



UNIwersYTET
IM. ADAMA MICKIEWICZA
W POZNANIU

prof. dr hab. Adam Huczyński
Zakład Chemii Medycznej, Wydział Chemii
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań

Poznań, 3 stycznia 2024 roku

Recenzja osiągnięcia naukowego zatytułowanego:
„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”
w postępowaniu habilitacyjnym dr Przemysława Koźmińskiego
wraz z oceną pozostałych osiągnięć naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych

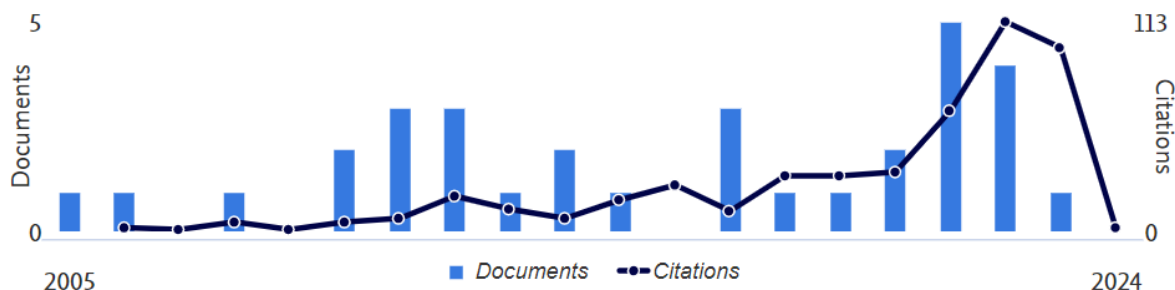
Sylwetka naukowa Kandydata

Dr Przemysław Koźmiński ukończył w 2004 roku studia chemiczne na Uniwersytecie Warszawskim, gdzie pod opieką prof. dr hab. Marka Trojanowicza napisał pracę magisterską pod tytułem „Zatężanie śladowych ilości analitów w bezprzewodowej analizie przepływowo – wstrzykowej (BIA)”. Następnie, przez ponad półtora roku, podczas swojego pobytu w *Uniwersytecie w Coimbrze*, zajmował się technologiami kontroli produkcji i jakości wina. Po powrocie do Polski znalazł zatrudnienie jako chemik, później asystent w *Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie*, gdzie po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych w zakresie chemii zatrudniono go na stanowisku adiunkta. Pracę doktorską Kandydat realizował i obronił w *Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie* na podstawie dysertacji zatytułowanej „*Synteza i badanie właściwości fizykochemicznych koniugatów heteroleptycznych kompleksów technetu-99m z peptydem n-oktaacyl-[Ser3]-greliną(1-6) jako potencjalnych radiofarmaceutyków diagnostycznych*”. Promotorem rozprawy był prof. dr hab. Jerzy Ostyk-Narbutt.

Kandydat przed uzyskaniem stopnia doktora był współautorem 11 publikacji naukowych o zasięgu międzynarodowym, w tym 3 publikacji wydanych przed zatrudnieniem w *ICHTJ*. Po uzyskaniu doktoratu (27.09.2012) był współautorem 21 publikacji naukowych o zasięgu międzynarodowym z czego 9 stanowi osiągnięcie naukowe, którego ocenę zamieszczę poniżej.

Dr Przemysław Koźmiński chętnie prezentował wyniki swoich badań na polskich i międzynarodowych konferencjach i kongresach naukowych, zarówno w postaci prezentacji,

jak i w formie wykładów. Na szczególne podkreślenie zasługuje również to, iż wyniki swoich odkryć Kandydat wraz ze współpracownikami starali się ochronić przy pomocy 8 polskich patentów. Zdaję sobie sprawę, że polska ochrona patentowa jest niewielkim zabezpieczeniem, ale doskonale również wiem, że patenty międzynarodowe są poza zasięgiem finansowym polskich naukowców.



Liczba publikacji i ich cytowania SCOPUS (02-01-2024)

Z obowiązku recenzenta wspomnę, że na dzień składania dokumentacji habilitacyjnej publikacje Kandydata miały sumaryczny IF = 98,5, uzyskały 392 cytowania, a On sam osiągnął *Indeks Hirscha* = 11. W mojej ocenie, biorąc pod uwagę specjalistyczny i nieco niszowy charakter badań naukowych, jest to osiągnięciem właściwym na tym etapie kariery naukowej.

Ocena osiągnięcia habilitacyjnego

Jako osiągnięcie będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, Kandydat przedstawił cykl 9 powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w latach 2017-2023 w czasopiśmie naukowych o zasięgu międzynarodowym, w tym 8 prac oryginalnych oraz 1 pracę przeglądową, o łącznym IF równym 32,3. Swojemu osiągnięciu Kandydat nadał tytuł: „*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*”, który w mojej ocenie odzwierciedla wspólne cechy wspomnianych artykułów. W artykułach stanowiących osiągnięcie (oznaczonych H1-H9) Kandydat do stopnia jest siedmiokrotnie pierwszym autorem i każdorazowo autorem korespondującym, co potwierdza jego kluczową rolę w badaniach opisywanych w tych pracach. Rolę tę potwierdzają również jednoznacznie oświadczenia współautorów, w których wyczerpująco określili oni swoją rolę w badaniach i przygotowaniu manuskryptów poszczególnych publikacji.

Artykuły stanowiące oceniane osiągnięcie naukowe opisują oryginalne rozwiązania ważnych problemów naukowych, wnosząc znaczny i cenny naukowy wkład w rozwój nauk

chemicznych, a w szczególności do współczesnej radiochemii i radiofarmacji. Ocenę tę postaram się uzasadnić poniżej.

Ocena osiągnięcia habilitacyjnego

Współczesna medycyna nuklearna i diagnostyka medyczna w coraz większym stopniu jest oparta i częściowo uzależniona od wielu radiofarmaceutyków, definiowanych jako związki zawierające krótkotrwałe izotopy wprowadzane do organizmu w celach diagnostycznych lub terapeutycznych. Od współczesnych radiofarmaceutyków oczekuje się wcelowanej dystrybucji do określonych tkanek lub/i narządów po to, aby analiza przestrzennego rozkładu intensywności promieniowania jednoznacznie pozwoliła określić lokalizację tych radiofarmaceutyków w chorym narządzie lub tkance. Dlatego niezwykle istotne dla współczesnej nauki jest rozwijanie wiedzy na temat projektowania i syntezy nowych potencjalnych radiofarmaceutyków oraz badań ich fizykochemicznych i biologicznych właściwości. W nurt tych badań wpisują się publikacje stanowiące oceniane osiągnięcie naukowe Kandydata. W pracach tych rozwijał On wiedzę na temat potencjalnych zastosowań syntezowanych przez niego radiofarmaceutyków do diagnostyki chorób cywilizacyjnych, takich jak choroba Alzheimera (AD), zespół stopy cukrzycowej (ZSC) czy reumatoidalne zapalenie stawów (RZS). Związki te konstruowane były jako koniugaty zbudowane z cząsteczek znanych leków, tj. pochodnych takryny (diagnostyka AD), antybiotyków, takich jak cyprofloksacyna i cefepim (diagnostyka ZSC), a także metotreksacie (diagnostyka RZS), połączonych odpowiednim linkerem (łącznikiem) ze sprawdzonym chelatorem - (tris(2-merkptoetylo)aminą, Hynic, DOTA, kwasem 1,4,7 triazacyclononano-1-glutarowo-4,7-octowym, DTPA - dobranym do odpowiedniego radioizotopu. Badania miały charakter wybitnie interdyscyplinarny, gdyż poza przeprowadzaną przez Kandydata syntezą i charakterystyką fizykochemiczną wspomnianych radiokoniugatów obejmowały również badania inhibicji enzymów (AChE), dokowanie molekularne, badania *in vitro* na bakteriach, badania stabilności oraz badania *in vivo* na myszach i z udziałem ludzi (badania biodystrybucji w narządach). Badania prowadzone z takim rozmachem to prawdziwa rzadkość, zasługująca na wyrazy uznania. Nie wszystko oczywiście można było przewidzieć na etapie projektowania kompleksujących koniugatów. Moim zdaniem związki z publikacji H1-H3 zbyt mocno kumulują się w wątrobie, relatywnie dobrze przenikają do mózgu i wykazują umiarkowaną selektywność AChE/BChE, ale te ograniczenia nie pozwalają nie zauważyć, że są stabilne i wykazują preferowany mechanizm działania, potwierdzony badaniami inhibicji i dokowaniem molekularnym. Badania w mojej ocenie zakończono spektakularnym sukcesem, gdyż otrzymano nowe radiofarmaceutyki oparte na pochodnej takryny zawierające kationy

radionuklidów [^{68}Ga] lub [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]. Radiokompleksy, jak wynika z wspomnianych badań, mogą posłużyć do diagnostyki choroby Alzheimera (publikacje H1, H2, H3). Uważam, że cennym uzupełnieniem tych badań byłoby wyznaczenie toksyczności oraz czasu eliminacji otrzymanych związków.

W publikacji H4 opisano wykorzystanie cyprofloksacyny (CIP) do syntezy nowych radiofarmaceutyków dedykowanych diagnostyce zespołu stopy cukrzycowej. Koncepcja takiego nacelowania koniugatów oparta jest na śmiałym założeniu, iż tak skonstruowany radiofarmaceutyk powinien docierać do określonego obszaru zakażonej stopy i tym samym móc dokładnie zlokalizować zainfekowane regiony, co umożliwi wdrożenie odpowiedniego leczenia i diagnostyki przed ostateczną amputacją.

Czytając wstęp do tej pracy nie byłem przekonany do słuszności tej hipotezy badawczej. Jednakże autorzy publikacji, w której projektowaniem i syntezą znakowanych radioizotopami pochodnych CIP zajmował się dr Przemysław Koźmiński, w jednoznaczny sposób na badaniach obrazowych wykazali, że w przypadku zdrowej osoby 4 godziny po podaniu zsyntezowanego radioznacznika jego wychwyty fizjologiczny był widoczny w wątrobie, śledzionie, nerkach, i pęcherzu, a także był lekko widoczny w gruczołach ślinowych i jelitach. Natomiast w przypadku osoby chorej na cukrzycę i z bardzo zaawansowanym stadium zespołu stopy cukrzycowej (ZSC) scyntygrafia całego ciała również wykazała dużą kumulację radioznacznika w pęcherzu, wątrobie i nerkach, ale co najważniejsze, kumulację w zakażonej części prawej stopy.

W tym miejscu chciałbym napisać, że poczułem się niczym ewangelijny „niewierny Tomasz” - zobaczyłem i uwierzyłem. Fenomenalny wynik!

Przed pogłębionymi badaniami klinicznymi należałoby wykonać jeszcze badania eliminacji i zmian dystrybucji w czasie, aby uzyskać odpowiedź, po jakim czasie uzyskuje się najlepsze obrazowanie. Badania takie wymagają dodatkowej zgody komisji bioetycznej i są niewątpliwie kosztowne, lecz zarazem niezbędne, kiedy myśli się o aplikacjach i komercjalizacji.

Z chemicznego punktu widzenia, bo ten najbardziej powinien być oceniany, otrzymane koniugaty były kompleksami [^{68}Ga] otrzymanymi z użyciem chelatora DOTA lub kompleksem [$^{99\text{m}}\text{Tc}$], który został otrzymany w bezpośredniej reakcji znakowania antybiotyku technetem-99m. Ten drugi kompleks ma nie do końca określoną strukturę i cechuje się mniejszą stabilnością, ale jak wynika z omawianych wyników, dał bardzo dobre wyniki obrazowania SPECT. Trudno mi się zgodzić z konkluzją, iż znakowane gadolinem pochodne CIP mają potencjalne zastosowanie do obrazowania zespołu stopy cukrzycowej metodą PET,

gdyż w publikacji H4 tego nie weryfikowano. Ta teza nadal jest niedowiedzioną hipotezą autorów i jest warta pogłębionych badań.

W publikacji H5 sprawnie przeprowadzono syntezę, analizę właściwości fizykochemicznych i biologicznych antybiotyku – cefepimu (CFM) znakowanego kationami [^{99m}Tc]. Przedstawiono dwie różne drogi syntezy koniugatu chelatora DTPA (kwas dwuetylenotrójaminopentaoctowy) z cefepimem (CFM) oraz warunki znakowania radioaktywnego. Uzyskane radiokoniugaty były stabilne i wykazywały powinowactwo do ściany komórkowej *Staphylococcus aureus*, co w ocenie autorów pretenduje otrzymane radiofarmaceutyki do potencjalnego wykrywania miejscowych infekcji wywoływanych przez gronkowce. To poprawnie napisana publikacja, choć charakterystyka uzyskanych związków powinna być uzupełniona o ^{13}C NMR i HRMS, a badania mikrobiologiczne można by rozszerzyć na antybiotykooporne szczepy *MRSA* i *MRSE*.

W pracy H6 opisano niełatwą drogę uzyskania nowego radiokoniugatu [^{68}Ga] otrzymanego poprzez połączenie przez odpowiednio dobrany linker chelatora - kwasu 1,4,7-triazacyclononano-1-glutarowo-4,7-octowego z antybiotykiem – cefepimem (CFM). Tak skonstruowany radiofarmaceutyk mógłby znaleźć potencjalne zastosowanie w diagnostyce ZSC przy pomocy metody PET. Badania te to typowe „*preliminary studies*” dowodzące jednak po raz pierwszy możliwości syntezy stabilnego, nowego gadolinowego radiokoniugatu. Z obowiązku recenzenta, chciałbym zauważyć, że nakładanie się sygnałów w widmie ^1H NMR nie stanowi przeszkody do jakiegokolwiek interpretacji, ale tylko wtedy, gdy opis spektroskopowy uzupełnimy w niezbędne badania ^{13}C NMR, HETCOR, COSY, HMBC, a jeżeli rozstrzygająca ma być spektrometria mas, to zdecydowanie lepsza jest ta o wysokiej rozdzielczości.

W kolekcji prac stanowiących dokonanie naukowe znajduje się jedna praca przeglądowa H7. To doskonale napisana praca wyczerpująca tematykę wielorakich zastosowań metotreksatu w terapiach chorób neurologicznych, autoimmunologicznych i nowotworowych. Praca ta stanowi doskonały wstęp do kolejnej publikacji badawczej, w której Kandydat opisał praktyczne wykorzystanie tego leku do konstrukcji nowych znakowanych radioizotopami potencjalnych sond do diagnostyki. W pracy H8 przyjrzał się On krytycznie doniesieniom na temat przeprowadzonych przez innych naukowców syntez, odtwarzając warunki syntezy i analizy obecne w literaturze chemicznej. Opisane w literaturze syntezy owszem prowadziły do oczekiwanego radiopreparatu [^{99m}Tc]-MTX, lecz zawsze zanieczyszczonego mieszaniną kompleksu technetu-99m z ligandami pomocniczymi. Z klinicznego punktu widzenia jest to nieakceptowalne, tym bardziej dziwią opisane w literaturze testy *in vivo*. W omawianej publikacji dr Przemysław Koźmiński w sposób

metodologicznie jednoznaczny pokazał, jak powinna wyglądać dobra praktyka laboratoryjna (GLP) wytwarzania radiofarmaceutyków i mam wrażenie, że publikacja ta może się stać doskonałym przewodnikiem i wzorcem badań dla przyszłych pokoleń naukowców.

W publikacji H9 Kandydat wraz ze współpracownikami przedstawił działanie półautomatycznego 3-kolumnowego modułu do separacji i oczyszczania, który wykorzystał do cyklicznego wydzielania ^{99m}Tc i finalnie zastosował do syntezy znanych sond opartych na kompleksie z $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$, gdzie DTPA to kwas dwuetylenotrójaminopentaoctowy. Praca ta była efektem realizacji projektu: *Cykliczne wydzielanie ^{99m}Tc z tarczy ^{100}Mo naświetlonej promieniowaniem gamma* (projekt współfinansowany nr 3882/IAEA/2018/0 do projektu MAEA CRP, RC 22521 *Cyclic ^{99m}Tc isolation from the gamma irradiated ^{100}Mo target*, 2017-2020), którego kierownikiem był dr Przemysław Koźmiński.

Omówione przeze mnie publikacje stanowią osiągnięcie habilitacyjne stanowią cenny wkład do współczesnej chemii medycznej, opisują one nowe syntezy, oryginalne radiofarmaceutyki, powtarzalną metodologię charakterystyki tego rodzaju związków oraz potencjalne zastosowania aplikacyjne układów do wytwarzania ^{99m}Tc .

Artykuły tworzą logiczną całość. Opublikowano je w *Bioorg. Med. Chem.* (2 publikacje), *Int. J. Mol. Sci.* (2 publikacje), *Tomography* (1 publikacja), *J. Radioanal. Nucl. Chem.* (2 publikacje), *Appl. Sci.* (1 publikacja), *Molecules* (1 publikacja), a więc dobrych i cenionych czasopismach specjalistycznych lub czasopismach ogólnych o relatywnie dobrym współczynniku wpływu. Nie mam zatem żadnych wątpliwości, że cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opisuje oryginalne i twórcze badania naukowe Kandydata, które znacząco przyczyniają się do rozwoju współczesnej chemii.

Ocena pozostałych osiągnięć naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych

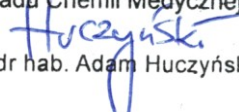
Z formalnego punktu widzenia recenzent w postępowaniu habilitacyjnym musi ocenić jeszcze jeden aspekt opisujący sylwetkę Kandydata, gdzie warunkiem nadania stopnia doktora habilitowanego jest *wykazywanie się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej*. W moim rozumieniu tego wymagania (zgodnym w wytycznymi Rady Doskonałości Naukowej zawartymi w poradniku dotyczącym postępowania przy nadawaniu stopnia doktora habilitowanego;aktualizacja z dnia 9 sierpnia 2023 roku) za istotną aktywność naukową uznaję wyniki badań prowadzonych **podczas pracy w Uniwersytecie w Coimbrze** oraz **nauki w Uniwersytecie Warszawskim**. Efektem tej działalności naukowej były trzy publikacje (*Anal. Lett.*, 41 (2008) 662-675; *Anal. Lett.*, 39 (2006) 2687-2697; *Talanta* 68 (2005) 394–40), w których Kandydat ma afiliację: (i) *Faculdade de Ciências e*

Tecnologia, Departamento de Química, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal; (ii) Department of Chemistry, Warsaw University, Warsaw, Poland.

Do mojej pozytywnej oceny sylwetki Kandydata przyczynia się również jego umiejętność współpracy z innymi ośrodkami naukowymi, choć uważam, iż współpraca międzynarodowa jest wciąż mało intensywna. Kandydat kierował lub był wykonawcą w wielu interesujących projektach naukowych finansowych przez różne polskie i międzynarodowe agencje grantowe: *MNiSW (MEiN), NCBiR, NCN, MAEA*. Był promotorem ośmiu prac magisterskich, prowadził zajęcia dla studentów i doktorantów oraz angażował się w popularyzację nauki. Jego praca naukowa i wynalazki były doceniane przez różne gremia konkursowe. Nie mam zatem wątpliwości, że mam do czynienia z dojrzałym pracownikiem naukowym, gotowym do stopnia doktora habilitowanego.

Wniosek końcowy

Po przeanalizowaniu dostarczonej dokumentacji oraz cyklu publikacji naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe dr Przemysława Koźmińskiego, ubiegającego się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne stwierdzam, iż odpowiadają one wymaganiom określonym w *art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jedn. Dz. U. 2023 r., poz. 742 z późn. zm.)*, jak również spełniają wymagania zwyczajowe stawiane w postępowaniu habilitacyjnym. Tym samym rekomenduję *Radzie Naukowej Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie* nadanie stopnia doktora habilitowanego dr Przemysławowi Koźmińskiemu w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

Kierownik
Zakładu Chemii Medycznej

prof. dr hab. Adam Huczyński