

## Streszczenie

Współczesna onkologia, w szczególności wykorzystująca radio- czy fototerapię, stoi przed ogromnym wyzwaniem – jak skutecznie i selektywnie eliminować komórki nowotworowe, minimalizując jednocześnie uszkodzenia zdrowych tkanek. W odpowiedzi na te wyzwania dynamicznie rozwija się terapia fotodynamiczna (PDT), która łączy światło, fotosensybilizator oraz obecny w tkankach tlen, by wywołać reakcje prowadzące do śmierci komórek nowotworowych. Choć koncepcja ta wydaje się obiecująca, jej skuteczność ogranicza hipoksja – niedotlenienie charakterystyczne dla mikrośrodowiska guzów litych. W tym kontekście poszukiwanie nowych, bardziej efektywnych fotosensybilizatorów, zdolnych do działania również w warunkach ograniczonego dostępu tlenu, staje się jednym z kluczowych kierunków badań.

Niniejsza praca koncentruje się na dwóch syntetycznych analogach urydyny: 5-bromo-4-tio-2'-deoksyurydynie (BrSdU) oraz 5-jodo-4-tio-2'-deoksyurydynie (ISdU). Związki te, dzięki obecności atomu siarki i halogenu, wykazują unikalne właściwości fotochemiczne, umożliwiające ich selektywne wzbudzenie światłem UVA – promieniowaniem o większej zdolności penetracji tkanek i mniejszej cytotoksyczności wobec zdrowych komórek niż fotony z zakresu UVB/UVC. Celem pracy było zbadanie mechanizmu fotosensybilizującego działania BrSdU i ISdU w roztworach modyfikowanych nukleozydów (MN), punktowo znakowanego DNA oraz w komórkach eukariotycznych.

W pierwszym etapie badań przeprowadzono fotolizę stacjonarną BrSdU i ISdU w roztworach buforowanych, identyfikując szereg produktów reakcji, w tym dimerowe struktury disiarczkowe. Analizy HPLC, LC-MS, <sup>1</sup>H NMR oraz obliczenia TD-DFT pozwoliły na precyzyjne określenie ich struktur i potwierdziły wysoką fotoreaktywność badanych związków. Część fotoproduktów wykazywała różnice w stabilności w zależności od zastosowanej dawki promieniowania UVA, ulegając reakcjom wtórnym.

Kolejna część rozprawy została poświęcona ocenie fotochemicznych właściwości BrSdU w kontekście struktury DNA. W tym celu wykorzystano syntetyczne modele dwuniciowych oligonukleotydów z punktową modyfikacją BrSdU. W przeciwieństwie do klasycznych halogenowanych nukleozydów jak 5-bromo-2'-deoksyurydyna (BrdU) i 5-jodo-2'-deoksyurydyna (IdU), BrSdU nie inicjowała pęknięć nici DNA poprzez mechanizm dalekozasięgowego transferu elektronu. Zamiast tego obserwowano tworzenie stabilnych

fotoadduktów zawierających kowalencyjne wiązania między zasadami azotowymi, co sugeruje alternatywny mechanizm działania związany z obecnością atomu siarki w cząsteczce MN. Wyniki te rzucają nowe światło na fotochemię pochodnych halogenowanych 4-tiourydyny i ich potencjalne zastosowanie w terapii nowotworów.

W trzecim etapie oceniono działanie BrSdU i ISdU jako fotosensybilizatorów względem ludzkich komórek nowotworu prostaty. Związki te nie wykazywały cytotoksyczności, jednak w połączeniu z promieniowaniem UVA prowadziły do istotnego spadku żywotności komórek, szczególnie w przypadku ISdU. Szczegółowych informacji dotyczących mechanizmu synergicznego działania badanych nukleozydów i promieniowania UVA dostarczyły wyniki testów cytometrycznych, w których obserwowano: (1) zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M, co jest typową odpowiedzią na poważne uszkodzenia DNA i mechanizmem ochronnym przed replikacją uszkodzonego materiału genetycznego; (2) indukcję wczesnej apoptozy, czyli programowanej śmierci komórki, co potwierdza skuteczność działania PS w połączeniu z UVA; (3) wzrost poziomu  $\gamma$ H2A.X, markera podwójnych pęknięć nici DNA, wskazujący na poważne uszkodzenia genomu; (4) zwiększenie poziomu reaktywnych form tlenu, co sugeruje udział mechanizmów oksydacyjnych w cytotoksycznym działaniu BrSdU/ISdU i promieniowania.

Podsumowując, przeprowadzone badania jednoznacznie wskazują, że 5-bromo-4-tio-2'-deoksyurydyna oraz 5-jodo-4-tio-2'-deoksyurydyna to związki o wyjątkowych właściwościach fotochemicznych i fotobiologicznych, mogące znaleźć zastosowanie jako nowoczesne fotosensybilizatory w terapii fotodynamicznej nowotworów. Ich zdolność do selektywnego działania pod wpływem promieniowania UVA, nawet w warunkach hipoksji, czyni je szczególnie atrakcyjnymi w kontekście terapii fotodynamicznej guzów litych. Wyniki te stanowią podstawę do dalszych badań, w tym pogłębionych analiz mechanizmów reakcji fotochemicznych w warunkach biologicznych oraz porównań z klasycznymi fotosensybilizatorami. Szczególnie interesującym kierunkiem wydaje się zastosowanie obliczeń kwantowo-chemicznych do porównania reaktywności stanów wzbudzonych BrSdU i BrdU, co może pomóc w zrozumieniu wpływu obecności atomu siarki w cząsteczkach MN na fotoreaktywność i selektywność działania związków. W dłuższej perspektywie, opracowanie tego typu fotosensybilizatorów może przyczynić się do stworzenia bardziej precyzyjnych, skutecznych i bezpiecznych strategii leczenia nowotworów z wykorzystaniem światła.