



**Katedra i Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej Środków  
Lecznicych z Pracownia Modelowania Komputerowego**

*Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
ul. Chodźki 4A, 20-093 Lublin,  
Tel./fax. 0-81-535 73 55*



**Chair and Department of Synthesis and Chemical Technology  
of Pharmaceutical Substances with Computer Modeling Lab**

*Faculty of Pharmacy with Division of Medical Analytics  
Medical University of Lublin  
4A Chodźki str., 20-093 Lublin, Poland  
Phone/fax \*048-81-535 73 55*

---

Lublin, 04-10-2013

**Mgr Magdaleny MARKOWICZ-PIASECKIEJ**

**z Katedry Chemii Farmaceutycznej i Analizy Leków,  
Wydziału Farmaceutycznego,  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi**

**pt. „Use of dendrimers in the preparation technology of iminodiacetic acid derivatives as diagnostic agents for nuclear magnetic resonance tomography”.**

W poszukiwaniu lepszych i skuteczniejszych metod diagnostycznych oraz leczniczych współcześni badacze sięgają coraz głębiej zarówno w chory organizm czy narząd aż do poziomu komórek, wykorzystując popularniejsze i dostępne z roku na rok nanotechnologie. Szybki rozwój nanotechnologii i ich wykorzystanie w różnych dziedzinach wiedzy obserwuje się już od połowy lat 80'. Wśród tych dziedzin coraz większego znaczenia nabierają Medycyna i Farmacja, oraz wszystko co znajduje się na pograniczy tych dwóch dziedzin. Szczególnie szerokie pole do popisu dla nanotechnologii stwarza diagnostyka oraz selektywne dostarczanie leków do chorych narządów. Jednocześnie wraz ze zmniejszeniem rozmiarów narzędzi konieczna są badania ich wpływu na homeostazę organizmu a nawet pojedynczej komórki.

Wraz z rozwojem nowoczesnych technik obrazowania, szczególnie opartych na rezonansie magnetycznym konieczność stosowania substancji kontrastujących, polepszających rozdzielczość poprzez skracanie czasu relaksacji, zaznacza się coraz powszechniej. Pomimo stosowania w tym celu wielu pochodnych gadolinu, poszukiwanie nowych jest konieczne. Wynika to z ograniczeń dostępnych

pochodnych, takich jak słaba rozpuszczalność i poprzez to biodostępność czy toksyczność substancji chelatujących oraz samych nanocząsteczek.

Zbadanie nowych kompleksów gadolinu (III) z pochodnymi kwasu iminodioctowego oraz ich adduktów z nanostrukturami typu dendrymerów PAMAM było celem ocenianej pracy doktorskiej. Praca została napisana w języku angielskim i oparta na trzech publikacjach oryginalnych (eksperymentalnych) oraz dwóch poglądowych. Oprócz syntezy pochodnych kwasu iminodioctowego oraz ich kompleksów z gadolinem (III) autorka przeprowadziła badania wpływu dendrymerów PAMAM różnych generacji (G1-G4) na rozpuszczalność kompleksów w wodzie, przydatność dendrymerów do przenoszenia kompleksów poprzez badanie rodzajów oddziaływań między pochodnymi kwasu iminodioctowego i dendrymerami z wykorzystaniem 1D i 2D technik NMR oraz zbadła potencjalne efekty toksyczne poprzez wpływ na tworzenie skrzepów krwi, proces fibrylizy oraz funkcjonowanie endotelium.

Praca ma klasyczny dla tego typu badań eksperymentalnych układ obejmujący Część Teoretyczną/Literaturową omawiającą rodzaje, właściwości i funkcje dendrymerów oraz ich zastosowania, np. jako przenośniki leków, czynników kontrastujących czy w innych zastosowaniach. Część Materiały i Metody omawia metodyką przeprowadzonych eksperymentów uzupełnioną o poszerzone informacje dotyczące niektórych technik. Wyniki eksperymentów omówione są w części Wyniki a podsumowanie znajduje się w części Dyskusja. Oprócz tego w pracy znajdują się także Wnioski, Abstrakt, Listy Tabel i Rysunków, Literatura, Lista Publikacji obejmujących dysertację, Lista Publikacji pozostałych oraz Materiały Dodatkowe.

Konstrukcja pracy jest przemyślana i logiczna. Wielkość i zakres części teoretycznej są bardzo odpowiednie w stosunku do pozostałych części. Podają informacje konieczne i użyteczne. Dodatkowo w częściach pozostałych znalazły się krótkie wstawki teoretyczne odnoszące do konkretnych zagadnień. Dyskusja jest obszerna i szczegółowa, ale jasno zaprezentowana. Omówiony jest każdy etap przeprowadzonych badań. Wnioski zaprezentowane są w kilkunastu punktach jako podsumowanie pracy. Sama praca jak i jej wyniki są dobrze umiejscowione we współczesnym obszarze badań poprzez odpowiedni dobór i przegląd literatury źródłowej.

Generalnie praca robi bardzo dobre wrażenie co równie dobrze świadczy o doktorantce. Fakt, że doktorantka podjęła również trud napisania jej po angielsku, świadczy również, że lubi wyzwania. Z wyjątkiem kilku problemów praca została

napisana poprawnie. Język i użyte słownictwo są właściwe. Proszę pozwolić mi przytoczyć te kilka uwag, przede wszystkim po to, aby w przyszłych publikacjach można ich było uniknąć.

str. 9 – powinno być „...which is defined to be from 100 nm...”;

str. 10 – napisałbym „wide interest” zamiast „huge”;

str. 12 – „unwell tissues” mogą być zastąpione przez unhealthy, deasesed lub patologic;

ta sama strona – zamiast „...are available.” powinno być „...are reported.”;

str. 72 – lepiej brzmi „...resulted in precipitation.”;

str. 139 – proponuję „...leads to formation of nitrilotriacetic acid anhydride.”;

str. 140 – sugeruję użycie zwrotu „...using or maintaining equimolar reactant ratio.”;

ta sama strona – sugeruję zamianę „received sodium salt” na „obtained”;

str. 156 – umiejscowienie zwrotu „...in DMSO...” w zdaniu sugeruje coś innego niż było to zamiarem autorki;

str. 219 – „...possesing or presenting acidic properties...” jest lepszym określeniem niż „...performing...”;

ta sama strona – powinno być „...dendrimers of fifth or higher generations...”;

i jeszcze raz ta sama strona – powinno być „...are much more accessible to electrostatic interaction...”.

Oczywiście są to sugestie do wykorzystania przez doktorantkę, np. przy opracowywaniu kolejnych publikacji.

Autorka wykazała się w pracy wieloma umiejętnościami z różnych dziedzin nauk farmaceutycznych. Prowadziła syntezę. Wykorzystała zaawansowane techniki NMR dla analizy potencjalnych oddziaływań ligandów z dendrymerami. Zaproponowała metodę do określania stopnia związania ligandów z dendrymerami. Wykonała także oraz zanalizowała badania wpływu na proces krzepnięcia i fibrynolizy krwi oraz cytotoksyczność. Jej umiejętności są szerokie podobnie jak wiedza. W sposób właściwy potrafi skorzystać z literatury źródłowej (371 pozycji cytowanych w dysertacji). Wnioski wyciągnięte w oparciu o uzyskane wyniki są klarowne i w większości wypadków właściwe. Moje zastrzeżenia budzi analiza wpływu poszczególnych ligandów, dendrymerów oraz kompleksów na parametry procesu krzepnięcia. Wyniki prezentowane na wykresach 24 zwłaszcza w niższych zakresach stężeń słabo wpływają na ten parametr. Poza tym różnice bardzo często mieszczą się w zakresie błędu statystycznego. Stąd trudno wyciągać definitywne wnioski. W przypadku ligandów efekty pojawiają się jedynie dla maksymalnych

stężenia rzędu  $10^{-6}$  mola  $\text{ml}^{-1}$ . Może to dobrze wróżyć badanym pochodnym, jeżeli wysokie stężenia nie są konieczne do wywołania efektów diagnostycznych. Niestety same PAMAM-y trzeciej i czwartej generacji w niskich stężeniach (już  $10^{-10}$  mol  $\text{ml}^{-1}$ ) wykazują negatywny wpływ na komórki nabłonka. Trudno zgodzić się więc z wnioskiem na str. 224, że są „potencjalnie bezpieczne do badań przedklinicznych”. Oczywiście dalsze badania, np. nad wpływem enkapsulacji ładunków dodatnich w cząsteczkach dendrymerów, mogą doprowadzić do wyeliminowania problemów związanych z toksycznością.

Badane pochodne nie są związkami nowymi. Zostały otrzymane wcześniej (pozycje literatury 330 i 331), niestety nie znalazłem odpowiednich odnośników w części syntetycznej. Tabela do Schematu 4 wymaga poprawy ponieważ dla ligandów 3 i 4 brakuje opisu podstawnika R4. Dla opisu wpływu dendrymerów na rozpuszczalność ligandów w wodzie sugerowałbym wykorzystanie parametru nachylenia krzywej regresji (parametr  $a$  z równania  $y = ax + b$ ). Na stronie 165 cytowana jest Tabela 32, chociaż w rzeczywistości dane kolorymetryczne znajdują się w Tabelach 33 i 34.

Pomimo uwag moja ocena rozprawy doktorskiej mgr Magdaleny Markowicz-Piaseckiej jest bardzo pozytywna ponieważ postawione cele badawcze i poznawcze zostały zrealizowane. Uważam, że spełnia ona warunki stawiane pracom doktorskim. Składam zatem wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie mgr Magdaleny Markowicz-Piaseckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo z uwagi na bardzo obszerną i wielokierunkową tematykę badawczą zaprezentowaną w ocenianej pracy, jej kompleksowość oraz kompletne podejście do tematu wnioskuję o jej wyróżnienie.

K I E R C I W N I .  
Katedry i Zakładu Syntezy i Technologii  
Chemicznej Środków Leczniczych  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

dr hab. n.farm. Dariusz Matosiuk  
prof. nadzw. UM w Lublinie