

**Projektowanie, synteza i charakterystyka koniugatów
znakowanych Ga-68 oraz Tc-99m do diagnostyki choroby
Alzheimera, stopy cukrzycowej i reumatoidalnego zapalenia
stawów metodą PET i SPECT**

dr Przemysław Koźmiński



Institut Chemii i Techniki Jądrowej
Warszawa, czerwiec 2023

SPIS TREŚCI

1. Imię i nazwisko	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe	3
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.)	3
4.1. tytuł osiągnięcia naukowego	3
4.2 wykaz publikacji naukowych stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego	4
4.3 opis osiągnięcia naukowego	7
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej	30
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę	31
7. Opis pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	33
7.1 Otrzymane nagrody i wyróżnienia	33

1. Imię i nazwisko: Przemysław Andrzej Koźmiński

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:

- stopień doktora nauk chemicznych w zakresie chemii (27.09.2012)

Tytuł rozprawy doktorskiej „Synteza i badanie właściwości fizykochemicznych koniugatów heteroleptycznych kompleksów technetu-99m z peptydem *n*-oktaacyl-[Ser3]-greliną(1-6) jako potencjalnych radiofarmaceutyków diagnostycznych”

Promotor: prof. dr hab. Jerzy Ostyk-Narbutt

Centrum Radiochemii i Chemii Jądrowej, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, w Warszawie

- magister chemii (27.09.2004)

Tytuł pracy magisterskiej „Zatężanie śladowych ilości analitów w bezprzewodowej analizie przepływowo – wstrzykowej (BIA)”

Promotor: prof. dr hab. Marek Trojanowicz

Pracownia Analizy Przepływowej i Chromatografii, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

- 02/2005 - 09/2006 Instytut Pedro Nunes/ Uniwersytet w Coimbrze, Coimbra, Portugalia
projekt: Novel Technology for Controlling Wine Production and Quality „NovTech”, HPRN-CT-2002-00186)
- 01/2007 - 01/2008 chemik, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa
- 02/2008 - 03-2013 asystent, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa
- 04/2013 - obecnie adiunkt, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Warszawa

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

4.1 tytuł osiągnięcia naukowego

Projektowanie, synteza i charakterystyka koniugatów znakowanych Ga-68 oraz Tc-99m do diagnostyki choroby Alzheimera, stopy cukrzycowej i reumatoidalnego zapalenia stawów metodą PET i SPECT

4.2 wykaz publikacji naukowych stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego

Osiągnięciem naukowym, będącym podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, jest zamieszczony poniżej cykl publikacji, składający się (na dzień 10 maja 2023) z 9 prac o łącznym IF równym **32,292** (MNiSW = **730** pkt) zgodnie z rokiem opublikowania. W skład cyklu wchodzi 8 prac oryginalnych oraz 1 praca przeglądowa. We wszystkich pracach jestem autorem korespondencyjnym (ozn*), w tym w 7 z nich również pierwszym autorem. Liczba cytowań podana jest na podstawie bazy Web of Science (z dnia 6.06.2023), po 'ukośniku' podana jest liczba cytowań bez autocytowań.

[H1] E. Gniazdowska, **P. Koźmiński***, M. Wasek, M. Bajda, J. Sikora, E. Mikiciuk-Olasik, P. Szymański; *Synthesis, physicochemical and biological studies of technetium-99m labeled tacrine derivative as a diagnostic tool for evaluation of cholinesterase level*, Bioorg. Med. Chem., 25 (2017) 912-920.

IF₂₀₁₆= **2,454**; . punkty MNiSW₂₀₁₆=**30**

I. cyt. = **7/5**

Mój wkład w powstanie pracy: koncepcja pracy, wykonywanie prac eksperymentalnych, analiza, interpretacja oraz opracowanie otrzymanych wyników, udział w napisaniu części manuskryptu, końcowa redakcja manuskryptu oraz przygotowywanie późniejszych odpowiedzi na uwagi recenzentów.

[H2] E. Gniazdowska, **P. Koźmiński***, P. Halik, M. Bajda, K. Czarnecka, E. Mikiciuk-Olasik, K. Masłowska, Z. Rogulski, Ł. Cheda, K. Kilian, P. Szymański; *Synthesis, physicochemical and biological evaluation of tacrine derivative labeled with technetium-99m and gallium-68 as a prospective diagnostic tool for early diagnosis of Alzheimer's disease*. Bioorg. Chem. 91 (2019) 103136.

IF₂₀₁₈ =**3,926** punkty MNiSW₂₀₁₈=**100**

I. cyt. = **6/5**

Mój wkład w powstanie pracy: koncepcja pracy, wykonanie 'chemicznej' części prac doświadczalnych (synteza radiokoniugatów, charakterystyka właściwości fizykochemicznych, badania stabilności in vitro), udział w przygotowaniu i edycji tekstu publikacji oraz późniejszych odpowiedzi na uwagi recenzentów.

[H3] P. Koźmiński*, D.Niedziałek, G. Wieczorek, P.K. Halik, K. Czarnecka, A. Rogut, Ł. Cheda, Z. Rogulski, P. Szymański, E. Gniazdowska; *New imaging modality of COVID-19 pneumonia developed on the basis of Alzheimer's disease research*. Int. J. Mol. Sci. **2022**, 23, 8405.

IF₂₀₂₁= **6,208** punkty MNiSW ₂₀₂₁=**140**

I. cyt. = **brak**

Mój wkład w powstanie pracy: określenie celu naukowego, zaplanowanie i wykonanie 'chemicznej' części badań oraz analiza i interpretacja otrzymanych wyników, udział w przygotowaniu manuskryptu oraz późniejszych odpowiedzi na uwagi recenzentów.

[H4] P. Koźmiński*, W. Gawęda, M. Rzewuska, A. Kopatys, S. Kujda, M. K. Dudek, P. K. Halik, L. Królicki, E.Gniazdowska; *Physicochemical and Biological Study of ^{99m}Tc and ⁶⁸Ga Radiolabelled Ciprofloxacin and Evaluation of [^{99m}Tc]Tc-CIP as Potential Diagnostic Radiopharmaceutical for Diabetic Foot Syndrome Imaging*. Tomography **2021**, 7, 829-842.

IF₂₀₂₀ =**3,358** punkty MNiSW ₂₀₂₀=**40**

I. cyt. = **4/3**

Mój wkład w powstanie pracy: zaproponowanie koncepcji badań, wykonanie badań w ramach realizowanej pod moją opieką pracy magisterskiej studentki Wydziału Fizyki UW (Weroniki Maliszewskiej (Gawędy)), analiza i interpretacja otrzymanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu i późniejszych odpowiedzi na uwagi recenzentów.

[H5] P. Koźmiński*, M. Rzewuska, A. Piądtłowska, P. K. Halik, L., E.Gniazdowska; *Synthesis, physicochemical and in vitro biological evaluation of ^{99m}Tc-cefepime radioconjugates, and development of DTPA-cefepime single vial kit formulation for labelling with technetium-99m*. J. Radioanal. Nucl. Chem. **2022**, 331, 2883–2894.

IF₂₀₂₁ =**1,754** punkty MNiSW ₂₀₂₁=**40**

I. cyt. = **1/0**

Mój wkład w powstanie pracy: zaproponowanie koncepcji badań, wykonanie badań w ramach realizowanej pod moją opieką pracy magisterskiej studentki Wydziału Fizyki UW (Agaty Piądtłowskiej), analiza i interpretacja otrzymanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu i późniejszych odpowiedzi na uwagi recenzentów.

[H6] P. Koźmiński*, K. Żelechowska-Matysiak, E. Gniazdowska; *Synthesis and physicochemical properties of cefepime derivatives suitable for labelling with gallium-68*. Appl. Sci. **2023**, 13, 5019.

IF₂₀₂₀ = **2,838** punkty MNiSW₂₀₂₁ = **100**

I.cyt. = **brak**

Mój wkład w powstanie pracy: zaproponowanie koncepcji badań, wykonanie badań w ramach realizowanej pod moją opieką pracy magisterskiej studentki Wydziału Fizyki UW (Kingi Żelechowskiej-Matysiak), analiza i interpretacja otrzymanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu i późniejszych odpowiedzi na uwagi recenzentów

[H7] P. Koźmiński*, P. Halik, R. Chesori, E. Gniazdowska; *Overview of Dual-Acting Drug Methotrexate in Different Neurological Diseases, Autoimmune Pathologies and Cancers*. Int. J. Mol. Sci. **2020**, 21, 3483.

IF₂₀₂₀ = **5,923** punkty MNiSW₂₀₂₀ = **140**

I. cyt. = **95/93**

Mój wkład w powstanie pracy: opracowanie konspektu publikacji, przeprowadzenie przeglądu literatury, przygotowanie manuskryptu oraz późniejszych odpowiedzi na uwagi recenzentów.

[H8] P. Koźmiński*, P. K. Halik, R. Chesori, E. Gniazdowska; *Common Shortcomings in Study on Radiopharmaceutical Design Research: A Case Study of ^{99m}Tc-Labelled Methotrexate*. Molecules **2021**, 26, 5862.

IF₂₀₂₀ = **4,412** punkty MNiSW₂₀₂₀ = **100**

I. cyt. = **1/1**

Mój wkład w powstanie pracy: określenie celu i koncepcji badań, zaplanowanie prac doświadczalnych, analiza i interpretacja otrzymanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz późniejszych odpowiedzi na uwagi recenzentów.

[H9] P. Koźmiński*, M. Gumiela, R. Walczak, K. Wawrowicz, A. Bilewicz; *A semi-automated module for the separation and purification of ^{99m}Tc from simulated molybdenum target*. J. Radioanal. Nucl. Chem. **2021**, 328, 1217–1224.

IF₂₀₂₀ = **1,371** punkty MNiSW₂₀₂₀ = **40**

l.cyt. = **2/2**

Mój wkład w powstanie pracy: określenie celu i koncepcji badań, udział w wykonaniu prac doświadczalnych, analiza i interpretacja otrzymanych wyników, przygotowanie i edycja tekstu publikacji oraz późniejszych odpowiedzi na uwagi recenzentów.

4.3 opis osiągnięcia naukowego

Wprowadzenie

XXI wiek niesie ze sobą wiele zdobyczy ludzkości mających na celu poprawę jakości życia, ale jednocześnie wraz z postępem współczesnej cywilizacji pojawiły się schorzenia nazywane chorobami cywilizacyjnymi (społecznymi). Schorzenia te dotyczą nie tylko krajów wysokorozwiniętych, ale także rozwijających się i stanowią obecnie ogromny problem dla medycyny. Wśród najważniejszych chorób cywilizacyjnych możemy wyróżnić schorzenia układu sercowo-naczyniowego, cukrzycę wraz z powikłaniami, choroby neurodegeneracyjne jak choroba Alzheimera (AD), nowotworowe, czy choroby systemowe jak reumatologiczne zapalenie stawów (RZS). Choroby cywilizacyjne mogą prowadzić nie tylko do niepełnosprawności, ale także są przyczyną ponad 80% przedwczesnych zgonów [1]. Z tego też powodu tak ważne jest rozwijanie nowych metod diagnostycznych pozwalających na wczesne wykrycie choroby cywilizacyjnej, pozwalające na podjęcie wczesnej, a więc i bardziej skutecznej terapii.

Coraz częstsze występowanie zaburzeń neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera, stało się poważnym wyzwaniem na całym świecie. Dewastacja funkcji poznawczych mózgu dotkniętego AD zaczyna się od utraty pamięci krótkotrwałej, a poprzez powolne wyczerpywanie się zdolności komunikacyjnych, powoduje problemy z orientacją, apatię, całkowite unieruchomienie, a w konsekwencji utratę funkcjonowania organizmu i śmierć. Jak poważny stanowi ona problem świadczą dane organizacji Alzheimer's Disease

International (ADI), które szacują, że dziś tylko na chorobę Alzheimera na świecie choruje około 55 milionów ludzi, a prognozy sięgają blisko 80 milionów na rok 2030 [2]. Choroba ta dotyka nie tylko samego pacjenta, ale również środowisko w jakim żyje, a w szczególności jego bliskich. Konieczność stałej opieki nad chorym cierpiącym z powodu AD wymaga od bliskich wysiłku zarówno fizycznego jak i psychicznego. Na dzień obecny mimo bardzo intensywnie prowadzonych prac badawczych nie ma skutecznego leczenia, które zapobiegałoby rozwojowi i powstrzymałoby proces chorobowy, jednakże wczesne zdiagnozowanie choroby może umożliwić pacjentowi uzyskanie dostępu do wsparcia dla siebie i innych, a także maksymalnie poprawić jakość życia i umożliwić planowanie dalszego postępowania.

Cukrzyca jest chorobą o społecznym charakterze, o czym świadczy częstość jej występowania u większej liczby osób niż 1 procent całego społeczeństwa. Według Międzynarodowej Federacji diabetologicznej na cukrzycę choruje na świecie ponad 530 mln ludzi, a do roku 2030 ich liczba może wzrosnąć do blisko 650 mln. Ilość chorych dotkniętych cukrzycą powiększa się każdego roku średnio o 2,5 %, a liczba zgonów w wyniku cukrzycy w roku 2021 wyniosła 6,7 mln [3]. W Polsce z cukrzycą zmagają się blisko 3 mln osób, a przy obecnym tempie wzrostu pod koniec 2030 roku liczba ta może stanowić 10% populacji. Infekcje bakteryjne w zespole stopy cukrzycowej należą do jednych z najpoważniejszych powikłań u ludzi chorych na cukrzycę. Zespół ten występuje w wyniku pogorszenia ukrwienia w stopie, która staje się niedotleniona i bardziej podatna na zakażenia drobnoustrojami. Dodatkowo towarzysząca temu schorzeniu neuropatia zmniejsza czucie w stopach, przez co uszkodzenie czy mała ranka mogą pozostać niezauważone. Do typowych objawów stopy cukrzycowej zalicza się utratę czucia w stopach, łuszczenie się skóry, trudno gojące się rany. Wszystkie te procesy prowadzą do destrukcji zarówno tkanek miękkich jak również kości, i dotyczą jednego schorzenia, tzw. stawu Charcota (neuroatropatii Charcota). Problem zespołu stopy cukrzycowej dotyka około 15% diabetyków, jest złożony i wymaga wielospecjalistycznej opieki, a przede wszystkim dobrej diagnostyki pozwalającej na uniknięcie amputacji, których w Polsce wykonuje się kilka tysięcy rocznie (w roku 2019 liczba ta wynosiła 8000) [4].

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest chorobą autoimmunologiczną, na którą obecnie cierpi wg Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) około 14 milionów ludzi. Według badań częstości występowania choroby w populacji ludności Europy i USA cierpi na nią 0,5-2

% społeczeństwa powyżej 15-go roku życia, natomiast roczna zapadalność wynosi od 31 do 50 osób na 100 000. Większość analiz wykazuje, że zachorowalność na RZS jest 2-4 krotnie większa u kobiet niż u mężczyzn [5]. RZS powoduje objawy bólu i stanu zapalnego przede wszystkim obejmujące: ręce, nadgarstki, kolana, palce u nóg czy też całe stopy. Wszystkie te zmiany prowadzą najczęściej do zniszczenia stawów i ciężkiej niepełnosprawności, inwalidztwa, a nawet przedwczesnej śmierci. Pomimo, że obecnie wciąż nie ma lekarstwa na reumatoidalne zapalenie stawów, istnieje wiele skutecznych metod zmniejszania bólu i stanu zapalnego oraz spowalniania procesu chorobowego. Dlatego bardzo ważna jest wczesna diagnoza pozwalająca na zastosowanie terapii, która hamuje postęp choroby (zmniejsza ból i obrzęk stawów oraz poprawia ich pracę), zapobiega jej powikłaniom i umożliwia normalne funkcjonowanie. Obecnie w diagnostycznych metodach medycyny nuklearnej wykorzystywana jest tomografia emisyjna pojedynczych fotonów, powszechnie nazywana SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography), oraz pozytonowa tomografia emisyjna – PET (Positron Emission Tomography). Techniki te pozwalają obrazować funkcje badanych narządów, dzięki czemu wykorzystywane są w badaniach ich stanów fizjologicznych, co daje informację o ich prawidłowym lub chorobowo zmienionym funkcjonowaniu. Metody te doskonale uzupełniają się z badaniami rentgenowskimi, jak i z obrazowaniem przy użyciu rezonansu magnetycznego (MRI).

Technika SPECT wykorzystuje radionuklidy emitujące promieniowanie γ o energii 100-250 keV, dlatego też idealnymi pod tym względem są np. Tc-99m, I-123, In-111. Badanie metodą SPECT polega na pomiarze promieniowania gamma, emitowanego przez podany uprzednio pacjentowi radiofarmaceutyk. Pomiar odbywa się za pomocą aparatu zwanego gamma kamerą, który obracając się wokół pacjenta rejestruje promienie gamma (fotony) emitowane w różnych kierunkach. Tak otrzymana informacja jest przetwarzana przy użyciu odpowiedniego programu komputerowego na obraz pokazujący miejsca zwiększonego gromadzenia się radioznacznika w organizmie. Najbardziej rozpowszechnione w SPECT są związki Tc-99m ze względu na bardzo dobrą charakterystykę jądrową tego radionuklidu (czas połowicznego rozpadu 6 godzin, energia 140 keV oraz bardzo bogatą chemię koordynacyjną technetu, wynikającą z występowania tego pierwiastka w związkach chemicznych na wielu stopniach utlenienia [6,7]).

Technet-99m jest najpowszechniejszym radioizotopem stosowanym w medycynie nuklearnej i stanowi około 85% tych procedur [8]. Technet-99m powstaje w wyniku reakcji

rozpadu β^- molibdenu-99, który może być otrzymywany w reaktorze jądrowym przez naświetlenie neutronami termicznymi naturalnego lub też wzbogaconego już molibdenu-98. Ze względu jednak na bardzo mały przekrój czynny reakcji $^{98}\text{Mo}(n,\gamma)^{99}\text{Mo}$ (0,13 barna), ilość powstającego w tej przemianie Mo-99 jest niewielka, dlatego też głównym źródłem Mo-99 jest reakcja rozszczepienia ^{235}U . W latach 2009-2010 odnotowano poważny niedobór ^{99}Mo , spowodowany wyłączeniem lub remontem starzejących się reaktorów jądrowych produkujących ten izotop. W związku z tym, w celu uniezależnienia się od ewentualnych przerw w produkcji ^{99}Mo , rozpoczęto intensywne poszukiwania alternatywnych metod produkcji molibdenu-99. Okazało się, że wykorzystując procesy zachodzące w cyklotronie można otrzymywać molibden-99 w reakcji $^{100}\text{Mo}(p,pn)^{99}\text{Mo}$, a w reakcji $^{100}\text{Mo}(p,2n)^{99m}\text{Tc}$ – bezpośrednio także Tc-99m [9,10]. Kolejną alternatywą dla produkcji technetu-99m jest reakcja fotojądrowa $^{100}\text{Mo}(\gamma,n)^{99}\text{Mo}$, w której wykorzystywane są wysokoenergetyczne fotony otrzymywane z akceleratora elektronów [11]. Technologia ta jest na etapie badań i stanowi realną alternatywę w postaci wprowadzonego w roku 2021, przez firmę NorthStar Medical Radioisotopes, LLC, systemu RadioGenix, który służy do produkcji Tc-99m z molibdenu-99 produkowanego bez wykorzystania uranu. Istotną zaletą stosowania technetu-99m w medycynie nuklearnej, niezależnie od jego właściwości jądrowych, jest możliwość otrzymywania go z generatora $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ (molibdenowo-technetowego), bezpośrednio w laboratorium szpitalnym. Elucja trwa kilka minut, a otrzymany, sterylny i apyrogenny roztwór, gotowy jest do syntezy preparatów technetowych.

Drugą intensywnie rozwijającą się obecnie techniką diagnostyczną medycyny nuklearnej jest pozytonowa tomografia emisyjna (PET), wykorzystująca radionuklidy emitujące cząstki β^+ – pozytony (np. C-11, F-18, Ga-68, Zr-89). Pozytony emitowane podczas rozpadu promieniotwórczego izotopu praktycznie natychmiast zderzają się z elektronami otoczenia, w wyniku czego powstają dwa fotony o energii równej 511 keV, rozchodzące się wzdłuż linii prostej (pod kątem bliskim 180°), w przeciwne strony. Umieszczone wokół pacjenta detektory gamma kamery rejestrują kierunki rozchodzenia się fotonów, a punkt przecięcia się tych kierunków wskazuje miejsca kumulowania się radionuklidu w organizmie.

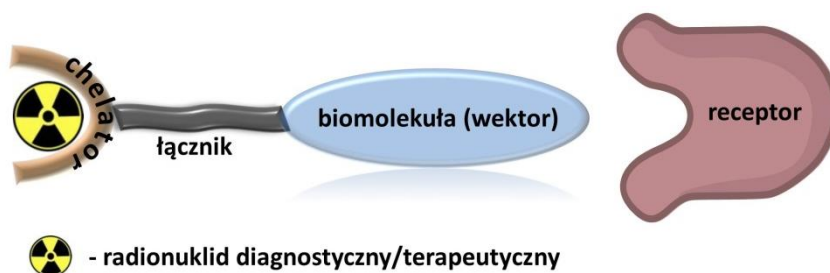
Z perspektywy zastosowań w medycynie nuklearnej, zaletą radionuklidu ^{68}Ga są jego właściwości jądrowe gdzie średnia energia pozytonów emitowanych przez ten radionuklid wynosi 836,0 keV, a $T_{1/2}$ wynosi 68 minut. Dodatkowym atutem jest możliwość jego otrzymywania, ponieważ podobnie jak Tc-99m radionuklid ten również pozyskiwany jest z

generatora, który stanowi para $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ (german-68/gal-68). Generator pozwala na kilka elucji dziennie radionuklidu gal-68 bezpośrednio w zakładzie medycyny nuklearnej, a dzięki długiemu czasowi połowicznego zaniku germanu-68 ($T_{1/2} = 271$ dni), generator galowy może być używany przez długi okres czasu sięgający roku.

Kończąc wprowadzenie do tematyki mojego osiągnięcia naukowego chciałbym dodać, że moje prace dotyczące projektowania nowych radiofarmaceutyków są o charakterze interdyscyplinarnym i wymagały ode mnie często nie tylko wiedzy z zakresu chemii organicznej, chemii analitycznej, radiochemii, ale również biochemii czy biologii, a także częstych kontaktów ze środowiskiem medycznym.

Cel pracy

Moje zainteresowania naukowo-badawcze dotyczą projektowania i syntezy nowych potencjalnych radiofarmaceutyków (Rys. 1), w tym m. in. właśnie do diagnostyki chorób cywilizacyjnych, takich jak choroba Alzheimera (AD), zespół stopy cukrzycowej (ZSC) czy reumatoidalne zapalenie stawów (RZS). Przedstawione poniżej moje osiągnięcie naukowe przedstawia otrzymywanie radiokoniugatów opartych na pochodnych takryny (diagnostyka AD), antybiotykach (diagnostyka ZSC) oraz metotreksacie (diagnostyka RZS). Prace dotyczą projektowania nowych potencjalnych radiofarmaceutyków diagnostycznych dedykowanych do wczesnego wykrywania wspomnianych powyżej chorób, tj. wyboru chelatora i biologicznie aktywnej cząsteczki (biomolekuły, wektora), opracowania procedury syntezy koniugatów zawierających chelator i biomolekułę), optymalizacji warunków radioznakowania otrzymywanych koniugatów, oraz zbadania fizykochemicznych i biologicznych właściwości otrzymanych radiokoniugatów z punktu widzenia możliwości zastosowania ich w warunkach klinicznych.



Rysunek 1. Ogólny schemat budowy receptorowego radiofarmaceutyku.

W trakcie syntezy koniugatów konieczne było dobranie odpowiednich metod lub opracowanie zupełnie nowych ścieżek syntezy zapewniających takie przyłączenie łączników i chelatorów (umożliwiających znakowanie radionuklidami galu-68 czy technetu-99m) aby biomolekuły wchodzące w skład otrzymanych radiopreparatów nie utraciły swoich właściwości biologicznych. Kolejnym ważnym aspektem chemicznym było otrzymanie końcowego produktu o wysokiej czystości radiochemicznej oraz odpowiednio długiej trwałości w płynach ustrojowych, takich jak surowica ludzka czy płyn mózgowo-rdzeniowy.

Wyniki oraz możliwość ich wykorzystania

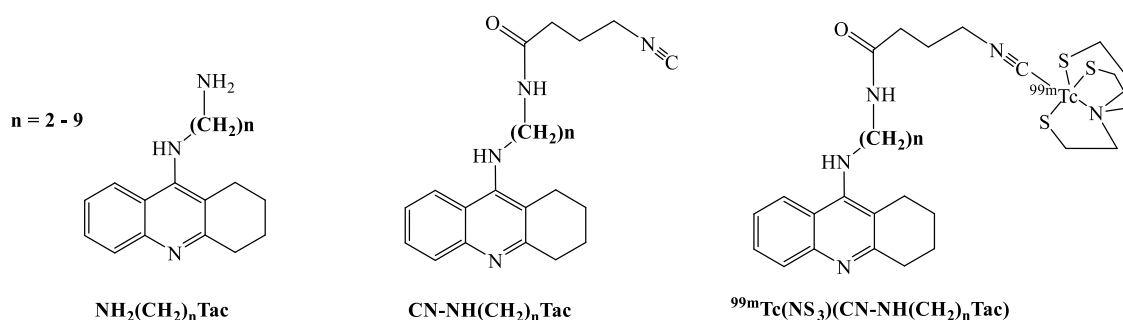
Radiofarmaceutyki dedykowane do **diagnostyki choroby Alzheimera (publikacje H1, H2, H3)**

W przedstawionych pracach opisane zostały badania nad nowymi radiokoniugatami opartymi na pochodnej takryny, jako potencjalnymi kandydatami do diagnostyki choroby Alzheimera. Takryna (tetrahydroakrydyna, 9-amino-1,2,3,4-tetrahydroakrydyna, Tac) należy do inhibitorów acetylocholinoesterazy (AChE) i podobnie jak inne leki z tej grupy, np. riwastygmina czy donepezil, hamuje aktywność tego enzymu, przez co uniemożliwia rozkład acetylocholin (ACh) - neuroprzekaźnika odpowiedzialnego za przekazywanie sygnałów w układzie cholinergicznym ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Radiofarmaceutyki oparte na pochodnych takryny mogą służyć jako sondy diagnostyczne do określania poziomu AChE w organizmie człowieka, co w przypadku AD pozwoli na zlokalizowanie pojawiających się w mózgu obszarów ubogich w ACh, a tym samym na diagnozowanie rozwijającej się już choroby na długo przed wystąpieniem widocznych objawów morfologicznych. Ponadto, ze względu na obecność AChE również w wątrobie i jelitach, a według ostatnich doniesień w podwyższonych stężeniach także w stanach zapalnych płuc w przebiegu choroby

koronawirusowej (COVID-19) [12], wspomniane radiopreparaty mogą również pełnić rolę markerów określających stan fizjologiczny tych narządów.

W początkowych badaniach skupiłem się nad syntezą i określeniem właściwości fizykochemicznych nowych analogów takryny znakowanych radionuklidem technet-99m [H1],[H2], dedykowanych do obrazowania metodą SPECT. W pierwszym etapie pracy zsyntezowane zostały pochodne takryny, $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{Tac}$, różniące się między sobą ilością grup $-\text{CH}_2-$ w alifatycznym łańcuchu węglowodorowym, gdzie n oznaczało liczbę grup $-\text{CH}_2-$ w zakresie 2-9. Następnie pochodne te zostały wyznakowane technetem-99m na dwóch różnych drogach: przy użyciu kompleksu technetu typu '4+1' [H1] i za pomocą chelatora Hynic [H2].

W pierwszym przypadku [H1] do pochodnych takryny został przyłączony dwufunkcyjny łącznik, **CN-BFCA** (ester imidobursztynianowy kwasu izocyjanomasłowego), w którym grupa estrowa została wykorzystana do połączenia go ze szkieletem takryny, natomiast grupa izonitrylowa ($-\text{N}\equiv\text{C}$) pełniła rolę liganda monodentnego, **CN-NH(CH₂)_nTac**, kompleksującego kation radionuklidu $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{III}}$. Drugim – tetradentnym ligandem – była tris(2-merkptoetylo)amina, **NS₃**. Zsyntezowałem tu radiokoniugaty o ogólnym wzorze $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc}(\text{NS}_3)(\text{CN-NH}(\text{CH}_2)_n\text{-Tac})^*$ (Rysunek 2) zawierające kompleks technetu typu '4+1' w kształcie bipiramidy trygonalnej.



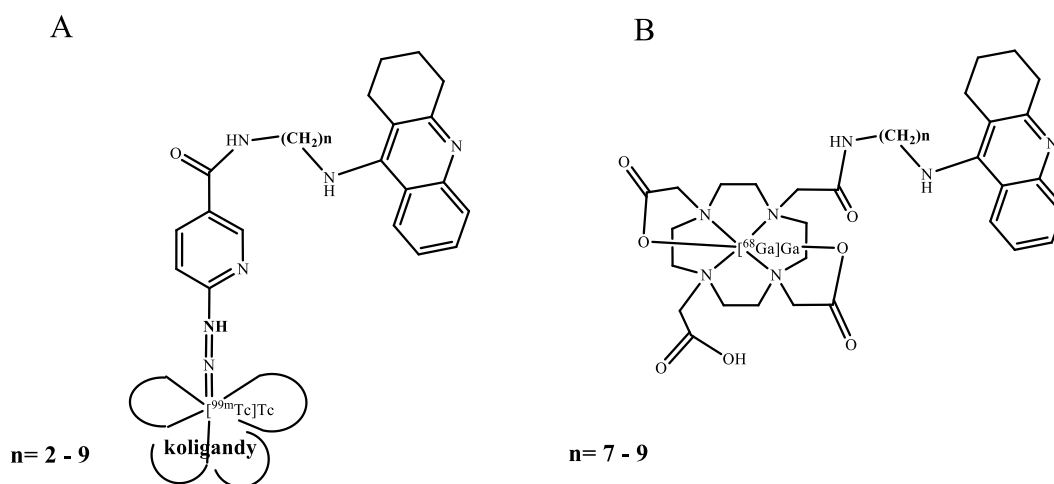
Rysunek 2. Struktury pochodnych takryny, pochodnych takryny z przyłączonym łącznikiem oraz radiokoniugatów opisanych w pracy [H1].

Wszystkie otrzymane tu radiokoniugaty wykazały wysoką stabilność w obecności nadmiaru standardowych aminokwasów cysteiny lub histydyny, jak również w surowicy

* wzory radiokoniugatów mogą nieznacznie różnić się od tych w publikacjach ponieważ zostały podane zgodnie z nową obecnie obowiązującą nomenklaturą

ludzkiej. Wyznaczone parametry lipofilowości (wartości LogD), wszystkich radiokoniugatów, istotne z punktu widzenia możliwości przechodzenia przez barierę krew-mózg (blood-brain barrier, BBB) mieściły się w zakresie od 0,92 do 1,56. Wartość logD była kluczowym parametrem dla wyboru radiokoniugatu do dalszych badań: aktywności biologicznej (hamowania działania acetylocholinesterazy) oraz biodystrybucji wielonarządowej. Wyznaczony metodą Ellmana parametr IC_{50} wybranego do dalszych badań radiokoniugatu $[^{99m}Tc]Tc(NS_3)(CN-NH(CH_2)_7-Tac)$ (o najwyższej lipofilowości, $logD = 1,56 \pm 0,06$ – tożsamość tego radiokoniugatu została potwierdzona poprzez zsyntezowanie i scharakteryzowanie chemiczne zimnego związku odniesienia $(NS_3)Re(CN-NH(CH_2)_7-Tac)$ wynosił 45,0 nM, a badania biodystrybucji tego radioznacznika wykazały jego wychwyty w mózgu na poziomie 0,07%ID/g, co wskazuje na jego możliwość przekroczenia bariery krew-mózg. Modelowanie molekularne wykonane dla tego radiokoniugatu wykazało, że głównym fragmentem struktury odpowiedzialnym za większość oddziaływań w obrębie katalitycznych i obwodowych miejsc aktywnych AChE jest ugrupowanie takrynowe, które układa się pomiędzy dwoma aminokwasami Trp86 i Tyr337 tworząc oddziaływania $\pi-\pi$. Natomiast sam łańcuch alifatyczny jest zlokalizowany pośrodku gardzieli enzymu i tworzy tam wiązania hydrofobowe z aromatycznymi pierścieniami Tyr124 i Tyr341. Pozwala to uważać, że aktywność biologiczna takryny znajdującej się w cząsteczce radiokoniugatu wobec AChE została zachowana.

W drugim przypadku [**H2**] pochodne takryny zostały wyznakowane technetem-99m przy użyciu chelatora Hynic (i oczywiście odpowiednich koligandów), w wyniku czego otrzymałem z wysoką wydajnością radiochemiczną radiokoniugaty o ogólnym wzorze $[^{99m}Tc]Tc-Hynic-(NH(CH_2)_nTac)$ (Rys. 3A).

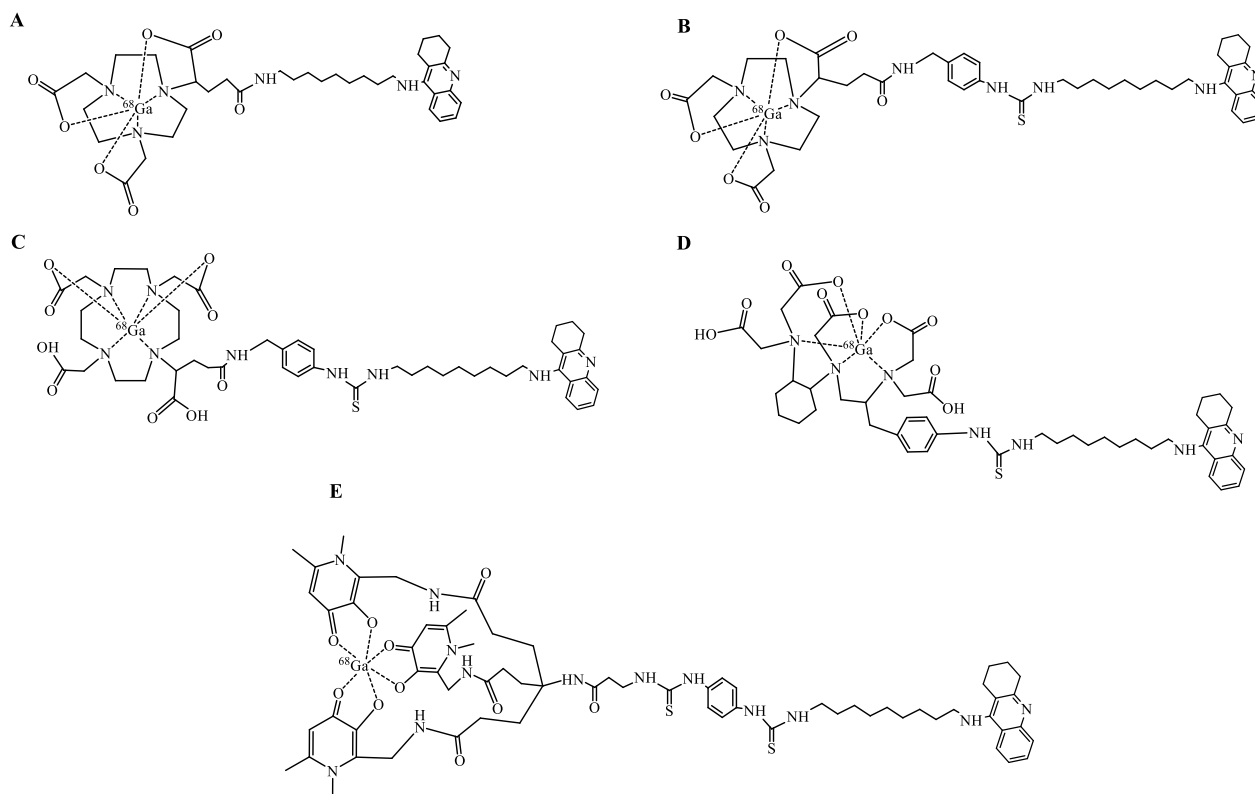


Rysunek 3. Struktury radiokoniugatów opisanych w pracy [H2].

Wyznaczone wartości logD w przypadku tych radiokoniugatów mieściły się w zakresie od -2,95 do -1,38, a więc radiokoniugaty te były znacznie mniej lipofilowe. Radiokoniugatem o najwyższej wartości logD, wybranym do dalszych badań, został związek $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Hynic}-(\text{NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac})$ ($\log D = -1,38 \pm 0,01$). Jak wspomniałem powyżej, modelowanie molekularne pokazało, że łańcuch alifatyczny zlokalizowany jest pośrodku gardzieli enzymu, co pozwala bezpiecznie przyjąć, że jego wydłużenie o dwie grupy CH_2 ($n=9$) nie powinno wpłynąć znacząco na aktywność biologiczną takryny znajdującej się w cząsteczce radiokoniugatu. Badania właściwości fizykochemicznych radiokoniugatu $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Hynic}-(\text{NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac})$ pokazały jego wysoką stabilność w obecności nadmiarowych ilości konkurencyjnych aminokwasów (tj. cysteiny lub histydyny) oraz w ludzkiej surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym. Badania biodystrybucji na modelu zwierzęcym wykazały wychwyt tego radioznacznika w mózgu na poziomie 0.98 %ID/g, a więc znacznie wyższym niż w przypadku znacznie bardziej lipofilowego radioznacznika $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}(\text{NS}_3)(\text{CN-NH}(\text{CH}_2)_7\text{-Tac})$.

W kolejnych badaniach pochodne takryny $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{Tac}$ wyznakowałem radionuklidem gal-68 przy użyciu różnych chelatorów tworzących stabilne kompleksy z kationem galu(III) [H2],[H3]. Radiopreparaty takie mogą znaleźć zastosowanie w obrazowaniu metodą PET, a fakt ich otrzymania został potwierdzony poprzez zsyntezowanie nieradioaktywnych 'renowych' związków odniesienia i scharakteryzowanie ich metodą spektrometrii masowej. Jako pierwszy chelator zastosowałem kwas 1,4,7,10-tetraazacyklododekano-1,4,7,10-tetraoctowy (DOTA) w formie aktywnego estru N-hydroksysucynimidowego (DOTA-NHS) [H2]. Ze względu na fakt, że przyłączenie chelatora DOTA powoduje zmniejszenie

lipofilowości otrzymanego produktu, do syntezy radiokoniugatów zastosowałem pochodne takryny $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{Tac}$, w których n przyjmowało wartości 7-9. Otrzymałem tu z dużą wydajnością trzy radiokoniugaty o ogólnym wzorze $^{68}\text{Ga}[\text{Ga-DOTA-NH}(\text{CH}_2)_n\text{Tac}$ (Rys. 3B), dla których wyznaczony parametr $\log D$ zawierał się w przedziale od -2,52 do -1,52. Wszystkie trzy radiokoniugaty okazały się stabilne w roztworach konkurencyjnych aminokwasów (tj. cysteiny lub histydyny) oraz surowicy ludzkiej i płynie mózgowo-rdzeniowym, a do dalszych badań biodystrybucji wybrany został radiokoniugat $^{68}\text{Ga}[\text{Ga-DOTA-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$ charakteryzujący się w tej serii radiopreparatów najwyższą lipofilowością ($\log D = -1,52 \pm 0,01$). Oznaczony wychwyt tego radioznacznika w mózgu był na poziomie 0,21 %ID/g. W dalszych pracach [H3] do znakowania pochodnej takryny $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$ galem-68 zastosowałem jeszcze chelatory: kwas 1,4,7 triazacyclononano-1-glutarowo-4,7-octowy w formie aktywnego estru NHS (NODAGA-NHS), kwas 1,4,7 triazacyclononano-1-glutarowo-4,7-octowy w formie aktywnego izotiocyanianu fenylu (NODAGA-Bn-SCN), kwas 1,4,7,10-tetraazacyklododekano-1-glutarowo-4,7,10-trioctowy w formie aktywnego izotiocyanianu fenylu (DOTAGA-Bn-SCN), kwas cykloheksano-1,2-diaminopentaoctowy w formie aktywnego izotiocyanianu fenylu (DTPA-CHX-SCN) i tris(hydroksypirydynon) w formie aktywnego izotiocyanianu fenylu (THP-SCN). Otrzymałem tu pięć radiokoniugatów ($^{68}\text{Ga}[\text{Ga-NODAGA-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$, $^{68}\text{Ga}[\text{Ga-NODAGA-Bn-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$, $^{68}\text{Ga}[\text{Ga-DOTAGA-Bn-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$, $^{68}\text{Ga}[\text{Ga-DTPA-CHX-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$ i $^{68}\text{Ga}[\text{Ga-THP-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$, Rys. 4), dla których wyznaczone wartości parametru $\log D$ zawierały się w przedziale od -1,36 do 0,73. W wyniku porównania właściwości fizykochemicznych (lipofilowość, stabilność w surowicy ludzkiej) badanych tu radiopreparatów, do badań aktywności biologicznej i biodystrybucji wybrano dwa najbardziej obiecujące radiokoniugaty: $^{68}\text{Ga}[\text{Ga-NODAGA-Bn-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$ i $^{68}\text{Ga}[\text{Ga-THP-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$. Badania aktywności biologicznej wykazały, że oba wybrane radioznaczniki są skutecznymi inhibitorami cholinoesteraz, a wyznaczony w badaniach biodystrybucji wychwyt tych radioznaczników w mózgu wynosił, odpowiednio, 0,02 i 0,12 %ID/g.



Rysunek 4. Struktury radiokoniugatów opisanych w pracy [H3].

Właściwości fizykochemiczne i biologiczne wybranych radiokoniugatów (istotne z punktu widzenia zastosowania ich jako radiofarmaceutyki diagnostyczne w chorobie Alzheimera) zawierających takrynę jako cząsteczkę biologicznie aktywną zebrane są poniżej w Tabeli 1.

radiokoniugat	logD	wychwył radiokoniugatu w:	
		mózgu	płucach
$[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}(\text{NS}_3)(\text{CN-NH}(\text{CH}_2)_7\text{Tac})$	$1,56 \pm 0,06$	0,07	3,49
$[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Hynic-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$	$-1,38 \pm 0,01$	0,98	9,60
$[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOA-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$	$-1,52 \pm 0,01$	0,21	2,60
$[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-NODAGA-Bn-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$	$-0,03 \pm 0,02$	0,02	0,61
$[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-THP-NH}(\text{CH}_2)_9\text{Tac}$	$0,73 \pm 0,07$	0,12	1,11

Jak widać z zamieszczonych danych, w zasadzie wszystkie wymienione radiokoniugaty, w większym lub mniejszym stopniu, są zdolne do przekraczania bariery krew-mózg. Jednak tylko

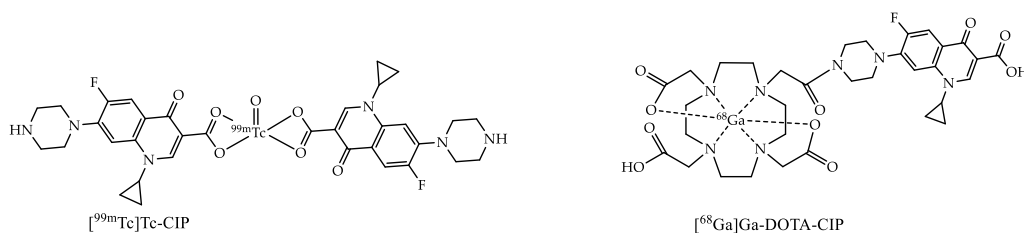
radiokoniugat [^{99m}Tc]Tc-Hynic-(NH(CH₂)₉Tac) charakteryzuje się wychwytem w mózgu zbliżonym do wartości obserwowanej dla radiopreparatu ^{99m}Tc -HMPAO (jest to zarejestrowany radiofarmaceutyk ^{99m}Tc -exametazime, sprzedawany pod nazwą handlową Ceretec, stosowany do scyntygrafii perfuzyjnej mózgu, specyficzny dla OUN zaledwie w 1%). Na szczególną uwagę zasługuje znaczny wychwyty w płucach wszystkich wymienionych w tabeli radiopreparatów. Biorąc pod uwagę, że najczęstszą przyczyną zgonów wśród pacjentów z chorobą Alzheimera są infekcje, zwłaszcza powodujące zapalenie płuc [13], możliwość obrazowania stanu fizjologicznego płuc za pomocą radiofarmaceutyków (metodą SPECT lub PET) umożliwi wczesną diagnozę choroby i wczesne podjęcie terapii.

Radiofarmaceutyki dedykowane do **diagnostyki zespołu stopy cukrzycowej (publikacje H4, H5, H6)**

Do swojego osiągnięcia naukowego zaliczam także zaprojektowanie, otrzymanie i przebadanie nowych potencjalnych radiofarmaceutyków do diagnostyki zespołu stopy cukrzycowej. Radiofarmaceutyki te zawierają diagnostyczny radionuklid technet-99m lub gal-68 i oparte są na antybiotykach (cyprofloksacyna [H4] i cefepim [H5, H6]) stosowanych w terapii tej jednostki chorobowej. Synteza tych radiopreparatów wymaga zwrócenia szczególnej uwagi na zachowanie aktywności biologicznej antybiotyków ze względu na ich nietrwałość wobec różnych odczynników chemicznych stosowanych podczas syntez oraz podwyższonej temperatury.

Cyprofloksacyna (CIP) to fluorochinolon II generacji, który znajduje zastosowanie w leczeniu wielu infekcji bakteryjnych, m.in. infekcji dróg moczowych, infekcji skóry i niektórych narządów, w tym infekcji wywołanych przez *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* lub *Escherichia coli*.

Otrzymane przeze mnie radiokoniugaty (Rys. 5) oparte na cyprofloksacynie ([H4]) i zawierające radionuklidy technet-99m ([^{99m}Tc]Tc-CIP) lub gal-68 ([^{68}Ga]Ga-DOTA-CIP) zostały przebadane pod kątem właściwości fizykochemicznych (stabilność, lipofilność) i biologicznych (badanie wiązania ze *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*).

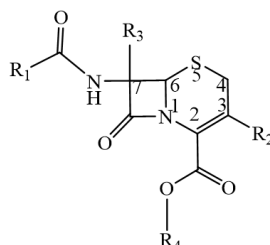


Rysunek 5. Struktury radiokoniugatów $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-CIP}$ i $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-CIP}$.

Radiokoniugat $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-CIP}$ został otrzymany w bezpośredniej reakcji znakowania antybiotyku technetem-99m, a jego struktura przedstawiona na Rysunku 5 jest strukturą domniemaną. $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-CIP}$ jest obojętnym elektrycznie, lekko hydrofilowym związkiem ($\log D = -1,8 \pm 0,1$) o stosunkowo niskiej masie cząsteczkowej, co prawdopodobnie sprzyja jego wiązaniu się z komórkami bakteryjnymi. Wadą tego radiopreparatu okazała się jego niecałkowita stabilność w surowicy, niemniej jednak obrazowanie SPECT przeprowadzone dla zdrowej osoby i pacjenta z ZSC dało bardzo dobre wyniki. W uzyskanym obrazowaniu metodą SPECT/CT osoby zdrowej radiokoniugat był widoczny w wątrobie, śledzionie, nerkach i pęcherzu, a także nieznacznie widoczny w gruczołach ślinowych i jelitach. Brak widocznej akumulacji radioznacznika w tarczycy wskazywał na brak niezwiązanych oraz niezredukowanych form Tc-99m. Natomiast w przypadku osoby z ZSC na uzyskanym obrazie scyntygraficznym można było zauważyć nie tylko fizjologiczny wychwyty radioznacznika $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-CIP}$, ale także dużą akumulację w zainfekowanej części stopy.

Drugi radiokoniugat, $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-CIP}$, został otrzymany z użyciem chelatora DOTA, ma porównywalną masę cząsteczkową i, w przeciwieństwie do poprzedniego radiopreparatu, ma dobrze zdefiniowaną strukturę (analizy MS oraz NMR). Radiokoniugat ten okazał się całkowicie stabilny w surowicy ludzkiej. Jest on jednak naładowany ujemnie i charakteryzuje się prawie dwukrotnie niższym parametrem lipofilowości ($\log D = -3,1 \pm 0,1$), co może być przyczyną jego słabszej zdolności wiązania się z komórkami bakteryjnymi. Wychwyty wiązania radiokoniugatów $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-CIP}$ i $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DOTA-CIP}$ przez komórki bakteryjne wynosił odpowiednio około 8% i 1%. Na podstawie powyższych danych można uznać, że CIP jest dobrym wektorem do dostarczania preparatów radioaktywnych do miejsc infekcji bakteryjnej, oraz że oba radiokoniugaty mają potencjalne zastosowanie do obrazowania zespołu stopy cukrzycowej, odpowiednio metodą SPECT lub PET.

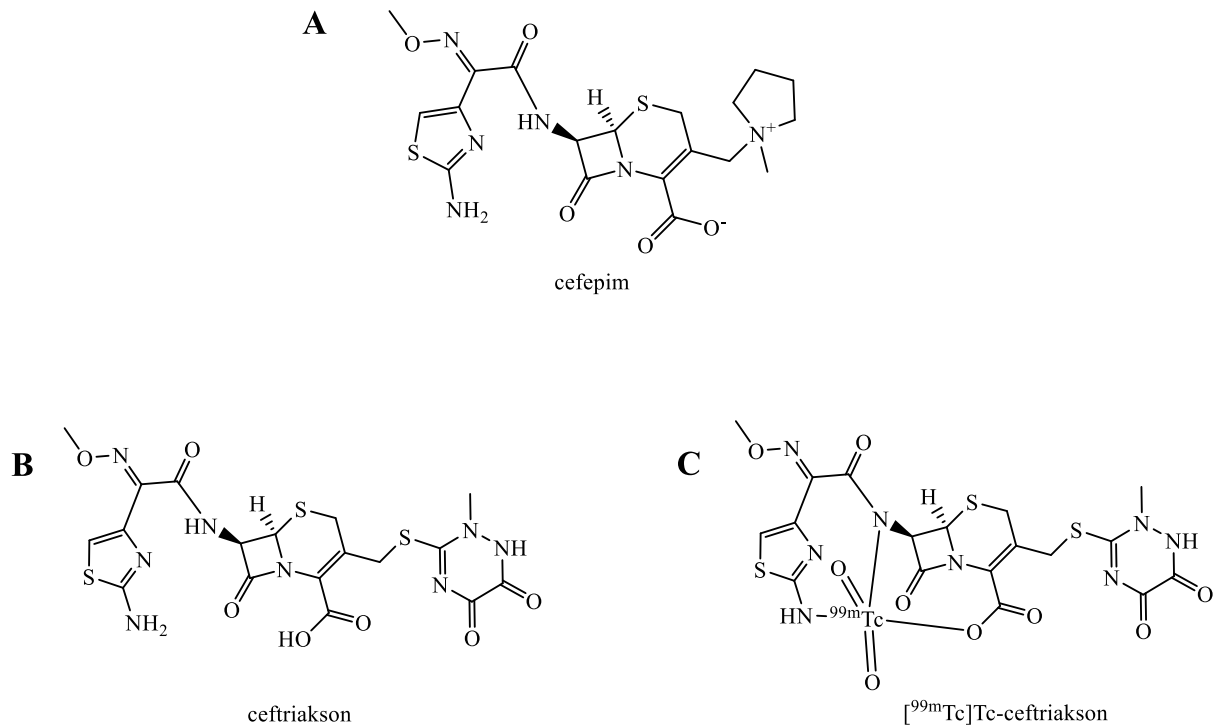
Drugim antybiotykiem, jaki zastosowałem w roli wektora w projektowaniu radiofarmaceutków dedykowanych do diagnostyki ZSC był cefepim (**CFM**). Jest to antybiotyk β -laktamowy należący do cefalosporyn czwartej generacji (Rys. 6), posiadający szerokie spektrum działania wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.



Rysunek 6. Struktura ogólna cefalosporyn.

W zamieszczonej strukturze ogólnej cefalosporyn zaznaczone jest położenie podstawników R_1 , R_2 , R_3 i R_4 , które w różnych antybiotykach należących do tej grupy mogą być różne. Wymiana tych podstawników nie wpływa w zasadniczy sposób na trwałość biologiczną antybiotyku, a więc są to miejsca dozwolone do wykorzystania w czasie modyfikacji cząsteczki. Pozostałe fragmenty struktury w zasadzie należą do fragmentu farmakoforowego antybiotyku, bądź są konieczne do stabilizacji tego fragmentu.

Badania nad wyznakowaniem CFM technetem-99m (**[H5]**) podjąłem z dwóch powodów. Po pierwsze, w projektowaniu potencjalnych radiofarmaceutyków do diagnostyki ZSC postanowiłem jako wektor zastosować właśnie CFM. CFM jest związkiem obojnaczym (Rys. 7A) posiadającym dodatnio naładowany podstawnik w pozycji 3 oraz ujemnie naładowaną grupę karboksylową w pozycji 2, co radykalnie zwiększa jego zdolność przenikania przez błonę zewnętrzną bakterii Gram-ujemnych.

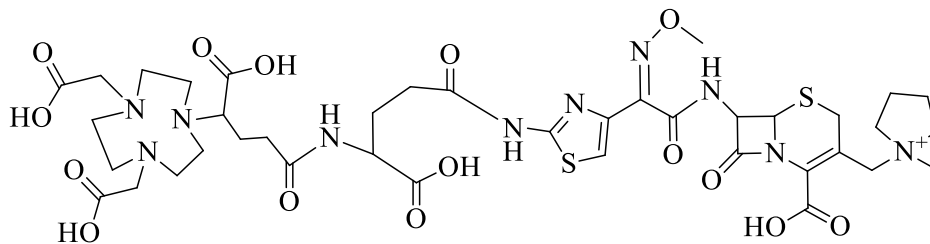


Rysunek 7. Struktury antybiotyków cefepim (A) i ceftriaxson (B) oraz proponowana struktura radiopreparatu $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -ceftriaxson [14].

Po drugie, w literaturze istnieje już co prawda jedna praca dotycząca znakowania cefepimu technetem-99m [15], ale proces znakowania prowadzący do otrzymania radiokoniugatu $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -CFM przeprowadzany został w bezpośredniej reakcji antybiotyku z nadtechnecjanem, i oczywiście w obecności czynnika redukującego. Podobnie jak w przypadku radiokoniugatu $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -CIP otrzymanego w reakcji bezpośredniego znakowania cyprofloksacyny radionuklidem technet-99m [H4], struktura $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -CFM również nie jest opisana. Ponadto, autorzy w swojej pracy donoszą, iż 'ze względu na obecność w cząsteczce różnych reaktywnych chemicznie grup, zawierających różne atomy donorowe (S, N, O), kation radionuklidu może być różnie kompleksowany'. Co więcej, bardzo zaskoczyła mnie podana w literaturze struktura radiokoniugatu opartego na antybiotyku ceftriaxson (CRO) [14], który także należy do grupy cefalosporym, a jego struktura (Rys. 7B) w stosunku do struktury cefepimu (Rys. 7A) różni się jedynie podstawnikiem R₂. Ze względu na praktycznie taką samą strukturę tych dwóch antybiotyków (CRO i CFM), można by uważać, że kompleksy technetu-99m w radiokoniugatach $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -CRO i $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -CFM będą takie same – kation

radionuklidu ^{99m}Tc będzie występował na takim samym stopniu utlenienia i będzie skomplexowany przez takie same atomy donorowe. W przypadku radiokoniugatu ^{99m}Tc -CRO autorzy pracy przedstawiają zaproponowaną przez siebie strukturę tego radiokoniugatu (Rys. 7C), którą ja uważam za całkowicie błędną. W związku z brakiem możliwości zsyntezowania związku odniesienia zawierającego stabilny ren (w warunkach analogicznych do reakcji bezpośredniego znakowania antybiotyków technetem-99m analogiczne związki renu nie powstają), a potem zbadania go standardowymi metodami chemicznymi (analiza elementarna, spektroskopia masowa, badania strukturalne) w celu określenia jego struktury, podjąłem próbę opracowania innej metody znakowania CFM radionuklidem technet-99m, polegającej na modyfikacji jedynie końcowego fragmentu podstawnika R_1 i pozwalającej na zdefiniowanie struktury otrzymanego radiokoniugatu [H5]. Do skomplexowania kationu radionuklidu ^{99m}Tc zastosowałem chelator DTPA (kwas dwuetylenotrójaminopentaoctowy) tworzący już w temperaturze pokojowej stabilne kompleksy z kationem technetu i opracowałem dwie różne drogi syntezy koniugatu DTPA-CFM. Wszystkie syntezy monitorowane były metodą HPLC, a końcowy koniugat został scharakteryzowany metodą spektrometrii masowej oraz spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego. Otrzymany radiokoniugat ^{99m}Tc -DTPA-CFM okazał się wysoce hydrofilowy ($\log D = -4,00 \pm 0,14$) oraz naładowany dodatnio. Radiokoniugat ten był całkowicie stabilny w obecności nadmiaru cysteiny lub histydyny, oraz wykazywał zdecydowanie lepszą stabilność w surowicy ludzkiej niż radiokoniugat otrzymany w wyniku bezpośredniego znakowania (tj. bez użycia chelatora). Przeprowadzone badania biologiczne z wykorzystaniem szczepu *Staphylococcus aureus* wykazały zadowalające wiązanie się radiopreparatu ze ścianą komórkową bakterii, co dowodzi, że przeprowadzona modyfikacja cząsteczki CFM nie spowodowała zmniejszenia się jego aktywności biologicznej. Na podstawie uzyskanych wyników radiokoniugat ^{99m}Tc -DTPA-CFM można uznać za potencjalny radiofarmaceutyk diagnostyczny do wykrywania zakażeń gronkowcowych. W pracy [H6] przedstawiłem badania nad wyznakowaniem CFM galem-68, co stwarza możliwość diagnostyki ZSC metodą PET z zastosowaniem radiopreparatu opartego na tym antybiotyku. Przedstawione w pracy badania są pierwszym doniesieniem literaturowym dotyczącym antybiotyku CFM znakowanego galem-68. Jako chelator zastosowałem tu makrocycliczny ligand kwas 1,4,7 triazacyclononano-1-glutarowo-4,7-octowy w formie aktywnego estru NHS (NODAGA-NHS). Jednak ze względu na małą reaktywność chemiczną grupy aminowej związanej bezpośrednio z pierścieniem tiazolowym

[H6], skutkującą bardzo niską wydajnością reakcji przyłączenia chelatora do cząsteczki CFM, reakcja ta wymagała wcześniejszej modyfikacji cząsteczki antybiotyku, polegającej na przyłączeniu wybranego łącznika. Jako łącznik zastosowałem tu dwa aminokwasy (zawierające po dwie grupy karboksylowe), kwas asparaginowy (Asp) i kwas glutaminowy (Glu), w których grupy aminowe zablokowane były grupami ochronnymi Fmoc (9-fluorenylometoksykarbonyl) lub Boc (*tert*-butyloksykarbonyl), natomiast grupy karboksylowe występowały w formie bezwodnika. Po przyłączeniu łącznika do cząsteczki CFM, odblokowane grupy aminowe służyły do reakcji przyłączenia chelatora. Ze względu na preparatykę, lepszym łącznikiem okazał się Glu i ostatecznie otrzymałem i przebadalem wyznakowany galem-68 antybiotyk CFM w postaci radiokoniugatu [⁶⁸Ga]Ga-NODAGA-Glu-CFM (Rys. 8), całkowicie spełniający wymagania stawiane radiofarmaceutynom.

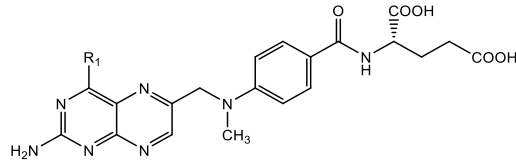


Rysunek 8. Struktura radiopreparatu [⁶⁸Ga]Ga-NODAGA-Glu-CFM

Radiofarmaceutyki dedykowane do diagnostyki **reumatoidalnego zapalenia stawów (publikacje H7, H8)**

Trzecim elementem mojego osiągnięcia naukowego są badania nad otrzymywaniem i charakteryzowaniem znakowanego technetem-99m leku metotreksat (MTX). MTX (Rys. 8) jest strukturalnym analogiem kwasu foliowego (FA) i od ponad 60 lat jest stosowany w leczeniu różnych zaburzeń autoimmunologicznych na całym świecie, a w połowie lat 80-tych ubiegłego stulecia został wprowadzony do leczenia reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS, rheumatoid arthritis, RA). Stosowany w małych dawkach stał się złotym standardem w leczeniu tej choroby (lek 'pierwszego rzutu'). W terapiach skojarzonych z innymi cytostatykami stosowany jest także w leczeniu wielu rodzajów nowotworów. MTX wykazuje

większą skuteczność i bezpieczeństwo niż inne syntetyczne leki przeciwreumatoidalne modyfikujące przebieg chorób autoimmunologicznych (disease-modifying anti-rheumatoid drug, DMARD), aczkolwiek mechanizm jego terapeutycznego działania nadal nie jest całkowicie poznany. Obszerny przegląd aktualnej wiedzy na temat stosowania tego leku oraz możliwe drogi mechanizmu działania przedstawione są w publikacji [H7]. O powszechnym zainteresowaniu lekiem MTX może świadczyć liczba cytowań tej pracy.

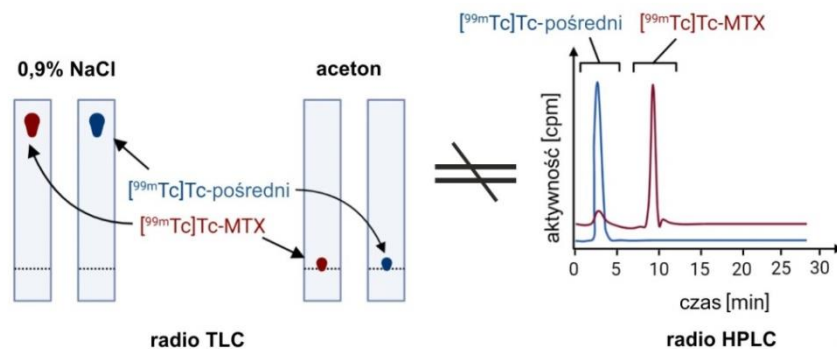


Rysunek 8. Struktura cząsteczki metotreksatu (MTX).

W literaturze istnieją także prace donoszące o znakowaniu MTX różnymi radionuklidami diagnostycznymi (^{99m}Tc , ^{68}Ga , ^{18}F) na potrzeby nauk podstawowych i zastosowań w medycynie nuklearnej [16].

Uwagę swoją zwróciłem na sposób otrzymywania radioznacznika [^{99m}Tc]Tc-MTX, który umożliwia wczesne wykrycie stanu zapalnego w małych stawowych guzkach reumatoidalnych, podczas gdy stosowany już [^{99m}Tc]Tc-MDP (^{99m}Tc -methyl diphosphonate) różnicuje dopiero stawy objęte ciężkim stanem zapalnym od stawów zdrowych [17]. W literaturze znalazłem dziewięć doniesień podających procedurę otrzymywania radiopreparatu [^{99m}Tc]Tc-MTX, jednak, moim zdaniem, żadna z tych prac nie podawała pełnej, wiarygodnej charakterystyki otrzymanego radiozwiązku (Tabela 1 w mojej pracy H8), a pomimo to bardzo często wykonywane były także badania na organizmach żywych (zwierzęta, ludzie). Jak wspomniałem już powyżej, nie ma możliwości potwierdzenia budowy niektórych radiopreparatów ‘technetowych’ poprzez syntezę w analogicznych warunkach ich związków referencyjnych, a potem zbadanie ich standardowymi metodami chemicznymi, ponieważ w danych warunkach (np. bezpośredniego znakowania) radiopreparaty ‘renowe’ nie powstają, a więc nie powstanie także ‘renowy’ związek odniesienia (zawierający stabilny izotop renu; stabilny izotop technetu nie istnieje). Większość syntez radiopreparatu [^{99m}Tc]Tc-MTX w analizowanych doniesieniach wykonywana była w warunkach ‘rzekomo’ bezpośredniego znakowania cząsteczki MTX technetem-99m przy życiu eluatu z $^{99m}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$

generatora i oczywiście czynnika redukującego (np. SnCl_2). Charakterystyka otrzymanego radiopreparatu wykonywana była jedynie metodą TLC (iTLC) i tylko w jednym doniesieniu podano informację o wykonanej analizie HPLC, jednak radiochromatogram nie został zamieszczony w pracy. Użyłem określenia ‘rzekomo’ bezpośredniego znakowania, ponieważ w większości reakcji znakowania w mieszaninie reakcyjnej obecne były ligandy pomocnicze (octany, winiany, askorbiniany, cytryniany, glukoniany, Tabela 1 w **H8**), które także tworzą kompleksy ($^{99\text{m}}\text{Tc}$)-pośredni z kationem radionuklidu $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Tabela 2 w **H8**), a finalny radiopreparat $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MTX powstaje w wyniku wymiany tych ligandów pomocniczych na cząsteczkę MTX. Publikacja [**H8**] przedstawia analizę ‘rzekomo’ bezpośrednich syntez radiopreparatu $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MTX, na podstawie której wnioskuję, że autorzy nie dysponowali czystym radiopreparatem. W pracy [**H8**] wykazałem, że za pomocą analiz TLC nie można odróżnić tych dwóch indywidualów chemicznych ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pośredni i $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MTX), i że dopiero analiza HPLC pokazuje skład mieszaniny w czasie reakcji znakowania (Rys. 9).



Rysunek 9. Schemat analizy TLC i HPLC radiokoniugatu $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MTX i kompleksu pośredniego.

W większości syntez opisanych w doniesieniach literaturowych mieszanina reakcyjna zawierała kompleks technetu-99m z ligandem pomocniczym oraz, w mniejszym lub większym stopniu, docelowy produkt – radiopreparat $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MTX. Niestety, w żadnym z tych doniesień autorzy nie zweryfikowali do końca faktu otrzymania i czystości żądanego produktu, a więc podana procedura syntezy i wyznaczone parametry charakteryzujące radiopreparat (np. $\log D$ wyrażający lipofilowość) nie są wiarygodne.

Opublikowane w pracy [**H8**] wyniki moich badań są, moim zdaniem, niezwykle istotne ze względu na fakt, że preparaty radiofarmaceutyczne syntetyzowane w szpitalnych oddziałach

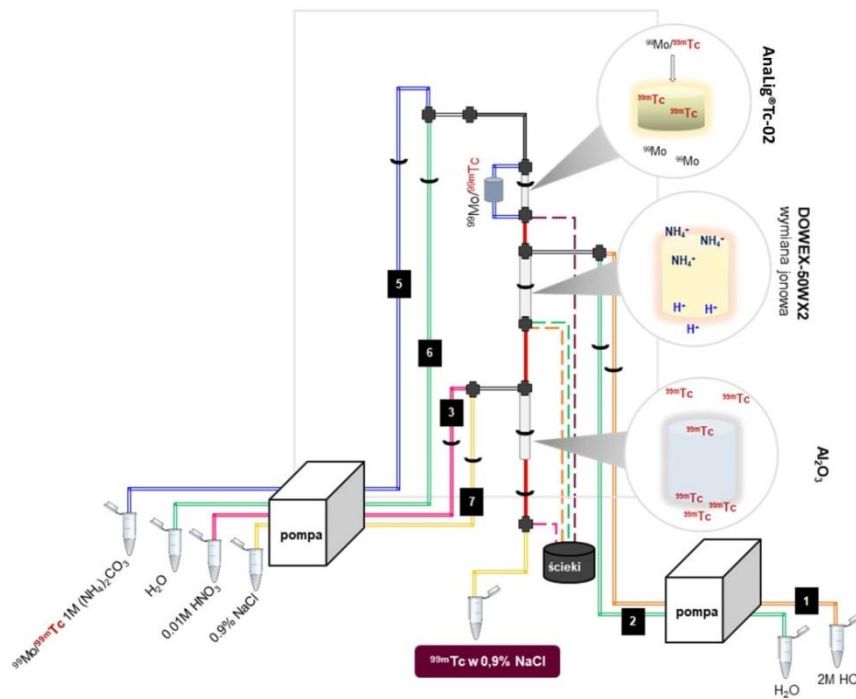
medycyny nuklearnej bezpośrednio z zestawów do stosowania u pacjentów są zwykle badane wyłącznie metodami TLC lub ITLC zgodnie z procedurą walidowaną przez producenta zestawu. Metody te są najczęściej stosowane i zalecane do oznaczania potencjalnych zanieczyszczeń radiochemicznych, a w przypadku ^{99m}Tc -radiopreparatów, w celu sprawdzenia ewentualnej obecności $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$ i koloidalnych $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -tlenków. Metody te mogą być bezpiecznie stosowane jedynie w dobrze poznanych układach, dlatego też tak ważne jest na etapie projektowania i badania nowego radiofarmaceutyku scharakteryzowanie go wszystkimi możliwymi metodami. W pracy [H8] omówione są najczęściej popełniane błędy, np. badanie stabilności radiopreparatu niewyzolowanego z mieszaniny reakcyjnej, a więc ciągle w obecności nadmiaru niektórych reagentów, co może stabilizować produkt reakcji), lub lipofilowości bez sprawdzenia, czy w roztworze radionuklid istnieje tylko w postaci badanego radiopreparatu. Podane są tam także wskazania, których nieprzestrzeganie może, moim zdaniem, prowadzić do błędnej interpretacji wyników eksperymentalnych, a ich publikowanie w praktyce narusza przyjęte standardy wiarygodności naukowej.

Praca dotycząca alternatywnej metody **pozyskiwania radionuklidu technet-99m (publikacja H9)**

Jak wspomniałem we wstępie, technet-99m standardowo otrzymywany jest z $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generatora, do produkcji którego radionuklid macierzysty molibden-99 (^{99}Mo) jest rutynowo wytwarzany w reaktorach jądrowych, w reakcji rozszczepienia ^{235}U , przy użyciu wysoko lub nisko wzbogaconych w ten izotop tarcz uranowych. W związku z poważnym niedoborem ^{99}Mo w latach 2009–2010 wynikającym z konieczności remontów starzejących się reaktorów, pojawiła się konieczność poszukiwania alternatywnych metod otrzymywania zarówno ^{99}Mo , jak i ^{99m}Tc . Dodatkowym problemem wpływającym na dostępność ^{99}Mo jest zagadnienie nieprolifracji materiałów rozszczepialnych narzucające przechodzenie z wysoko wzbogaconego ^{235}U (90%) na uran o wzbogaceniu nieprzekraczającym 20%.

Jedną z takich alternatywnych metod otrzymywania molibdenu-99 jest reakcja fotojądrowa $^{100}\text{Mo}(\gamma, n)^{99}\text{Mo}$ możliwa do przeprowadzenia w akceleratorach elektronowych (napromieniowanie ^{100}Mo wiązką gamma o wysokiej energii), pozwalająca otrzymać od 1 do

10 TBq ^{99}Mo dziennie. W pracy [H9] przedstawiłem opracowany półautomatyczny prototyp zestawu skonfigurowanego do otrzymywania radionuklidu $^{99\text{m}}\text{Tc}$ w 0,9% roztworze NaCl, bezpośrednio gotowego do zastosowania w reakcjach znakowania w radiofarmacji (Rys.10). Moduł składa się z trzech kolumn (sekwencja umieszczonych po sobie kolumn ze złożem AnaLig[®]Tc-02, DOWEX-50 WX2 i tlenkiem glinu Al_2O_3), w którym roztwór ^{99}Mo (w formie $[\text{}^{99}\text{Mo}]\text{MoO}_4^{2-}$) otrzymanego w reakcji $^{100}\text{Mo}(\gamma, n)^{99}\text{Mo}$ znajduje się w obiegu cyklicznym. Proces separacji $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$ jest szybki, pozwala na uzyskanie żądanej aktywności $^{99\text{m}}\text{Tc}$ w końcowej objętości 7 ml, może być zastosowany w generatorze do oczyszczania eluatu, i można być powtarzany co 24 h (czas potrzebny do osiągnięcia w eluacie maksymalnej aktywności $^{99\text{m}}\text{Tc}$).



Rysunek 10. Schemat zestawu separacji $^{99\text{m}}\text{Tc}$ z użyciem trzech kolumn.

Czystość wydzielonego $^{99\text{m}}\text{Tc}$ została sprawdzona metodami TLC i HPLC, a przydatność do syntezy potencjalnych radiofarmaceutyków – poprzez syntezę kompleksu z DTPA (kwas dwuetylenotrójaminopentaoctowy). W medycynie nuklearnej radiopreparat $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$ jest rutynowo stosowany do oceny czynności nerek w różnych stanach oraz do pomiaru szybkości filtracji kłębuszkowej. Przeprowadzona kontrola jakości otrzymanego przeze mnie kompleksu $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$ techniką TLC wykazała wysoką wydajność znakowania, wynoszącą ponad 95%.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że przedstawiona w pracy [H9] metoda produkcji ^{99m}Tc stanowi realną alternatywę dla dotychczasowego sposobu otrzymywania tego radionuklidu (poprzez otrzymywanie w reaktorze ^{99}Mo i zastosowanie go do produkcji $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generatorów). Dzięki staraniom firmy NorthStar Medical Radioisotopes, LLC, opracowany przez nią system RadioGenix (nieuranowy proces produkcji Mo-99 w celu przygotowania Tc-99m) został w 2018 r. zatwierdzony przez US FDA (United States Food and Drug Administration) do użytku jako pierwszy unikalny system do produkcji technetu-99m.

Do najważniejszych osiągnięć uzyskanych w ramach moich badań zaliczam:

Ogólnie, w przedstawionym powyżej cyklu publikacji zaprezentowałem uzyskane wyniki badań zaprojektowanych i otrzymanych przeze mnie radiokoniugatów, które mogą stać się potencjalnymi radiofarmaceutykami do diagnostyki choroby Alzheimera, stopy cukrzycowej czy też reumatoidalnego zapalenia stawów techniką PET i SPECT.

- ✓ *zaprojektowanie, synteza, charakteryzacja fizykochemiczna oraz in-vitro i in-vivo nowych radiokoniugatów zdolnych do przekraczania bariery krew-mózg, jak również pozwalających na obrazowanie stanu fizjologicznego płuc;*
- ✓ *zaprojektowanie, otrzymanie potencjalnych radiofarmaceutyków diagnostycznych do obrazowania stopy cukrzycowej;*
- ✓ *opracowanie obszernego przeglądu aktualnej wiedzy na temat stosowania MTX oraz możliwego mechanizmu działania tego leku. Jak również wskazanie najczęściej popełnianych błędów na etapie projektowania i badania nowego radiofarmaceutyku mogących prowadzić do błędnej interpretacji wyników eksperymentalnych;*
- ✓ *opracowanie wydajnej metody do cyklicznego wydzielania ^{99m}Tc z tarczy naświetlonej promieniowaniem gamma z wykorzystaniem zaprojektowanego półautomatycznego 3-kolumnowego modułu.*

Literatura

1. Lipińska-Ojrzanowska, A., Magnuska, J., Świerczyńska-Machura, D., Walusiak-Skorupa, J., Marcinkiewicz, A., Wiszniewska, M. Potrzeba działań prewencyjnych dotyczących chorób cywilizacyjnych w opiece profilaktycznej sprawowanej przez służbę medycyny pracy – opinia pracujących. *Medycyna Pracy*, 2019, 70, 425–433.
2. Gauthier S., Rosa-Neto P., Morais J.A., Webster C. 2021. World Alzheimer Report 2021: Journey through the diagnosis of dementia. London, England: Alzheimer's Disease International
3. <https://diabetesatlas.org/>, [dostęp: 17-08-2022].
4. Walicka, M., Raczyńska, M., Marcinkowska, K., Lisicka, I., Czaicki, A., Wierzba, W., Franek, E. Amputations of Lower Limb in Subjects with Diabetes Mellitus: Reasons and 30-Day Mortality. *J. Diabetes Res.* 2021, 8866126.
5. Szechliński, J., Wiland, P. *Wczesne reumatoidalne zapalenie stawów*. Górnicki Wydawnictwo Medyczne 2004.
6. Schwochau, K. Technetium, Chemistry and Radiopharmaceutical Applications, Wiley-VCH, Weinheim, 2000.
7. Zolle, I. Technetium-99m Pharmaceuticals. Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine, Springer, Berlin Heidelberg, 2007.
8. Nairne, J., Iveson, P.B., Meijer, A. Imaging in drug development. *Prog Med Chem.* 2015, 54, 231-280.
9. Lagunas-Solar, M.C., Kiefer, P.M., Carvacho, O.F., Lagunas, C.A., Cha, Y.P. Cyclotron Production of NCA ^{99m}Tc and ^{99}Mo An Alternative Non-reactor Supply Source of Instant ^{99m}Tc and ^{99}Mo ^{99m}Tc Generators. *Appl. Radiat. Isotopes*, 1991, 42, 643-675.
10. Committee on Medical Isotope Production Without Highly Enriched Uranium, National Research Council, Medical Isotope Production Without Highly Enriched Uranium, National Academies Press, 2009, 16-22.
11. Tkac, P., Chemerisov, S., Gromov, R., Song, J., Nolen, J., Makarashvili, V., Vandegrift, G. Side-reaction products identified for photo-nuclear production of ^{99}Mo . *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2020, 326, 543-553.

12. Horkowitz, A.P., Schwartz, A.V., Alvarez, C.A., Herrera, E.B., Thoman, M.L., Chatfield, D.A., Osborn, K.G., Feuer, R., George, U.Z., Phillips, J.A. Acetylcholine Regulates Pulmonary Pathology During Viral Infection and Recovery. *Immunotargets Ther.* 2020, 9, 333-350.
13. Manabe, T., Fujikura, Y., Mizukami, K., Akatsu, H., Kudo, K. Pneumonia-associated death in patients with dementia: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2019, 14, e0213825.
14. Kaul, A., Hazari, P.P., Rawat, H., Singh, B., Kalawat, T.C., Sharma, S., Babbar, A.K., Mishra, A.K. Preliminary evaluation of technetium-99m-labeled ceftriaxone: infection imaging agent for the clinical diagnosis of orthopedic infection. *Int. J. Infect. Dis.* 2013, 17, e263-e270.
15. Motaleb, M.A., El-Kolaly, M.T., Ibrahim, A.B., El-Bary, A.A. Study on the preparation and biological evaluation of ^{99m}Tc -gatifloxacin and ^{99m}Tc -cefepime complexes. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2011, 289, 57-65.
16. Halik, P.K., Koźmiński, P., Gniazdowska, E. Perspectives of Methotrexate-Based Radioagents for Application in Nuclear Medicine. *Mol. Pharmaceutics* 2021, 18, 33-43.
17. Rasheed, R., Gillani, J., Jielani, A., Irum, F., Lodhi, N., Rasheed, S., Rasheed, S. Tc99m Methotrexate (MTX) A Novel Complex for Imaging of Rheumatoid Arthritis (RA): First Clinical Trials. *Gen. Med. (Los Angeles)* 2016, S213.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

- Instytut Radiofarmacji Drezno-Rosendorf, Niemcy- dr Hans-Jürgen Pietzsch, dr Jens-Uwe Künstler
- Zakład Chemii Farmaceutycznej, Analizy Leków i Radiofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Łodzi - prof. dr hab. Elżbieta Mikiciuk-Olasik
- Zakład Chemii Farmaceutycznej, Analizy Leków i Radiofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Łodzi - prof. dr hab. n. farm. Paweł Szymański
- Uniwersyteckie Centrum Kliniczne Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego - prof. dr hab. n. med. Leszek Królicki
- Katedra Nauk Przedklinicznych, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego - SGGW, Warszawa - dr hab. Magdalena Rzewuska
- Narodowy Instytut Geriatrii, Reumatologii i Rehabilitacji, Warszawa, prof. dr hab. n. med. Brygida Kwiatkowska

- Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, Warszawa - dr Dorota Niedziałek, dr Grzegorz Wieczorek
- Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski - dr hab. Zbigniew Rogulski
- NCSR "Demokritos", Laboratorium Radiochemiczne INRASTES, Ateny, Grecja - dr Penelope Bouziotis
- Szpital Uniwersytecki w Essen, Klinika Medycyny Nuklearnej, Centrum Badań Medycznych (MFZ), Essen, Niemcy - dr Janette Iking
- Instytut Fizyki Doświadczalnej, Słowacka Akademia Nauk (SAS), Koszyce, Słowacja - doc. dr Zuzana Gažová
- Centrum Badań Biologicznych Węgierskiej Akademii Nauk, Szeged, Węgry - dr István Krizbai
- Narodowe Centrum Biotechnologii, Hiszpańska Krajowa Rada ds. Badań (CSIC) - prof. José M. Valpuesta

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

przed uzyskaniem stopnia doktora:

- aktywnie uczestniczyłem w upowszechnianiu nauki w postaci udziału w Pikniku naukowym, Festiwalu Nauki czy też Nocy Muzeów
- prowadziłem zajęcia dydaktyczne dla studentów Wydziału Fizyki Politechniki Warszawskiej

po uzyskaniu stopnia doktora:

- Promotor 8 prac magisterskich:
 - „Znakowanie cząstek biologicznie aktywnych dla diagnostyki SPECT”, Agata Piądlowska, Uniwersytet Warszawski, Wydział Fizyki, czerwiec 2016
 - „Synteza i badanie pochodnych antybiotyków do obrazowania infekcji bakteryjnych dla diagnostyki PET”, Weronika Maliszewska, Uniwersytet Warszawski, Wydział Fizyki, lipiec 2016
 - „Znakowanie biokoniugatu Sc-DOTA- oktreatyd radionuklidem 18-F poprzez mostek metaliczny”, Maciej Wójcik, Uniwersytet Warszawski, Wydział Fizyki, wrzesień 2016

- „Synteza i badanie właściwości fizykochemicznych ^{68}Ga -NODA-GA-Tocilizumab jako potencjalnego radiofarmaceutyku do diagnostyki reumatoidalnego zapalenia stawów”, Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii, Emilia Balcer, lipiec 2017
 - „Cykliczne wydzielanie $^{99\text{m}}\text{Tc}$ z naświetlonych promieniowaniem γ tarcz ^{100}Mo ”, Kamil Wawrowicz, Politechnika Warszawska, Wydział Chemiczny, styczeń 2019
 - „Synteza i badanie właściwości fizykochemicznych radiokoniugatu Ga-68 – cefepim jako potencjalnego radiofarmaceutyku do diagnostyki PET infekcji bakteryjnych”, Kinga Żelechowska, Uniwersytet Warszawski, Wydział Fizyki, lipiec 2019 - praca zdobyła wyróżnienie w kategorii prac magisterskich w ramach Konkursu Polskiego Towarzystwa Nukleonowego 2020-2021 na najlepsze prace z dziedziny atomistyki
 - „Badanie wpływu ligandu na własności fizykochemiczne radiobiokoniugatu ^{68}Ga -Tac jako potencjalnego radiofarmaceutyku do diagnostyki choroby Alzheimera”, Monika Rykała, Uniwersytet Warszawski, Wydział Fizyki, lipiec 2020
 - „Synteza i badanie lapatinibu znakowanego galem-68 jako potencjalnego radiokoniugatu do obrazowania raka piersi metodą PET”, Julia Babraj, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski, planowana obrona w lipcu 2023.
-
- Od roku 2013 prowadzę zajęcia dydaktyczne dla studentów Wydziału Fizyki Politechniki Warszawskiej (Laboratorium Fizyki Medycznej/Laboratorium Fizyki i Techniki Jądrowej)
 - w roku akademickim 2014/2015 oraz 2015/2016 prowadziłem zajęcia laboratoryjne dla studentów studiów magisterskich na kierunku Energetyka i Chemia Jądrowa (Uniwersytet Warszawski)
 - w roku akademickim 2018/2019 prowadziłem zajęcia laboratoryjne z przedmiotu chemia jądrowa dla studentów studiów cywilnych i wojskowych (Wojskowa Akademia Techniczna)
 - w roku akademickim 2018/2019 oraz 2019/2020 prowadziłem wykład monograficzny „Radiochemia i chemia radiofarmaceutyczna w medycynie” (Uniwersytet Warszawski)
 - w latach 2018-2020 prowadziłem zajęcia laboratoryjne dla doktorantów Interdyscyplinarnych studiów doktoranckich „Radiofarmaceutyki dla ukierunkowanej molekularnie diagnostyki i terapii medycznej, RadFarm” w ramach projektu NCBiR nr POWR.03.02.00-00-I009/17
 - w roku 2022 byłem opiekunem naukowy doktorantki z Narodowego Centrum Badań Naukowych N.C.S.R. “Demokritos” (Ateny, Grecja), realizującej 3 tygodniowy pobyt w ramach Europejskiego Programu Współpracy w Dziedzinie Badań Naukowo-Technicznych (COST)

7. Opis pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych:

7.1. Otrzymane nagrody i wyróżnienia

- "SRS Travel Bursary Award" przyznana przez Komitet Organizacyjny 19th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences (ISRS 2011)
- "SRS Travel Bursary Award" przyznana przez Komitet Organizacyjny 7th International Symposium on Technetium and other Radiometals in Chemistry and Medicine (TERACHEM 2010)
- Stypendium finansowane z projektu „Potencjał naukowy wsparciem dla gospodarki Mazowska – stypendia dla doktorantów” przez Urząd Marszałkowski Województwa Mazowieckiego w roku 2011
- Stypendium finansowane z projektu „Mazowieckie stypendium doktoranckie” przez Urząd Marszałkowski Województwa Mazowieckiego w roku 2009
- otrzymanie nagrody Dyrektora IChTJ za osiągnięte postępy w realizacji pracy doktorskiej i aktywność zawodową (2009 i 2011)
- grant wyjazdowy na International Symposium on Trends in Radiopharmaceuticals (ISTR-2023) przyznawany przez Międzynarodową Agencję Energii Atomowej
- grant wyjazdowy na Molybdenum-99 International Symposium 2022 przyznawany przez Międzynarodową Agencję Energii Atomowej
- nagroda zespołowa na International Trade Fair "Ideas - Inventions - New Products - iENA 2021, „*The modified drug substance molecule, method of its production, diagnostic or therapeutic receptor radiopharmaceutical based on this molecule, method of its production and its application*”; P. K. Halik, E. Gniazdowska, **P. Koźmiński** – medal srebrny
- nagroda zespołowa na EUROINVENT 2021 w Rumunii, „*Zmodyfikowana cząsteczka substancji leczniczej, sposób jej wytwarzania, diagnostyczny lub terapeutyczny radiofarmaceutyk receptorowy oparty na tej cząsteczce, sposób jego wytwarzania oraz jego zastosowanie*”; P. K. Halik, E. Gniazdowska, **P. Koźmiński** – medal złoty
- nagroda zespołowa na Międzynarodowej Warszawskiej Wystawie Wynalazków IWIS 2020, „*Zmodyfikowana cząsteczka substancji leczniczej, sposób jej wytwarzania, diagnostyczny lub terapeutyczny radiofarmaceutyk receptorowy oparty na tej cząsteczce, sposób jego wytwarzania oraz jego zastosowanie*” (*The modified drug substance molecule, method of its production, diagnostic or therapeutic receptor radiopharmaceutical based on this molecule, method of its production and its application*); P.K. Halik, E. Gniazdowska, **P. Koźmiński** – medal złoty
- nagroda zespołowa na Międzynarodowej Warszawskiej Wystawie Wynalazków IWIS 2019, „*Radiofarmaceutyk diagnostyczny do obrazowania poziomu cholinesteraz, sposób jego wytwarzania oraz jego zastosowanie* (*Diagnostic radiopharmaceutical for imaging of cholinesterase levels, method for producing it and applications*); E. Gniazdowska, **P. Koźmiński**, E. Mikiciuk-Olasik, P. Szymański – medal platynowy
- nagroda zespołowa na Międzynarodowej Warszawskiej Wystawie Wynalazków IWIS 2019, „*Diagnostyczny lub terapeutyczny radiofarmaceutyk receptorowy posiadający powinowactwo do receptora Her-2, sposób jego wytwarzania oraz jego*

zastosowanie” (Diagnostic or therapeutic targeted Her-2 high-affinity radiopharmaceutical, the method for its production and its application); E. Gniazdowska, P. Koźmiński – medal złoty

- nagroda zespołowa na XXII Moskiewskim Międzynarodowym Salonie Wynalazków i Innowacyjnych Technologii „Archimedes 2019, „*Radiofarmaceutyk diagnostyczny do obrazowania infekcji, sposób jego wytwarzania oraz jego zastosowanie*”; **P. Koźmiński**, E. Gniazdowska, M. Chojnowski, A. Kopatys, L. Królicki medal złoty
- nagroda zespołowa na SEUL INTERNATIONAL INVENTION FAIR 2018, „*Diagnostic radiopharmaceutical for imaging of infections, method for producing it and application*”; **P. Koźmiński**, E. Gniazdowska, M. Chojnowski, A. Kopatys, L. Królicki – medal złoty
- nagroda zespołowa na SEUL INTERNATIONAL INVENTION FAIR 2018, „*Diagnostic radiopharmaceutical for imaging of infections, method for producing it and application*”; **P. Koźmiński**, E. Gniazdowska, M. Chojnowski, A. Kopatys, L. Królicki – SPECIAL AWARD Indonesian Invention and Innovation Promotion Association No. INNOPA/KOR/SA/627/XII/2018
- nagroda zespołowa na Międzynarodowej Warszawskiej Wystawie Wynalazków IWIS 2018, „*Radiofarmaceutyk diagnostyczny do obrazowania infekcji, sposób jego wytwarzania oraz jego zastosowanie*”; **P. Koźmiński**, E. Gniazdowska, M. Chojnowski, A. Kopatys, L. Królicki – medal platynowy
- nagrody zespołowe Dyrektora ICHTJ za cykl publikacji (2012, 2015, 2017, 2018, 2019, 2021, 2022)

.....
(podpis wnioskodawcy)