

dr hab. Ewa Augustin
Katedra Technologii Leków i Biochemii
e-mail: ewa.augustin@pg.edu.pl

Gdańsk, 14.11.2025 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Datta
pt.

Pochodne purynowych zasad nukleinowych jako potencjalne związki uwrażliwiające
komórki nowotworowe na promieniowanie jonizujące

Recenzja została sporządzona w odpowiedzi na pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego prof. dr. hab. Zbigniewa Kaczyńskiego z dnia 18 września 2025 roku w związku z prowadzeniem przewodu doktorskiego Pani mgr inż. Magdaleny Datta i powierzeniem mi funkcji recenzenta przez Radę Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego w dniu 17 września 2025 roku.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Magdaleny Datta pt. „*Pochodne purynowych zasad nukleinowych jako potencjalne związki uwrażliwiające komórki nowotworowe na promieniowanie jonizujące*” została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod opieką prof. dr hab. Janusza Raka oraz dr Magdaleny Zdrowowicz-Żamojć (promotor pomocniczy).

Podstawą rozprawy doktorskiej są 3 oryginalne prace badawcze, stanowiące zwarty cykl tematyczny, opublikowane w latach 2024-2025 w czasopismach będących na liście JCR:

1. **Magdalena Datta**, Adrian Szczyrba, Magdalena Zdrowowicz, Dariusz Wyrzykowski, Olga Ciupak, Sebastian Demkowicz, Farhad Izadi, Stephan Denifl, Janusz Rak. “Surprising Radiolytic Stability of 8-Thiomethyladenine in an Aqueous Solution”. *The Journal of Physical Chemistry B*, 128(15), 2024.
2. **Magdalena Datta**, Adrian Szczyrba, Anna Czaja, Magdalena Zdrowowicz, Sebastian Demkowicz, Janusz Rak. “Substituted benzylamino-2'-deoxyadenosine a modified nucleoside with radiosensitizing properties”. *Scientific Reports*, 15, 17535, 2025.
3. **Magdalena Datta**, Adrian Szczyrba, Patryk Nowak, Magdalena Zdrowowicz, Michał Rychłowski, Sebastian Demkowicz, Artur Sikorski, Janusz Rak. “8-(4-Trifluoromethylthio)benzylamino-2'-deoxyadenosine: a purine nucleoside as a potential radiosensitizer”. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 299, 118094, 2025.

We wspomnianych pracach Doktorantka jest pierwszym lub równorzędnym pierwszym autorem (praca nr 1). Ponadto Jej udział w publikacjach polegał na syntezie, oczyszczaniu i identyfikacji zsyntetyzowanych pochodnych z wykorzystaniem NMR lub LC-MS, prowadzeniu badań radiolitycznych, przeprowadzeniu testu MTT w celu określenia cytotoksyczności badanych pochodnych. Wykonała również analizy cytometryczne dotyczące przebiegu cyklu komórkowego oraz fosforylacji histonu H2A.X w obecności badanych związków, określiła lokalizację pochodnych w komórce, a także brała udział w pisaniu i edycji manuskryptów. Cykl 3 publikacji został umieszczony w rozprawie doktorskiej w formie załączników, zakończony oświadczeniami współautorów. W tym miejscu chciałabym nadmienić, że nie znalazłam oświadczeń wszystkich współautorów (brakujące oświadczenia: Dariusz Wyrzykowski, Olga Ciupak, Farhad Izadi, Anna Czaja, Michał Rychłowski). Cykl publikacji został poprzedzony wykazem skrótów, streszczeniem w języku polskim i angielskim, wstępem (8 stron), celami pracy, opisem badań przedstawionych w publikacjach składających się na niniejszą dysertację, podsumowaniem, spisem literatury oraz wykazem rysunków. Doktorantka umieściła również na końcu pracy wykaz swojego dorobku naukowego.

Poprawa skuteczności leczenia chorób nowotworowych stanowi jedno z najważniejszych zadań współczesnej medycyny, a statystyki dotyczące nowotworów są ciągle niepokojące. Szacuje się, że jedna na trzy osoby prawdopodobnie zachoruje na raka w ciągu swojego życia. Ogólnoświatowa zachorowalność, a więc liczba nowych przypadków, została w 2020 roku oszacowana na 19,3 mln. Dlatego choroby nowotworowe trzeba jak najlepiej poznać i zrozumieć, a wiedzę tę przełożyć na skuteczne metody leczenia. Radioterapia, obok chemioterapii, immunoterapii czy chirurgicznego usunięcia guza stanowi jedną z podstawowych metod leczenia nowotworów. Jednak chociażby ze względu na znaczne niedotlenienie większości nowotworów litych, prowadzi często do radiooporności. Jednym ze skutecznych podejść do rozwiązania tego problemu jest zastosowanie radiosensybilizatorów (RS), związków które mają za zadanie uwrażliwienie komórek nowotworowych na promieniowanie jonizujące (PJ), przy jednoczesnym ograniczonym ich działaniu na komórki/tkanki prawidłowe. W to podejście bardzo dobrze wpisuje się praca doktorska pani mgr inż. Magdaleny Datta, której głównym celem było zaprojektowanie oraz synteza nowych pochodnych adeniny i 2'-deoksyadenozyny oraz weryfikacja ich właściwości radiosensybilizujących zarówno na poziomie komórkowym jak i w badaniach *in vitro*. Realizując główny cel badań, doktorantka zsyntetyzowała dwie pochodne adeniny: 8-metylotioadeninę (ASCH3) i 8-trifluorometylotioadeninę (ASCF3) oraz trzy pochodne 2'-deoksyadenozyny: 8-(4-trifluorometoksy)benzylamino-2'-deoksyadenozynę (dNHbenzylOCF3), 8-(4-trifluorometylotio)benzyloamino-2'-deoksyadenozynę (dA-NHbenzylSCF3) oraz 8-(4-trifluorometylo)benzyloamino-2'-deoksyadenozynę (dA-NHbenzylICF3). Zbadała ich podatność na radiolizę oraz przeprowadziła badania na poziomie

komórkowym na dwóch liniach nowotworowych: komórkach raka prostaty PC3 i raka piersi MCF7 oraz komórkach jednej z linii prawidłowych: fibroblasty gruczołu sutkowego HMF lub keratynocyty HaCaT. Badania te obejmowały cytotoksyczność badanych pochodnych (test MTT), ich żywotność (test klonogeny) oraz zdolność do indukcji DSB (cytometryczna analiza poziomu fosforylacji histonu H2A.X oraz mikroskopia fluorescencyjna). Zbadała również wpływ PJ w skojarzeniu z badanymi związkami na przebieg cyklu komórkowego (cytometria przepływowa) oraz określiła lokalizację badanych pochodnych w komórce (analiza LC-MS).

Rozprawa doktorska pani mgr inż. Magdaleny Datta została przygotowana bardzo starannie, w sposób uporządkowany, czyta się ją z dużą przyjemnością. Prace eksperymentalne zostały dobrze zaplanowane i zrealizowane, a dobór metod badawczych jest adekwatny do postawionego celu badawczego. Chociaż w pracy zabrakło mi opisu stosowanych metod badawczych, po które należało sięgać do załączonych publikacji.

Doktorantka bardzo szczegółowo omówiła wyniki badań uzyskane w przedstawionych do oceny publikacjach, stąd ograniczę się w tym miejscu do podania najważniejszych w mojej opinii osiągnięć rozprawy doktorskiej:

- Opracowanie metody syntezy 5 pochodnych purynowych zasad nukleinowych.
- Dla 3 pochodnych 2'deoksyadenozyny przeprowadzenie badań *in vitro* na komórkach dwóch linii nowotworowych: PC3 i MCF7 oraz jednej linii prawidłowej: HMF/HaCaT i wykazanie, że:
- badane związki powodowały statystycznie istotne obniżenie żywotności komórek nowotworowych, szczególnie zaś pochodna ISCF₃;
- w połączeniu z różnymi dawkami promieniowania jonizującego pochodne 2'deoksyadenozyny obniżały żywotność komórek nowotworowych, najsilniej w przypadku pochodnej ISCF₃, a najslabiej w przypadku pochodnej ICF₃, co wykazano testem klonogenym;
- analiza poziomu fosforylacji histonu H2A.X wskazała na indukcję DSB w odniesieniu do pochodnej ISCF₃ w komórkach nowotworowych obu badanych linii; takiego efektu nie zaobserwowano w przypadku związku IOCF₃;
- cytometryczna analiza cyklu komórkowego wykazała, że skojarzone działanie PJ z pochodną IOCF₃ spowodowało zwiększenie populacji komórek w fazie G2/M, najbardziej wrażliwej na promieniowanie jonizujące, szczególnie w przypadku linii PC3. Takiego efektu nie zaobserwowano dla pochodnej ISCF₃;
- badane związki lokalizują się głównie w cytoplazmie, a ich akumulacja w jądrze komórkowym jest ograniczona. Ponadto nie ulegają fosforylacji ani inkorporacji do DNA, jak np. analog nukleozydowy BrdU.

Podsumowując, uzyskane przez Doktorantkę wyniki wskazują na potencjał zsyntetyzowanych pochodnych purynowych zasad nukleinowych jako kandydatów do dalszych badań przedklinicznych, szczególnie w kontekście ich zastosowania w terapiach przeciwnowotworowych skojarzonych z promieniowaniem jonizującym.

W przypadku rozprawy doktorskiej opartej na zbiorze spójnych tematycznie publikacji, rola recenzenta nie jest łatwa, ponieważ prace zostały bowiem już przeanalizowane przez niezależnych ekspertów w procesie recenzji związanej z ich publikacją i przez nich zaakceptowane. Ewentualne uwagi zostały autorom przedstawione i przez nich skorygowane. Tym nie mniej mam kilka uwag, do których chciałabym aby Doktorantka się ustosunkowała podczas publicznej obrony.

- *Potencjalny RS nie powinien wykazywać toksyczności ani wobec komórek nowotworowych ani prawidłowych, bez ekspozycji na promieniowanie jonizujące. Jak zatem Doktorantka wytłumaczy wyraźnie wyższą cytotoksyczność pochodnej dA-NHbenzylCF₃ wobec komórek prawidłowych HaCaT w porównaniu do komórek nowotworowych PC3 czy MCF7?*
- *Dlaczego komórki prawidłowe były stosowane do badań wymiennie? Czym był podyktowany raz wybór linii komórkowej HaCaT a innym razem linii komórkowej HMF?*
- *Z czego wynika większa wrażliwość komórek na promieniowanie jonizujące w fazie G2/M cyklu komórkowego, w porównaniu do fazy G1 czy S? Czy jest to cecha uniwersalna dla wszystkich dla komórek nowotworowych?*
- *Jaki jest mechanizm cytotoksycznego działania badanych pochodnych w stosunku do komórek nowotworowych prostaty czy piersi?*
- *Czy Doktorantka widzi potrzebę prowadzenia dalszych, bardziej zaawansowanych badań dotyczących tych pochodnych (badania na poziomie molekularnym, inne linie/modele komórkowe, badania in vivo)?*

Przedstawione powyżej pytania i sugestie mają charakter dyskusyjny i nie obniżają mojej wysokiej, pozytywnej oceny pracy doktorskiej pani mgr inż. Magdaleny Datta.

Wniosek końcowy

Podsumowując, wyniki uzyskane przez panią mgr inż. Magdalenę Datta stanowią istotny i oryginalny wkład naukowy w zakresie prezentowanej tematyki badawczej. Doktorantka osiągnęła wszystkie zamierzone cele badawcze. Wysoko oceniam wartość merytoryczną rozprawy oraz osiągnięcia naukowego przedstawionego w formie cyklu monotematycznych, oryginalnych prac opublikowanych w bardzo dobrych czasopismach naukowych o wysokim współczynniku oddziaływania (łączny IF 12,7), znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR), ocenionych przez niezależnych recenzentów. Potwierdza to dodatkowo aktualność i atrakcyjność tematyki badań. Oceniając całość dorobku naukowego Doktorantki

to jest on imponujący jak na ten etap pracy naukowej. Obejmuje on 11 publikacji w czasopismach JCR, plus 2 publikacje będące w recenzji oraz 3 publikacje w przygotowaniu. Ponadto Doktorantka jest współautorem 4 zgłoszeń patentowych, wygłosiła 6 referatów na konferencjach naukowych oraz zaprezentowała wyniki swoich badań w postaci posterów na 15 konferencjach naukowych, zarówno krajowych, jak i zagranicznych. Kierowała również 3 projektami finansowanymi przez Uniwersytet Gdański oraz była stypendystką w projekcie CEUS-UNISONO finansowanym przez Narodowe Centrum Nauki (NCN).

Z pełnym przekonaniem i jednoznacznie stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska pani mgr inż. Magdaleny Datta spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim określone w art. 187 ust. 1 i 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.). Biorąc powyższe, zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego z prośbą o dopuszczenie mgr inż. Magdaleny Datta do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Datta

Wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Gdańskiego o wyróżnienie rozprawy mgr inż. Magdaleny Datta pt. „Pochodne purynowych zasad nukleinowych jako potencjalne związki uwrażliwiające komórki nowotworowe na promieniowanie jonizujące”, gdyż:

- stanowi oryginalne osiągnięcie naukowe o dużym znaczeniu poznawczym z szansą na praktyczne wykorzystanie uzyskanych wyników badań;
- zaprezentowane przez Doktorantkę podejście do problemu i wyniki badań, mogą stać się bardzo cenne w aspekcie opracowania skuteczniejszych terapii przeciwnowotworowych z udziałem radioterapii, wykorzystującej pochodne purynowych zasad nukleinowych jako radiosensybilizatory;
- wyniki badań zostały opublikowane w czasopismach naukowych z listy filadelfijskiej.

Dr hab. Ewa Augustin