

Prof. dr hab. Henryk Koroniak
Wydział Chemii
Uniwersytet Adama Mickiewicza
Poznań

RECENZJA
pracy doktorskiej mgr Krzysztofa Komodzińskiego
„Badania właściwości fotochemicznych azydonukleozydów purynowych w
kontekście ich potencjalnego wykorzystania jako czynników
fotozszywających w dwuniciowych układach oligonukleotyдовых”

Po raz kolejny w przeciągu ostatnich dwóch lat podjąłem się wykonania recenzji pracy doktorskiej wykonanej w grupie badawczej Profesora Bohdana Skalskiego, na Wydziale Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu. Tematyka pracy to konsekwentna kontynuacja badań w zakresie fotochemii nukleozydów purynowych (ale także i samych puryn). Tym razem temat pracy zatacza większy nieco obszar, gdyż jak to zostało zawarte w tytule, rozważane są możliwości wykorzystania reakcji fotochemicznej do fotozszywania łańcuchów oligonukleotyдовых, co mogłoby być wykorzystane w terapii chorób nowotworowych.

Tematyka badawcza dotycząca fotochemii puryn, także nukleozydów/nukleotydiv purynowych i pirymidynowych, rozwijana jest w grupie profesora Bohdana Skalskiego od wielu lat. W chwili obecnej koncentruje się przede wszystkim na fotochemii analogów purynowych i w tym obszarze umiejscowiony jest temat pracy doktorskiej Pana mgr Krzysztofa Komodzińskiego. W poprzedniej recenzji napisałem, że nie ukrywam osobistej nuty sentymentalnej związanej z tą tematyką, gdyż wiele lat temu również mój doktorat dotyczył fotochemicznej dimeryzacji pirymidyn (nie puryn...). W chwili obecnej mogę jedynie konstatować, jak daleko posunęły się badania w tym zakresie, w znacznym stopniu zahaczając o aspekty aplikacyjne. Po lekturze pracy doktorskiej muszę stwierdzić, że w osobie doktoranta, Pana mgr Krzysztofa Komodzińskiego, objawił się entuzjasta i precyzyjny badacz tych zagadnień.

Nakreślony i rozwiązywany w niniejszej pracy cel badawczy dotyczy generalnego nurtu badań, starającego się poznać i zrozumieć problem oddziaływań indukowanych światłem pomiędzy zasadami purynowymi (także pirymidynowymi). Precyzyjniej należy

dodać, że aktywowanie światłem prowadzi przede wszystkim do przemian układów, które to światło absorbują, co jest oczywistym truizmem. Istotne jednak okazało się zbadanie fotoprzemian analogów purynowych (pochodnych przede wszystkim adenozyne), a dalej próba zbadania jak te procesy mogą decydować i być wykorzystane w interakcji cząsteczek większych jakimi są oligonukleotydy. Oligonukleotydy są tutaj wykorzystane jako proste modele dla kwasów nukleinowych.

Praca doktorska mgr Krzysztofa Komodzińskiego zbudowana jest tradycyjnie. Część literaturowa (około 30 procent objętości) stanowi dobrze zaplanowane omówienie zagadnień nieodzownych dla wyjaśnienia badanych w pracy procesów. Dotyczy to więc obecnej wiedzy dotyczącej fotochemii puryn, w szczególności modyfikowanych grupą azydkową, omówienie procesu fotozszywania kluczowego dla dalszych badań, jak i omówienia metodyk syntetycznych umożliwiających uzyskanie zaplanowanych do badań azydopuryn.

Omówienie uzyskanych wyników (ta część pracy obejmuje około 40 procent objętości) jest bardzo rzetelnym, precyzyjnym i krytycznym opisem wykonanej pracy. W szczególności na wyróżnienie zasługuje staranność i precyzja dotycząca analityki jak i ustalania struktury produktów. Opis wykonanych prac doświadczalnych oraz spis odnośników literaturowych (obejmujący 177 pozycji) dopełnia całości.

Założone cele pracy zostały osiągnięte, co oznacza, że zaplanowana synteza szeregu pochodnych purynowych z grupą azydkową w pozycji 2 oraz 6 puryny zakończyła się sukcesem. Oceniając ten fragment rozprawy muszę stwierdzić, że Autor wykorzystywał znane procedury, jednakże doceniam już w tym miejscu wysiłek i umiejętności warsztatowe doktoranta, gdyż dla każdego kto pracował w tej tematyce wiadomo jakiej precyzji i cierpliwości wymaga ta praca. Kolejnym etapem badań było przebadanie fotoprzemian uzyskanych pochodnych azapurynowych, badając m.in. wpływ obecności tlenu (warunki aerobowe i anaerobowe) na reakcję fotochemiczną. Tak więc było to naświetlanie uzyskanego uprzednio materiału, następnie izolacja i analiza produktów, poszukiwanie fotoproduktów i ustalanie ich struktury. W tym fragmencie badań, Autor wykorzystał do perfekcji metody analityczne (HPLC) jak i spektroskopowe (UV, NMR, MS), wykorzystując je do analizy przebiegu reakcji, a co najistotniejsze izolacji i badań strukturalnych produktu. Po jednoznacznym stwierdzeniu, że powstawanie po naświetlaniu 6-azaadenozyne fotoproduktu, który został oznaczony w pracy jako **K25**, nie zależy od obecności tlenu, zastał on „zakwalifikowany” do dalszych badań. Zbadano m.in. jego aktywność biologiczną (*de facto* cytostatyczną) określając, że związek ten jest aktywny cytotoksycznie dla linii komórkowych

trzech nowotworów. Ten fragment badań oceniam wysoko, chociaż wątpię czy może to znaleźć zastosowanie terapeutyczne.

Fototransformacje pozostałych azapuryn dawały bardziej skomplikowany obraz przebiegu reakcji zależny od obecności tlenu w środowisku reakcyjnym. Niewątpliwie ciekawa jest obserwacja o możliwości selektywnego wbudowania grupy nitrowej do puryny, ale użyteczność jej wykorzystania w realnej i skutecznej syntezie organicznej uważam za niewielką.

Jak sądzę najciekawsze wyniki uzyskał Doktorant w eksperymentach dotyczących fotozszywania nici oligonukleotydów (badał dodekanukleotydy) z wykorzystaniem „sprawdzonej” wcześniej 6-azaadenozyny (związek **K7**). Szczególnie cenne są, moim zdaniem, wyniki uzyskane dla dwuniciowych dupleksów oligonukleotydów, i nie rozwodząc się w szczegółach uważam ten element za osiągnięcie w pracy najciekawsze. Oczywiście dla finalnego stwierdzenia Doktoranta, że „jest to (*jak dotychczas*) jedyny przykład wykorzystania azydonukleozydowej sondy fotozszywającej w badaniu dwuniciowych układów oligonukleotydowych” konieczne było wykonanie wszystkich wcześniejszych badań.

Z obowiązku recenzenta mam kilka uwag dotyczących części merytorycznej pracy. Powiększenie pierścienia purynowego (Schemat 52) prowadzące do **K25** zakłada powstanie nitrenu. Czy nie warto dalej proponować przemianę analogiczną do mechanizmu przegupowania Hofmanna lub Beckmana (powstanie natychmiast *intermediate III*, omijając trudny do wyobrażenia ze względu na naprężenia układ tricykliczny *II*). Podobna uwaga dotyczy Schematu 55: prowadzone w warunkach aerobowych reakcje z tlenem prowadzą do powstania pierścienia trójczłonowego dioksazyrydyny, co jest poprawne, chociaż warto byłoby zaznaczyć, że produktem pierwotnym jest nadtlenuk o strukturze liniowej. Warto porównać to stwierdzenie z pracami Sawaki wspomnianymi wcześniej (str. 25-26). Sądzę, że obie te reakcje są dopuszczalne, ale chyba cały proces jest sekwencją następujących po sobie reakcji (*stepwise mechanism*).

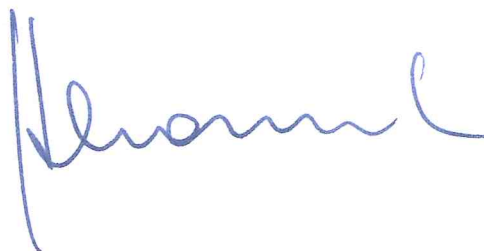
Kolejna uwaga: fotozszywanie dupleksu przybiegało z wydajnościami 53-65 procent. Zastanawiające, dlaczego najniższą wydajność obserwowano, gdy „quasi” komplementarną zasadą dla 6-azaadenozyny była tymidyna, a najwyższą wydajność, gdy była to guanozyna. Czy można w tym miejscu rozważać *stacking* jako element wspomagający kinetykę reakcji? Może warto tę obserwację skomentować?

Znalazłem w pracy nieco drobiazgów związanych chociażby z nomenklaturą jak np. pojęcie tautomer oraz izomer nie powinny być używane zamiennie. Nie jest to błędem kardynalnym, ale opis i dyskusja stają się mniej precyzyjne.

Lektura pracy doktorskiej Pana mgr Krzysztofa Komodzińskiego nie jest rzeczą łatwą. Napisana jest wyjątkowo lakonicznie, ale bardzo precyzyjnie, bez komentarzy, które moim zdaniem byłyby czasami potrzebne. Warto byłoby się o nie pokusić zwłaszcza w części omawiającej dokonania własne, czyli uzyskane wyniki o czym wspomniałem powyżej.

Z formalnego obowiązku należy zaznaczyć, że część wyników badań została już opublikowana (dwie prace w *Tetrahedron Letters*, jedna w *Photochemical and Photobiological Science*); doktorant prezentował je także na kilku konferencjach naukowych. Życzę szybkiego opublikowania reszty wyników uzyskanych w pracy.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pana mgr Krzysztofa Komodzińskiego spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki”. Wnioskuje więc do Rady Wydziału Chemii UAM o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Doceniając wkład pracy, staranność i sposób prezentacji wyników, uważam że praca ta zasługuje na wyróżnienie.



Poznań, 10 maja 2014 roku