

Prof. dr hab. Emil Chibowski

Lublin, dn.20.07.2021

**Recenzja pracy doktorskiej Mgr Moniki Mierzwy:
„Lipidowe ciekłokrystaliczne materiały hybrydowe w formie fazy kubicznej lub
magnetoliposomów jako nośniki leków”.**

Praca doktorska Mgr Moniki Mierzwy została wykonana w Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego pod kierunkiem Prof. dr hab. Renaty Bilewicz, która jest kierownikiem Pracowni Teorii i Zastosowań Elektrod. Badania prowadzone w Laboratorium Bionanostruktur tej Pracowni, między innymi, dotyczą modelowych błon komórkowych charakterystycznych dla komórek nowotworowych. Jak powszechnie wiadomo stosowane leki przeciwnowotworowe niestety wykazują bardzo niekorzystne efekty uboczne. Zespół Pani profesor prowadzi badania polepszenia efektywności transportu leków przeciwnowotworowych przez modelowe błony komórkowe oraz badania zmian strukturalnych tych błon pod wpływem leku. Mają one na celu ograniczenie, ewentualnie wyeliminowanie, niekorzystnych skutków ubocznych. Należy również wspomnieć o współpracy dotyczącej tych problemów pomiędzy Panią profesorem i Panem profesorem Pawłem Krysińskim z Zakładu Chemii Fizycznej i Radiochemii UW.

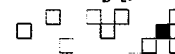
Wybór tematyki

Raport z 2019 roku Organizacji Współpracy Gospodarczej i Rozwoju, OECD, pokazał, że chociaż wśród 44 badanych krajów w Polsce zachorowalność na nowotwory jest stosunkowo niska to wskaźnik umieralności z powodu nowotworów złośliwych jest jednym z najwyższych, W Polsce umiera rocznie około 100 tyś. osób lub obecnie więcej, na nowotwory złośliwe. Dane te wskazują, że konieczne jest również prowadzenie obszernych badań w celu poprawy efektywności leczenia nowotworów. Badania prowadzone w Zespole Pani profesor Renaty Bilewicz mają właśnie taki cel, a jedną z metod prowadzących do wzrostu skuteczności leczenia i możliwości ograniczenia szkodliwych efektów ubocznych jest zastosowanie nowych form nośników leków. Należą do nich między innymi lipidowe ciekłokrystaliczne materiały hybrydowe, wśród nich w postaci kubosomów, które zawierają wbudowany lek i nanocząstki magnetyczne. Praca doktorska Mgr Moniki Mierzwy jest istotną częścią tych badań a uzyskane wyniki stanowią kolejny etap w kierunku osiągnięcia celu ich praktycznego zastosowania.

W 2014 roku Chen i wsp. w przeglądowym artykule "*Cubic and Hexagonal Liquid Crystals as Drug Delivery Systems*" (<http://dx.doi.org/10.1155/2014/81598>) stwierdzili, że mimo iż lipidowe kubiczne i heksagonalne fazy były intensywnie badane przez prawie 30 lat jako potencjalne układy przenoszące leki to nadal konieczne są badania tych zagadnień. Szczególnie oddziaływania leku i ciekłej fazy krystalicznej są mało poznane, podobnie jak wpływ środowiska na kinetykę uwalniania leku i biodegradację. W tym samym roku swoje badania w ramach pracy doktorskiej rozpoczynała Mgr Monika Mierzwa, której tematyka bardzo dobrze wpisowała się w wymienione wyżej problemy do rozwiązania. Natomiast w innej pracy opublikowanej w 2019 roku "*Lipid-based liquid crystalline films and solutions for the delivery of cargo to cells*" (*Liquid Crystals Reviews*, 7(2), 167) autorzy stwierdzają, że

pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

tel. +48 81 537 56 51

e-mail: emil.chibowski@umcs.pl

NIP: 712-010-36-92

REGON: 000001353

analogicznie do liposomów, kubosomy będąc nanosuspensjami w ostatnich latach znalazły ogromne zainteresowanie. Po raz pierwszy zostały one zidentyfikowane w 1979 roku (*Watching fat digestion. Science. 204(4389):145*) a ich właściwości fizykochemiczne zostały opisane w 1989 roku (*Larsson K. Cubic lipid-water phases: structures and biomembrane aspects. J Phys Chem. 93(21): 7304*). Z kolei w 2017 roku Wu i Huang w pracy "*Magnetic nanoparticles in cancer diagnosis, drug delivery and treatment*" (*Molecular and Clinical Oncology, 7, 738*) stwierdzili, że magnetyczne nanocząstki mogą zapewnić wysoce efektywne układy celowanego dostarczenia leku, ale wciąż pozostają problemy w teranostycznym (ściśłym połączeniu diagnostyki i terapii) zastosowaniu tych materiałów.

Wymienione artykuły naukowe i raport OECD świadczą jak aktualna i ważna jest tematyka badawcza rozprawy doktorskiej Mgr Moniki Mierzwy, która otrzymała nowe hybrydowe materiały łączące ciekłokrystaliczne lipidowe fazy kubiczne zwane magnetokubosomami, lek przeciwnowotworowy i nanocząstki magnetyczne. Magnetokubosomy mogą być nośnikami leku do celowanego jego skierowania do chorych komórek przy pomocy zewnętrznego pola magnetycznego. Lipidy są biokompatybilne i biodegradowalne a same cząstki magnetyczne nie wykazują dużej toksyczności dla organizmu. W takie kubiczne matryce można wprowadzać zarówno leki hydrofilowe, hydrofobowe jak i amfifilowe otrzymując stabilne układy o kontrolowanej szybkości uwalniania leku.

Formalna ocena pracy doktorskiej

Praca doktorska zawiera 160 stron i składa się z części literaturowej (60 stron), części doświadczałnej (63 strony) oraz podsumowania wyników, wniosków i streszczenia pracy zawartych na 6 stronach. Ponadto załączona do pracy bibliografia liczy 154 pozycje, z których prawie połowę opublikowano w ostatnich 10-ciu latach, nie licząc cytowanych podręczników. W części literaturowej zacytowano 118 prac. W tej części Autorka opisała układy ciekłokrystaliczne (20 stron), ze szczególnym uwzględnieniem faz kubicznych, ich podziału, stabilność i zastosowań, takich jak krystalizacja białek, bioczuJNIKI z enzymami, transport leków. Następnie omówiła metody otrzymywania kubosomów i ich właściwości, oraz fazy i nanocząstki lipidowe stosowane w badaniach leków, a także opisała modele kinetyki uwalniania leków i badane przez nią leki (doksorubicynę i metotreksat). Część literaturową kończy rozdział, w którym Autorka omówiła metody badawcze stosowane przez nią w pracy; woltamperometryczne, spektroskopowe, mikroskopowe i inne. Całość tej części zilustrowano 29 rysunkami i 2 tabelami.

Część doświadczałna zawiera najpierw opis aparatury pomiarowej, stosowanych związków chemicznych a następnie metody otrzymywania badanych faz kubicznych, kubosomów i magnetokubosomów. Zasadniczy rozdział tej części dotyczy otrzymanych wyników, między innymi: charakterystyki hybrydowych faz kubicznych z lekami, ich diagramów fazowych, kinetyki uwalniania leków, doksorubicyny i metotreksatu z faz kubicznych i kubosomów domieszkowanych magnetycznymi nanocząstkami hydrofobowymi lub hydrofilowymi bez pola i w obecności pola magnetycznego.

Mgr Monika Mierzwa pracę doktorską kończy podsumowaniem uzyskanych wyników i wyprowadza z nich wnioski. W oddzielnym rozdziale zamieszcza trzystronicowe streszczenie przedstawionej pracy. Uzyskane wyniki są także zilustrowane na 31 rysunkach i w 7 tabelach. Ogólnie praca napisana jest bardzo poprawnie, dobrym i merytorycznym stylem. W części literaturowej zawarto informacje związane z przeprowadzonymi badaniami w części doświadczałnej. Są one użyteczne szczególnie dla czytelnika mniej zapoznanego z tymi zagadnieniami i metodami badawczymi stosowanymi przez Doktorantkę. Pod względem technicznym praca jest wykonana na bardzo dobrym poziomie z kolorowymi ilustracjami ułatwiającymi zapoznanie się i ocenę otrzymanych wyników. Zawiera szczegółowy spis treści oraz stosowanych akronimów. Pod tym względem pracę oceniam bardzo dobrze.

Merytoryczna ocena pracy

Część literaturową pracy oceniam bardzo pozytywnie. Pani mgr Mierzwa w dobrym stylu opisała zagadnienia dotyczące stosowanych w części doświadczalnej układów lipidowych, ich różnorodnych form i zastosowań. Jak już wspomniałem, szczególnie omówione zostały fazy kubiczne i kubosomy, niektóre w sposób lapidarny, ale z odnośnikami do odpowiednich pozycji literaturowych. Podobnie zostały opisane zastosowania różnych form lipidów jako nośników leków oraz cztery modele szybkości ich uwalniania z różnych nośników, które wykorzystwała w części doświadczalnej. Na stronach 54-58 scharakteryzowała dwa leki, doksorubicynę i metotreksat, które stosowała w swoich badaniach. Opis stosowanych metod badawczych na str. 59-74 z załączonymi rysunkami i schematami jest profesjonalny. Charakterystyka różnych metod woltamperometrycznych, spektroskopowych, mikroskopii elektronowej, dynamicznego rozpraszania światła oraz pomiarów magnetycznych z odnośnikami literaturowymi stanowi dobre wprowadzenie do przeprowadzonych pomiarów opisanych w części doświadczalnej. Podsumowując, literaturową część pracy uważam jako dobrze ujęte wprowadzenie do części doświadczalnej.

Jak stwierdziła Doktorantka, celem jej pracy było zastosowanie biokompatybilnego i biodegradowalnego lipidu to otrzymania materiału hybrydowego zawierającego nanaocząstki magnetyczne i lek. W zamyśle, dla praktycznego wykorzystania do celowanego transportu leku antynowotworowego do komórek rakowych przy jak najmniejszym jego uwalnianiu przed osiągnięciem celu. Zastosowanym lipidem do badania form kubicznych i kubosomów była monooleina, zaś badanymi lekami najczęściej stosowana doksorubicyna i metotreksat. W badaniach wykorzystano nanocząstki magnetyczne hydrofilowe i hydrofobowe. Nanocząstki hydrofilowe Doktorantka otrzymała w ramach współpracy z Zespołem Prof. Pawła Krysińskiego z Wydziału Chemii UW. Na stronach 79-87 opisała procedury otrzymywania materiałów: nanocząstek magnetycznych, faz kubicznych czystych i hybrydowych z cząstkami magnetycznymi, kubosomów i magnetokubosomów. Opisy te są zwięzłe, ale wystarczająco odtwarzają przebieg otrzymywania badanych materiałów. Stosując termogravimetrię Mgr Mierzwa wyznaczyła wielkość warstewki na nanocząstkach hydrofilowych i hydrofobowych, która stanowiła odpowiednio 27,5% i 24,7% masy nanocząstki (Rys..4.1). Natomiast z obrazów TEM wynikało, że średnia wielkość nanocząstek hydrofilowych wynosiła 13 nm zaś hydrofobowe były około dwukrotnie mniejsze. Następnie były one wykorzystane do otrzymania magnetokubosomów (str. 86-87) z faz kubicznych badanego lipidu monooleiny. Szczegóły przygotowania faz kubicznych Autorka opisała na str.84-86 a magnetokubosomów na str.86-87. Przy pomocy mikroskopu polaryzacyjnego i spektroskopii SAXS stwierdziła, że otrzymała izotropowe fazy kubiczne monooleiny zawierające 40% wody, zarówno bez leku jak i zawierające 0,5% doksorubicyny lub 1-2% metotreksatu. Wyniki SAXS pokazały, że doksorubicyna nie zmienia struktury fazy lipidowej zarówno w 25° C jak i temperaturze fizjologicznej (Rys.5.1.1), natomiast metotreksat w niewielkim stopniu wpływa na strukturę mezofazy (Rys. 5.2.2). Wprowadzenie hydrofilowych nanocząstek magnetycznych w ilości 0,2% powiększa kanał wodny w fazie kubicznej, ale 2% tych cząstek zmniejsza go, zaś cząstki hydrofobowe nie zmieniają parametrów sieci i wielkości kanałów wodnych. Doktorantka przebadła również wpływ temperatury na strukturę badanych faz aż do 60°C. Parametry strukturalne badanych faz kubicznych zamieściła w Tabelach 5.1.1 i 5.1.2. Mgr Monika Mierzwa wyznaczyła także diagramy fazowe dla niektórych badanych układów wykorzystując pomiary SAXS i obrazy z mikroskopu polaryzacyjnego otrzymane przy zmianach temperatury. Wyniki zamieściła na rysunkach 5.1.4 - 5.1.6 oraz w Tabelach 5.1.3 i 5.1.4. Badania te i uzyskane wyniki są ważne w aspekcie dostarczania leków w tych fazach i ich uwalniania przez zewnętrzne pole magnetyczne. Należy bardzo pozytywnie ocenić powyżej omówione badania, szczególnie mając na uwadze potencjalne ich wykorzystanie praktyczne.

Do badania faz kubicznych zawierających leki, szczególnie w aspekcie ich uwalniania, Mgr Monika Mierzwa zastosowała metody woltamperometryczne. Obszerne omówienie wyników przedstawiono na str. 102-123, rys. 5.2.1-5.2.13 i w czterech tabelach. Badania te

pozwołyły Doktorantce określić szereg ważnych i interesujących z punktu widzenia badań podstawowych parametrów wbudowywania i szybkości uwalniania się badanych dwu leków z tych hybrydowych ciekłokrystalicznych materiałów, jak również w dalszej części badań - z kubosomów i magnetokubosomów. Na przykład, wymywanie doksorubicyny (0,5%) z fazy kubicznej zależało zarówno od pH jak i temperatury a mechanizm wymywania polegał na dyfuzji poprzez kanały wodne mezofazy kubicznej i drastycznie malał pH = 7.4 jako wynik zmiany jej umiejscowienia, z kanałów wodnych do warstwy lipidowej.

Kolejne badania Autorki (Rozdz.5.3-5.5) dotyczyły najbardziej istotnej i nowatorskiej części pracy, a mianowicie badań kubosomów i magnetokubosomów i umieszczania w nich leków oraz ich uwalniania przy pomocy zewnętrznego pola magnetycznego. Materiały te były otrzymane dwiema różnymi metodami (str. 85-87), poprzez działanie ultradźwięków na fazę kubiczną w obecności roztworu Pluronic-127 (niejonowy surfaktant) i w obecności lub bez obecności leku. W drugiej metodzie do stopionej monooleiny dodawano roztwór Pluronic-127 i homogenizowano w ultradźwiękach bez lub z wcześniej wprowadzonym lekiem. Kubosomy charakteryzują się mniejszą lepkością niż fazy kubiczne i dlatego istnieje możliwość podawania dożylnego leku. Doktorantka otrzymała sferyczne kubosomy i magnetokubosomy z lekiem i bez leku o średnicy 110-150 nm i szczegółowo przebadła ich właściwości. W celu wyznaczenia grupy przestrzennej i parametrów strukturalnych (Rys. 5.3.2) zastosowała DLS (dynamiczne rozpraszanie światła), mikroskopię TEM, Cryo-SEM i Cryo-TEM (Rys. i Tab. 5.3.1), oraz niskokątową spektroskopię SAXS. Otrzymała kubosomy o uporządkowanej strukturze wewnętrznej, ujemnie naładowane, których potencjał zeta w zależności od ich składu wynosił 19-31 mV. Na str.125 Autorka stwierdziła, że „Wartość potencjału zeta kubosomów znajduje się na tym samym poziomie, około -18 mV, co oznacza, że otrzymano stabilną dyspersję”. W mojej ocenie taka wielkość potencjału zeta jest zbyt mała, żeby tylko dlatego zapewnić stabilność suspensji.

Magnetyczne nanocząstki hydrofobowe znajdowały się w ich wnętrzu, podczas gdy hydrofilowe częściowo w zewnętrznej warstewce wodnej i były częściowo zagregowane. Ważnym stwierdzeniem było, że wartości momentów magnetycznych w fazach kubicznych są podobne do tych w ich fazie nierozproszonej. Daje to możliwość celowanego dostarczenia leku. Doktorantka wykorzystując wyniki badań Zespołu Prof. Krysińskiego (ref.86) dotyczących uwalniania leku z magnetoliposomów w wyniku wibracji mechanicznych w zmiennym polu magnetycznym 50 Hz i małym jego natężeniu 10 mT, zbadała w takich samych warunkach i w temp. 25 °C uwalnianie badanych leków z magnetokubosomów hydrofobowych stosując voltametrię fali prostokątnej lub spektrofotometrię UV-Vis. Stwierdziła wyraźną różnicę w szybkości i ilości wydzielonej doksorubicyny (Rys.5.3.8) i metotreksatu (Rys.5.3.9) w obecności pola magnetycznego. Metotreksat wymywany jest szybciej niż doksorubicyna, maksimum osiągnęto odpowiednio po 10 i 30 minutach. Według sugestii Autorki jest to wynik niszczenia wewnętrznej struktury magnetokubosomów a nie efekt magnetotermiczny ponieważ w warunkach eksperymentu jest on znikomy. W oparciu o literaturę (ref.154) wyklucza także możliwość efektu przejścia fazowego magnetoliposomów ze względu na zbyt krótki czas działania pola magnetycznego.

Omówione powyżej najważniejsze wyniki badań Doktorantki są interesującym wkładem w zastosowanie zarówno kubosomów jak nanocząstek magnetycznych do celowanego transportu leków przeciwnowotworowych. Nasuwa się tu pytanie czy badane były pod tym względem hydrofilowe nanocząstki magnetyczne? Czy pojawiły się jakieś problemy z uwalnianiem leków w obecności nanocząstek polarnych?

Ocena edycji pracy

Jak wspomniałem w formalnej ocenie, praca napisana jest w dobrym stylu naukowym. Oczywiście zawiera trochę błędów drukarskich i niezbyt poprawnych wyrażań. Jest podzielona na odpowiednie paragrafy, które łatwo znaleźć w szczegółowym spisie treści. Jednakże zadaniem recenzenta jest wyszczególnienie uchybień w ocienianej pracy, nie tylko merytorycznych, ale i edycyjnych. Autorka używa w pracy dużo akronimów pochodzących

od anglojęzycznych terminów, które są obecnie powszechnie przyjęte w publikacjach, szczególnie, że praktycznie wszystkie wyniki badań są publikowane w tym języku. Są one bardzo użyteczne, zostały zestawione alfabetycznie na początku pracy jako „Wykaz skrótów..”, ale nie są to skróty tylko akronimy, ewentualnie „skrótownice”. Umieszczanie zaś w tym wykazie wzorów prostych związków chemicznych stosowanych w pracy jest niewskazane, chociaż może być pomocną dla czytającego, który już zapomniał ich znaczenia. Oczywiście nie są to ani skróty, ani akronimy i ewentualnie mogłyby być zestawione oddzielnie wraz z nazwami związków.

Doktorantka w tekście i w opisie niektórych rysunków, omawiając obrazy (odwzorowania) powierzchni z mikroskopu elektronowego, określa je jako *zdjęcia*, co nie jest poprawne, ponieważ zdjęcia uzyskuje się z aparatu fotograficznego lub mikroskopu optycznego. Z wymienionych mikroskopów elektronicznych otrzymujemy ‘obraz’, ‘odwzorowanie’ bądź ‘replikę’ powierzchni.

W paragrafie 3.1.3 - 3.1.5 na str. 33 i 36, cztery kolejne rysunki i w tekście są oznaczone od 3.1.20 do 3.1.23, podczas gdy ostatni rysunek przed wymienionymi jest oznaczony jako 3.1.9. Czy jest to tylko pomyłka w ich oznaczeniu czy ma to jakieś uzasadnienie?

Na str.80 podano promienie jonowe Fe(III), Ni(II) i Zn(II) wyrażone w mikrometrach (μm), odpowiednio 78,5; 70 i 74 mikrometrów. Czy jest to tzw. błąd drukarski, promienie jonowe mogą być wyrażone w pikometrach (pm) a zwykle podaje się je w Å? W cytowanej pracy (ref. 121) nie znalazłem w ogóle podanych wartości promieni tych jonów, natomiast w Internecie można znaleźć dość różniące się wartości.

Chciałbym także wymienić kilka niezbyt poprawnych wyrażen lub określeń.

Str.67- „*Ideą pomiaru SAXS jest wizualizacja wzoru rozpraszania promienia rentgenowskiego..*”.

Str.80 i 81- „*Nanocząstki wytrącono za pomocą magnezu....*”, „*...nanocząstki powleczone kwasem oleinowym zdekantowano za pomocą magnezu...*”

Str.103- „*Cząsteczka Dox ma charakter amfoteryczny... zaś grupa aminowa zlokalizowana przy cukrze.*”

Str.115, „*Wyniki przedstawiono w tabeli 5.21*” – powinno być 5.2.2.

Str.119, „*Domieszkowanie fazy kubicznej 0,2% wag. NPc spowodowało ułatwia uwalnianie DOX.*”

Str.144, „*Wysoka wartość wykładnika...wskazuje, że więcej niż jeden mechanizm jest odpowiadają za zmiany....*”

Powyższe uwagi nie mają oczywiście większego znaczenia dla merytorycznej oceny pracy.

Podsumowanie oceny pracy i wnioski końcowe

W podsumowaniu mojej oceny rozprawy doktorskiej Mgr Moniki Mierzwycy stwierdzam, że praca wyróżnia się zarówno aktualnością tematyki badawczej, jej zakresem i dużym potencjałem poznawczym mającym bardzo istotne znaczenie praktyczne. Uzyskane wyniki z pewnością będą bardzo użyteczne dla przyszłych zastosowań praktycznych celowanego dostarczania leku i jego uwalniania w odpowiednim czasie i miejscu. Pomimo, że kubosomy zidentyfikowano ponad 40 lat temu to zastosowanie magnetokubosomów do enkapsulacji i transportu leków jest dopiero rozpoznawaną metodologią. W wyszukiwarce Web of Science pod hasłem „*magnetocubosomes for drug delivery*” wyszczególnione są tylko trzy publikacje, w tym dwie to współautorskie prace Mgr Moniki Mierzwycy a trzecia „*Magnetocubosomes for the delivery and controlled release of therapeutics*” opublikowana była w *Journal of Colloid and Interface Science* w 2015. Autorzy badali uwalnianie amfifilowej Rodaminy B i hydrofilowej Rodaminy 110, uważając je za modele leku. Publikację tę cytuje również Doktorantka (ref.73) na stronie 51. Można więc stwierdzić, że badania Doktorantki są pionierskie pod względem zastosowania magnetokubosomów do enkapsulacji i transportu typowych leków przeciwnowotworowych. Wcześniej w czasopiśmie naukowych nie było opublikowanych analogicznych badań.

Najważniejsze osiągnięcia badawcze Doktorantki można podsumować następująco:

- Przeprowadzenie badań ciekłokrystalicznych faz kubicznych i po raz pierwszy kubosomów z wbudowanymi lekami i hydrofobowymi lub hydrofilowymi nanocząstkami magnetycznymi.
- Wykazanie przewagi kubosomów nad mezofazami z których powstają ze względu na ich mniejszą lepkość i możliwość dozowania nawet dożylnego, zaś różna polarność nanocząstek magnetycznych stwarza dużo możliwości kierowania leków przy pomocy zewnętrznego pola magnetycznego.
- Ważne stwierdzenie, że właściwości magnetyczne magnetokubosomów zarówno z nanocząstkami hydrofobowymi jak i hydrofilowymi są podobne do samych cząstek magnetycznych, co umożliwia sterowanie nimi zewnętrznym polem magnetycznym.
- Wykazanie, że w temp. 25 °C zmienne pole magnetyczne ułatwia wydzielanie leku z lipidowych faz kubicznych w obecności obu rodzajów cząstek magnetycznych, oraz z magnetokubosomów z nanocząstkami hydrofobowymi. Z braku możliwości aparaturowych Autorka nie zbadała tych zależności w temperaturze fizjologicznej 37 °C, ale można się spodziewać takich samych zależności.
- Dość szczegółowe przebadanie właściwości badanych materiałów, wyznaczenie diagramów fazowych, wykazanie różnic we wpływie obecności nanocząstek hydrofobowych (niewielkie zmiany) i hydrofilowych (znaczące zmiany fazowe) w dużym przedziale temperatur 10 - 60 °C. - Zbadanie wpływu wzrostu temperatury na ilość wydzielonego leku i powiązanie z przejściami fazowymi, transport leku w obecności hydrofobowych nanocząstek jest podobny jak w fazie niedomieszkowanej, lecz jest zahamowany w obecności cząstek hydrofilowych w wyniku oddziaływań elektrostatycznych.
- Wykazanie, że odpowiednie techniki woltamperometryczne (pulsowa różnicowa i fali prostokątnej) są odpowiednie i precyzyjne do wyznaczania szybkości i ilości uwolnionego leku zarówno z fazy kubicznej, kubosomów i magnetokubosomów.

Część wyników opisanych w rozprawie doktorskiej opublikowano w 3 pracach w czasopiśmie naukowym o liczącym się poziomie, a pierwszą pracę Doktorantka opublikowała już 2014 roku w Langmuir. Wyniki te stanowią cenne informacje dla zaprojektowania następnego etapu badań w celu możliwości ich wykorzystania *in vivo*.

W świetle powyższej oceny jednoznacznie stwierdzam, że zgodnie z Ustawą z dn. 14 marca 2003 roku, art. 13, o stopniach i tytułach naukowych, praca doktorska Mgr Moniki Mierzwy spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim i zasługuje na wyróżnienie. Dlatego wnioskuję do Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o jej przyjęcie i przeprowadzenie dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Emil Chibowski