)

- według bazy Web of Science Core Collection – 177
- według bazy Web of Science Core Collection – (bez autocytowań) - 150
- według bazy Scopus - 194
- według bazy Scopus - (bez autocytowań) - 148

3. Indeksie Hirscha.

Dane z dnia 5 październik 2024

- według bazy Web of Science Core Collection – 8
- według bazy Scopus - 8

4. Punkty MEiN.

- Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia habilitacyjnego: **Pkt. MEiN = 740** (punktacja na dzień wydania pracy)
- Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia habilitacyjnego: **Pkt. MEiN = 920** (punktacja na dzień 5 październik 2024)

- Pozostałe publikacje spoza osiągnięcia (przed i po uzyskaniu stopnia doktora): **Pkt. MEiN = 456** (punktacja na dzień wydania pracy)

- Pozostałe publikacje spoza osiągnięcia (przed i po uzyskaniu stopnia doktora): **Pkt. MEiN = 870** (punktacja na dzień 5 październik 2024)

Łącznie wszystkie publikacje: Pkt. MEiN – 1196 (punktacja na dzień wydania pracy)

Łącznie wszystkie publikacje: Pkt. MEiN – 1790 (punktacja na dzień 5 październik 2024)

| Dorobek publikacyjny przed uzyskaniem stopnia doktora | Liczba prac | IF | IF _(5-letni) | MEiN | MEiN ₂₀₂₄ |
|--|-------------|---------------|-------------------------|-------------|----------------------|
| Prace oryginalne | 3 | 7,508 | 12,8 | 44 | 270 |
| Prace przeglądowe | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Razem | 3 | 7,508 | 12,8 | 44 | 270 |
| Dorobek publikacyjny po uzyskaniu stopnia doktora | Liczba prac | IF | IF _(5-letni) | MEiN | MEiN ₂₀₂₄ |
| Publikacje oryginalne wchodzące w skład osiągnięcia habilitacyjnego | 9 | 39,757 | 45,532 | 740 | 920 |
| Publikacje przeglądowe wchodzące w skład osiągnięcia habilitacyjnego | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Publikacje oryginalne spoza osiągnięcia habilitacyjnego | 4 | 11,811 | 12,5 | 216 | 380 |
| Publikacje przeglądowe spoza osiągnięcia habilitacyjnego | 4 | 4,964 | 4,1 | 196 | 220 |
| Razem | 17 | 56,532 | 62,123 | 1152 | 1520 |
| Razem (osiągnięcie + spoza osiągnięcia) | 20 | 64,040 | 74,932 | 1196 | 1790 |