



UNIWERSYTET GDAŃSKI



dr hab.

JANUSZ MADAJ, prof. nadzw. UG  
Kierownik Pracowni Chemii Cukrów

Gdańsk, 18.09.2015r.

**Recenzja pracy doktorskiej  
mgra inż. Romana Komora**

**pt: Badania nad syntezą i wstępną oceną właściwości biologicznych glikokoniugatów, pochodnych nukleozydów**

Przedstawiona mi do recenzji praca Pana mgra inż. Romana Komora pt.: Badania nad syntezą i wstępną oceną właściwości biologicznych glikokoniugatów, pochodnych nukleozydów, została przez Niego zrealizowana w Katedrze Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii, Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej pod opieką naukową Profesora Wiesława Szeji i dr inż. Gabrieli Pastuch-Gawołek. Oba te nazwiska stanowią gwarancję, że wykonywana była ona w bardzo dobrej grupie pod kierownictwem wybitnych chemików cukrowców.

Glikozylotransferazy są grupą enzymów, które katalizują przeniesienie reszty cukrowej z aktywowanego cukru na węglowodanowe lub niewęglowodanowe akceptory. Z wyjątkiem syntazy hialuronianu, glikozylotransferazy wydłużają glikany przez dodanie monosacharydów do nieredukującego końca akceptora. Reakcja tworzenia wiązania glikozydowego jest specyficzna, a uzyskany produkt ma ściśle określoną konfigurację anomerycznego atomu węgla. Większość glikozylotransferaz przyłącza monosacharydy do glikoprotein i glikolipidów, niektóre glikozylotransferazy rozpoznają duże domeny białkowe i tym samym są specyficzne dla wybranych typów białek. Mogą też być specyficzne dla pojedynczego białka. To tej pory zostało poznanych ponad 30 000 glikozylotransferaz.

Tworzenie wiązania glikozydowego w glikokoniugatach uważane jest za bardzo ważny proces pozwalający na ich różnicowanie i nadawanie im nowych, niezwykle istotnych funkcji biologicznych. Czasami proces glikozydowania związany jest z procesem chorobowym i przez to jego zatrzymanie staje się celem terapeutycznym. W ten nurt badań wpisuje się praca Pana mgra inż. Romana Komora sprawiając, że jest ona niezwykle ważna i bardzo aktualna z punktu widzenia uzyskanych wyników.

Recenzowaną pracę należy uznać za dosyć obszerną. Napisana została na 221 stronach i zawiera 454 dobrze dobrane odnośniki literaturowe. Posiada ona układ charakterystyczny dla prac syntetycznych z zakresu chemii, a co ważne mimo swoich sporych rozmiarów nie została zachwiana równowaga pomiędzy częścią literaturową (mniej niż 60 str.), a opisem prac własnych. Dysertacja została podzielona na pięć głównych rozdziałów: Wstęp, Część literaturowa, Omówienie wyników, Podsumowania i wniosków oraz Części eksperymentalną.

Cześć literaturowa stanowi dobry wybór wiadomości pozwalających na łatwiejszą dalszą lekturę pracy. Dla mnie szczególnie interesujące okazały się rozdziały dotyczące glikozylotransferaz oraz ich inhibitorów, stanowiące dobre wprowadzenie w te zagadnienia. Rozdział ten napisany jest w taki sposób, że czyta się go przyjemnie i poza drobnymi potknięciami praktycznie nie budzi wątpliwości. Jednak w jednym przypadku autor nie ustrzegł się chyba braku konsekwencji. Na stronie 11 czytamy: „*Reakcja glikozylacji najczęściej zachodzi zgodnie z mechanizmem  $S_N1$ , .....*”. Jednak już stroną dalej znajdujemy: *Z niewieloma wyjątkami reakcje glikozylacji polegają na podstawieniu grupy opuszczającej w pozycji anomerycznej w dwucząsteczkowej reakcji, ...*”. O ile chodzi o pierwsze zdanie to trudno się z nim nie zgodzić jednak w tym kontekście zdanie drugie może budzić wątpliwości.

Kolejne 60 str. stanowi Omówienie wyników. Rozdział napisany jest bardzo klarownie, a jego lektura nie sprawia kłopotów. Autor zawarł w niej, mimo sporego rozmiaru rozdziału, dosyć syntetyczny ale zawierający wszelkie niezbędne informacje opis. To tylko dowodzi wysokich kwalifikacji doktoranta w tej kwestii, co może wynikać z dużego dorobku naukowego i nabytych podczas jego pisania umiejętności. Zawarte w tym rozdziale informacje przede wszystkim wskazują na ogrom pracy syntetycznej wykonanej przez Pana mgr inż. Romana Komora. Czego bardzo mi brakuje to rozdziału z jasno sformułowanym celem pracy. Jego szczątkową formę można odnaleźć we wprowadzeniu do Omówienia wyników, co jednak u mnie budzi duży niedosyt, być może wynikający z przyzwyczajenia, że cele pracy doktorskiej w przypadku dysertacji w dziedzinie chemii są zazwyczaj mocno uwypuklone w postaci oddzielnego rozdziału.

Prace badawcze przedstawione w recenzowanym doktoracie zostały zaplanowane z dużym doświadczeniem i przeprowadzone z ogromną konsekwencją. Niepowodzenie jakiejś ścieżki syntezy, jak w przypadku zastosowania metody Lawesson'a do syntezy 1-tio- $\alpha$ -D-heksopiranoz, nie zniechęciło, a raczej zmobilizowało autora do poszukiwania alternatywnej metody. Moje pewne wątpliwości budzi opis procedury otrzymywania acyklicznych pochodnych uracylu (podrozdział 3.13.). Problemem okazało się w niej usunięcie powstającego chlorku sodu. Autor zdecydował się na użycie *N,N*-dimetyloformamidu (DMF).

Wielokrotnie dodawał go do mieszaniny poreakcyjnej starając się wymyć pożądaną produkt i oddzielić go od soli dekantując rozpuszczalnik. Swoją decyzję oparł na sformułowaniu:

Str. 89 *Do pozostałości dodano DMF, w którym produkt bardzo dobrze się rozpuszcza, zaś NaCl jest nierozpuszczalny, co umożliwiło oddzielenie go przez dekantację.*

Trudno zgodzić się z tym twierdzeniem. DMF jest rozpuszczalnikiem, który często używany jest w reakcjach związków organicznych, które wymagają rozpuszczenia soli nieorganicznych w rozpuszczalnikach aprotycznych. Jego własności dobrze ilustrują dane zaczerpnięte z literatury.

„Rozpuszczalność NaCl w różnych rozpuszczalnikach (g NaCl/1 kg rozpuszczalnika w 25 °C (Burgess, J. (1978). *Metal Ions in Solution*. New York: Ellis Horwood. ISBN 0-85312-027-7): metanol – 14; etanol – 0,65; DMF – 0,4; propanol – 0,124; butanol – 0,05; 2-propanol – 0,03; acetonitryl – 0,003; aceton – 0,00042.”

Być może nie są to bardzo wysokie wartości, jednak trzeba zdawać sobie z nich sprawę. Poza tym w dalszym etapie autor posłużył się metanolem, rozpuszczając w nim połączone warstwy organiczne w celu usunięcia ewentualnych resztek NaCl. Biorąc pod uwagę znacznie większą rozpuszczalność tej soli w metanolu w stosunku do DMF, zabieg ten wydaje się być wątpliwy.

To tylko taka drobna dygresja wynikająca z roli recenzenta. Przeprowadzone przez doktoranta syntezy charakteryzują się dużą sprawnością jego warsztatu jako syntetyka, a otrzymane produkty opisane są i scharakteryzowane w sposób nie budzący wątpliwości.

Ostatni etap Omówienia wyników stanowi ocena aktywności biologicznej uzyskanych produktów. Za zaskakujący można uznać wynik wskazujący na wyższą aktywność względem  $\beta$ -D-galaktozylotransferazy pochodnych D-glukozy niż jak można by oczekiwać pochodnych D-galaktozy. Wykonane badania aktywności przeciwnowotworowej na wybranych liniach komórkowych nie wykazały dużej aktywności analizowanych związków. Większość z nich wykazywała słabą aktywność hamującą, a niektóre wręcz przyspieszały wzrost komórek nowotworowych. Od dawna wiadomo, że spośród otrzymywanych i przebadanych związków tylko znikoma liczba okazuje się interesująca, a reszta pozostaje w postaci opisu w literaturze albo wręcz trafia do śmieci. Nie należy się tym zniechęcać, ponieważ póki co nie ma innej, lepszej metody, a próba wykorzystania metod obliczeniowych to projektowania związków aktywnych biologicznie wciąż nie spełnia pokładanych w nich nadziei. Na podsumowanie tego chciałbym przytoczyć fragment, który pokazuje, że nawet nie do końca zadowolające wyniki nie zniechęciły doktoranta, a jego optymizm jest budujący i godny pozazdroszczenia: *Pomimo tego, że badane związki nie hamują w znaczny sposób wzrostu komórek nowotworowych użytych w eksperymentach to może się okazać, że wpływają one hamująco na rozwój innych linii komórkowych (str. 123).*

Jedyną uwagę jaka miałbym do prezentowanych wyników badań biologicznych to brak (przynajmniej ja go nie znalazłem) odniesienia do tego gdzie i przez kogo zostały one przeprowadzone.

Z obowiązku recenzenta chciałbym wymienić kilka zauważonych błędów i niefortunnnych zwrotów:

1. Str. 9 *rzrealizowanie*,
2. Str. 23, 26 i dalsze - *konfiguracja na centrum anomerycznym* - raczej należałoby mówić o konfiguracji anomerycznego atomu węgla,
3. Str. 110 *gazem inertnym* - może lepiej napisać obojętnym,
4. Str. 121 *średniego procenta* - chyba raczej powinno być średniego procentu,
5. Str. 128 i wielokrotnie dalsze *min.* – skrót minuty powinno się pisać bez kropki, użyty skrót *min.* odnosi się do ministra,
6. W Części eksperymentalnej autor stosuje kropkę zamiast przecinka w liczbach np. str. 129 0.37, a nie 0,37, co wciąż jest uznawane za niepoprawną formę,
7. W tym samym rozdziale w opisie widm  $^1\text{H}$  NMR stałe sprzężenia są podawane bez wskazania jakiego sprzężenia dotyczą, np. str. 129  $J=5.0$  Hz, a nie  $J_{1,2}=5$  Hz,
8. W czasie lektury pracy pojawiły się pewne wątpliwości natury nomenklaturowej. Po korespondencji z autorem udało nam się je jednak wyjaśnić.

Jak widać lista wymienionych potknięć jest jak na taką dużą rozprawę bardzo mała, co świadczy o niezwykle starannej korekcie wykonanej przez Doktoranta. Chciałbym też podkreślić że wspomniane uwagi nie wpływają absolutnie na moja bardzo wysoką ocenę dysertacji.

Biorąc to wszystko pod uwagę, mogę z pełnym przekonaniem stwierdzić, że przedstawiona mi do oceny rozprawa spełnia wszystkie warunki stawiane pracom doktorskim w art.13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595), z późniejszymi zmianami. Zatem z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej o dopuszczenie mgr inż. Romana Komora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Na podkreślenie zasługuje ponadprzeciętny dorobek naukowy autora rozprawy - 7 publikacji, 1 w druku, pierwszy autor w dwóch z nich, 30 komunikatów na zjazdach krajowych i międzynarodowych oraz to, że prace badawcze będące podstawą tej pracy finansowane były z funduszy europejskich oraz grantu NCN. Fakty te oraz dużą wartość merytoryczną recenzowanej pracy skłaniają mnie aby skierować do Wysokiej Rady wniosek o wyróżnienie jej.

