



Warszawski Uniwersytet Medyczny
Wydział Farmaceutyczny
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy
Zakład Chemii Fizycznej
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

dr hab. n. farm. Dariusz Maciej Pisklak

Tel.: (+48 22) 57 20 950

E-mail: dpisklak@wum.edu.pl

Warszawa, 12.08.2022 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr. farm. Pawła Krzysztofa Halika
z tytułem "Otrzymywanie celowanych radiofarmaceutyków bazujących
na antagonistach receptora NK-1 do diagnostyki i terapii patologii
onkologicznych"**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska została wykonana w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie, promotorem pracy jest dr hab. Ewa Gniazdowska, prof. IChTJ zaś kopromotorem pracy prof. dr hab. Grażyna Nowicka z Wydziału Farmaceutycznego WUM. Praca doktorska zrealizowana była w ramach projektu NCBiR Nr POWR.03.02.00-00-I009/17 „Radiofarmaceutyki dla ukierunkowanej molekularnie diagnostyki i terapii medycznej” (RadFarm).

Choroby nowotworowe zaliczane są obecnie do tzw. chorób cywilizacyjnych, czyli związanych z rozwojem gospodarczym i cywilizacyjnym społeczeństw. Zachorowalność na schorzenia tego typu wzrasta z roku na rok i według danych Światowej Organizacji Zdrowia nowotwory stanowią obecnie drugą przyczynę zgonu w Europie. Dlatego też poszukiwanie nowych metod diagnostycznych oraz terapeutycznych chorób onkologicznych jest jednym z większych wyzwań medycznych. Szczególnie istotny w tym kierunku jest rozwój metod terapii celowanej ukierunkowanej na tkanki zmienione nowotworowo mającej na celu zwiększenie skuteczności i bezpieczeństwa terapii. Przedstawiona do recenzji rozprawa wpisuje się idealnie w ten kierunek badawczy. Autor w ramach prowadzonych prac badawczych zaprojektował, otrzymał oraz przebadał serie nowych nieopisanych wcześniej celowanych radiofarmaceutyków mogących znaleźć zastosowanie w diagnostyce i terapii nowotworów charakteryzujących się zwiększoną ekspresją receptorów Neurokininy 1. Jako wektory molekularne wybrał antagonisty

receptora NK1. Obecnie w badaniach klinicznych znajdują się radiofarmaceutyki celowane w których wektorami są agonisty receptora NK1. Według danych literaturowych agonisty tego receptora zwiększają proliferacji nowotworów NK1R pozytywnych zaś antagonisty wykazują działanie przeciwnowotworowe i indukują apoptozę komórek nowotworowych. Wykorzystanie jako wektora molekularnego antagonisty NK1R stanowi w mojej ocenie innowacyjny, oraz w pełni uzasadniony kierunek badań, gdyż może prowadzić do zwiększenia skuteczności terapeutycznej poprzez synergistyczne wykorzystanie terapii radionuklidowej oraz receptorowej.

Na przedstawianą do oceny rozprawę doktorską składa się cykl czterech anglojęzycznych prac opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej, a sumaryczny współczynnik IF tych prac wynosi powyżej 20. W skład rozprawy włączona została również monografia naukowa opublikowana w recenzowanym wydawnictwie IChTJ. Ocena merytoryczna jak i metodologiczna dorobku naukowego doktoranta włączonego w ramy rozprawy doktorskiej jest ułatwiona ze względu na to, że wyniki prowadzonych prac badawczych zostały opublikowane w renomowanych naukowych czasopismach międzynarodowych i zostały uprzednio ocenione przez odpowiednie grono recenzentów. Zgodnie z oświadczeniem współautorów w ramach prowadzonych prac badawczych doktorant był odpowiedzialny za syntezę ligandów, preparatykę radiosyntetyczną, analizy radiochemiczne, wykonanie analiz powinowactwa metodą saturacyjną jak również przygotowanie manuskryptów Świadczy to o istotnym wkładzie doktoranta w prowadzenie tych badań. Pierwsza z prac zatytułowana „*The Significance of NK1 Receptor Ligands and Their Application in Targeted Radionuclide Tumour Therapy.*” opublikowana w czasopiśmie *Pharmaceutics* ma charakter przeglądu, i jest rodzajem wstępu do prowadzonych w dalszym etapie prac badawczych. Praca ta nie tylko stanowi uzasadnienie podjętej tematyki badawczej, ale również świadczy o przygotowaniu literaturowym doktoranta do realizacji tematyki badawczej podjętej w rozprawie. Kolejne cztery prace stanowią prace oryginalne i stanowią spójny tematycznie tok badawczy w którym autor zsyntetyzował trzy serie radiofarmaceutyków bazujących na różnych wektorach - antagonistach receptora NK1. Otrzymane ligandy były znakowane pośrednio radioizotopami ^{68}Ga będącego β^+ emiterym, wykorzystywanym w diagnostyce PET oraz ^{177}Lu – β^- emiterym wykorzystywanego w radioterapii nowotworowej. Pozwoliło to na uzyskanie serii związków o potencjalnym zastosowaniu zarówno w diagnostyce nowotworów charakteryzujących się nadekspresją receptorów NK1 jak i bezpośredniej ich celowanej radioterapii. Jako pierwszy zsyntetyzowane zostały pochodne oparte na peptydowych antagonistach SPANTIDE I, jednak ze względu na niejednoznaczne wyniki powinowactwa do receptora NK1 w kolejnych etapach pracy jako wektory autor zastosował

niepeptydowe antagonisty tego receptora L732,138 oraz aprepitant. O ile serie pochodnych bazujących na strukturze związku L732,138 wykazywały się niestabilnością w surowicy krwi (co ogranicza możliwości zastosowań terapeutycznych tych pochodnych), o tyle związki będące pochodnymi aprepitanty wykazały korzystne cechy z punktu widzenia zastosowań terapeutycznych oraz diagnostycznych i zgodnie z oświadczeniem autora dla tych związków prowadzone są dalsze badania na modelach zwierzęcych we współpracy z Zakładem Medycyny Nuklearnej WUM. Co warto podkreślić, w ramach prowadzenia kolejnych prac badawczych p. mgr Halik rozwijał własny warsztat badawczy, włączając w niego prowadzenie hodowli komórkowych, jak również wykonywanie oznaczeń powinowactwa receptorowego metoda saturacyjną. W mojej ocenie zastosowania metody saturacyjnej jest dużo korzystniejsze gdyż pozwala na uzyskanie bezpośrednich wartości powinowactwa receptorowego K_d w przeciwieństwie do metody kompetencyjnej w której wyznaczone wartości IC_{50} są uzależnione od zastosowanego konkurencyjnego radioliganda.

Załączone w cyklu prace mają charakter wielośrodkowy i powstały we współpracy z Zakładem Neuropoetydów IMDiK oraz Wydziałem Chemii UW i powstały w ramach realizacji grantu NCN „Radiofarmaceutyki oparte na antagonistach receptora tachykininowego-1 do diagnostyki i terapii nowotworu mózgu - glejaka wielopostaciowego”.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska składająca się z załączonych 5 publikacji poprzedzona została obszernym, zawierającym 58 stron, wstępem napisanym w języku polskim, w ramach którego autor formułuje jednoznacznie cel badawczy, uzasadnia celowość podjętej tematyki, podsumowuje uzyskane wyniki oraz przedstawia perspektywy kontynuacji prowadzonych badań. Praca napisana jest poprawnie językowo i stylistycznie, w tym aspekcie drobna uwaga dotyczy tylko tego, że w podpisach do załączonych grafik wydaje się że lepsze by było użycie sformułowania „Rysunek” zamiast słowa „Obraz”. Ta część pracy zawiera odnośniki do 245 pozycji literaturowych zacytowanych w sposób jednoznaczny i właściwie odnoszących się do tematyki rozprawy co świadczy o szerokim przygotowaniu literaturowym doktoranta do realizacji założonej tematyki badawczej

Z obowiązku recenzenta po zapoznaniu się z przedstawioną do oceny pracą nasuwają się pewne pytania uwagi i sugestie przedstawione poniżej:

- Dlaczego jako wektor nie został wykorzystany związek L733,060 który według danych literaturowych wykazuje wyższą aktywność przeciwnowotworową w stosunku do związku L732,138 ?

- Badania stabilności uzyskanych kompleksów jak również współczynnik dystrybucji (logD) były prowadzone w fizjologicznym pH 7,4, jako, że rozwój stanu nowotworowego prowadzi zwykle do zakwaszania środowiska, wydaje się, że warto by również wyznaczyć te parametry w środowisku o obniżonym pH.

- Zgodnie z oświadczeniami autorów p. mgr. Halik nie był odpowiedzialny za analizę spektroskopową otrzymanych związków, jednak w przypadku analizy NMR ze względu na rozbudowaną strukturę związków i wynikający z tego złożony charakter widm, w celu jednoznacznego potwierdzenia struktury chemicznej zsyntetyzowanych związków warto by dla wybranych związków zarejestrować i przanalizować widma korelacyjne 2D NMR.

- Ciekawym aspektem przypadku badań saturacyjnych powinowactwa jest wysoki stopień oddziaływań niespecyficznych,. W przypadku najbardziej obiecującego związku [¹⁷⁷Lu]Lu-DOTA-Pr-APT wartość ta była na poziomie powyżej 25%. Wydaje się że warto by dokładnie przeanalizować mechanizm oddziaływania niespecyficznego ponieważ wysoki jego udział może ograniczyć w kluczowy sposób możliwości zastosowania medycznego otrzymanych związków.

Chciałbym również podkreślić, że analiza bazy Scopus wykazała, znacznie szerszą aktywność naukowo-badawczą doktoranta, która nie została włączona do cyklu prac stanowiących podstawę ocenianej pracy doktorskiej. Według tej bazy mgr Paweł Halik jest współautorem 9 prac w czasopiśmie z listy Filadelfijskiej nie włączonych w cykl dysertacji. Dwie z tych prac stanowią prace przeglądowe zaś pozostałe są publikacjami oryginalnymi. Zakres tematyczny tych prac jest związany z radiofarmacją i świadczy nie tylko o bardzo wysokiej aktywności naukowej p. mgra Halika, ale również znacznie szerszym zainteresowaniu doktoranta wykraczającym poza ścisłą tematykę rozprawy doktorskiej.

Wnioski końcowe

Podsumowując przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest oryginalnym opracowaniem, zawiera elementy nowości naukowej, a przedstawione w niniejszej recenzji uwagi nie wpływają na wysoki, w mojej ocenie, poziom przedstawionej do oceny dysertacji. Praca bez wątpienia wnosi istotny wkład w rozwój metod diagnostyki i terapii onkologicznej. Na podstawie przedstawionej do oceny dysertacji stwierdzam, że rozprawa doktorska pana magistra

Pawła Krzysztofa Halika, zgodnie z obowiązującą ustawą, spełnia wszystkie kryteria stawiane pracom doktorskim i wnoszę do Wysokiej Rady Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, biorąc pod uwagę istotną z punktu naukowego tematykę rozprawy, wysoki poziom przedstawionej pracy doktorskiej oraz to, że wyniki badawcze zostały opublikowane w czasopismach zasięgu międzynarodowym o wysokim współczynniku IF wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie pracy doktorskiej magistra Pawła Halika.

Pisklak Dariusz Maciej

dr hab n. farm. Dariusz Maciej Pisklak