

prof. dr hab. n. farm. Łukasz Komsta  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
Wydział Farmaceutyczny  
Katedra i Zakład Chemii Leków  
ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin, tel. 81 4487387, fax 81 4487381

## Recenzja pracy doktorskiej mgr Krzysztofa Stępnia

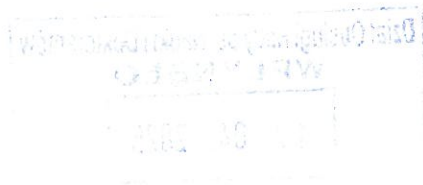
### *„Wybrane aspekty jakości niektórych suplementów diety zawierających aminokwasy”*

PRZEDŁOŻONA do recenzji praca doktorska na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne została wykonana pod promotorstwem dr hab. n. farm. JOANNY GIEBUŁTOWICZ w Zakładzie Chemii Leków, Analizy Farmaceutycznej i Biomedycznej Wydziału Farmaceutycznego WUM.

Składa się z pięciu publikacji opublikowanych w *Biuletynie Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego* (MEiN = 20), *Pharmaceuticals* (IF= 4,6; MEiN = 100), *Life* (IF= 3,2; MEiN = 70), *Food Additives in Contaminants: Part B* (IF= 2,5; MEiN = 70) oraz *Microchemical Journal* (IF= 4,9; MEiN: 70). Pod względem bibliometrycznym pracę należy ocenić bardzo wysoko (łącznie daje to IF równy 15,2 oraz 330 punktów ministerialnych).

Praca stanowi wyraźnie wyodrębnioną część pracy zbiorowej o wiodącym i wystarczającym wkładzie Doktoranta popartym oświadczeniami, a ponadto ze względu na obszerny artykuł poglądowy udowadnia ogólną wiedzę teoretyczną Autora w dziedzinie rozprawy. Potwierdza także samodzielność prowadzenia pracy naukowej.

Suplementy diety, czyli skoncentrowane źródła witamin, minerałów lub innych substancji o działaniu odżywczym bądź fizjologicznym, przeznaczone do uzupełnienia regularnej diety, stanowią rynek charakteryzujący się dynamicznym rozwojem. Ich producenci deklarują możliwość rozwiązania przy ich pomocy różnorodnych problemów zdrowotnych. Jest to po części prawda, jednakże w wielu przypadkach stosowanie suplementów nie jest wystarczające, a można mówić nawet o ich nadużywaniu. Sprzyja temu zjawisko (w samym założeniu bardzo pozytywne) swoistej świadomości społeczeństwa na temat roli odżywiania w utrzymywaniu zdrowia. Niektórzy jednak autorzy zauważają, że powszechne przekonanie o niedoborach składników odżywczych we współczesnej żywności często



jest przesadzone, a również przyczyni się do popularności suplementów. Według badań rynkowych, w Polsce suplementację stosuje znaczący odsetek społeczeństwa, najczęściej na własną rękę, bez konsultacji z lekarzem. Najczęściej celem jest tu wzmocnienie odporności, poprawa ogólnego stanu zdrowia, czy też stanu skóry i włosów.

Autor dysertacji słusznie zauważa, że suplementy diety są obecnie pod względem prawnym klasyfikowane jako środki spożywcze i podlegają odmiennym regulacjom prawnym niż leki. Przede wszystkim nie są wymagane badania skuteczności i bezpieczeństwa przed wprowadzeniem na rynek. Dysponujemy zatem ograniczoną ilością informacji na temat ich jakości, a dostępne dane nierzadko sygnalizują, że jest ona niewystarczająca. Autor podaje kilka możliwości: obecność substancji niezadeklarowanych, niższą od deklarowanej zawartość głównego składnika, czy też niskie uwalnianie substancji z formy farmaceutycznej. W szczególności niewiele wiadomo o jakości suplementów diety zawierających aminokwasy, zwłaszcza w zakresie badań uwalniania. Kontrola jakości suplementów powinna być analogiczna do kontroli leków, jednak nie należy oczekiwać szybkich zmian legislacyjnych w tym zakresie.

Doktorant postawił sobie za cel określenie aspektów jakości wybranych suplementów diety zawierających jako główne składniki karnitynę, prolinę, tryptofan oraz tyrozynę. Zaplanował identyfikację substancji obecnych w badanych suplementach diety, ilościową ocenę zawartości głównego składnika oraz badanie jego uwalniania. Cel jest dobrze sformułowany i jasno wynika z fundamentalnego znaczenia jakości suplementów diety dla ich skutecznego stosowania, a wybór suplementów zawierających aminokwasy podyktowany był szczególnym brakiem danych dotyczących jakości. Nie bez znaczenia była tu możliwość powstania potencjalnych produktów rozkładu.

Cel pracy został sformułowany po obszernym przeglądzie literatury dotyczącej powszechności stosowania suplementów i związanych z tym zagrożeń. Rezultatem tego przeglądu jest obszerna publikacja przeglądowa, włączona jako pierwsza do cyklu doktorskiego. Realizacja celu obejmowała poszukiwanie substancji niezadeklarowanych, oznaczenie zawartości głównych składników, badanie ich uwalniania w różnych pH (łącznie z oceną metod farmakopealnych oraz aparatu PhysioCell), jak również próbę interpretacji faktu niskiego uwalniania.

W drugiej publikacji z cyklu Doktorant ocenił jakość 22 suplementów diety zawierających tryptofan, pochodzących z różnych krajów. Zastosowano chromatografię ciekłą sprzężoną z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) do analizy jakościowej i ilościowej. W suplementach wykryto

metabolity tryptofanu, produkty jego rozkładu i kondensacji z innymi związkami, a także inne zanieczyszczenia, takie jak glukozamina i melatonina.

Trzecia z publikacji cyklu opisuje kompleksową ocenę jakości suplementów zawierających prolinę. Oceniono ilościowo jej zawartość, uwalnianie oraz przebadano obecność zanieczyszczeń w 18 suplementach diety przy użyciu LC-MS/MS. Analiza pozwoliła na wykrycie zanieczyszczeń, np. 4-etylogwajakol, sulfizoksazol, steramid i erukamid. Uwalnianie proliny było dość zróżnicowane, jednakże a w większości suplementów procent uwolnienia głównego składnika był niższy niż spodziewany.

W czwartej publikacji Autor rozprawy przedstawił wyniki screeningowej analizy jakości legalnych i nielegalnych suplementów diety, dostępnych na rynku polskim. Podobnie jak poprzednio zastosowano metodę LC-MS/MS. Oznaczenia były prowadzone w różnych kategoriach suplementów, np. zawierających witaminy, aminokwasy, ekstrakty roślinne, glukozaminę i kolagen.

Piąta i ostatnia publikacja cyklu doktorskiego badała przydatność farmakopealnych testów uwalniania do oceny jakości suplementów zawierających tyrozynę, karnitynę, witaminę C, tryptofan i prolinę. Jednym z założeń opublikowanych w niej badań było porównanie wyników ze standardowego aparatu do badań uwalniania z wynikami z aparatu PhysioCell, który próbuje maksymalnie wiernie odtworzyć warunki panujące w przewodzie pokarmowym, w tym ciśnienie. Wyniki potwierdzają, że metody farmakopealne mogą być z powodzeniem stosowane do suplementów o niskiej jakości uwalniania. Aparat PhysioCell pozwala na głębsze zrozumienie wpływu warunków fizjologicznych na uwalnianie. Połączenie obu tych metod pozwala na zapewnienie dokładniejszej oceny jakości suplementów pod względem biodostępności.



Wszystkie publikacje stanowiące rozprawę przeszły rygorystyczny proces edytorski w prestiżowych czasopismach. Ja również nie widzę w nich niczego, co wzbudzałoby wątpliwości. Myślę, że na obronie warto byłoby podyskutować nad tym, jak mogłyby wyglądać zaostrzone wymogi jakościowe dotyczące suplementów diety, ze szczególnym zwróceniem uwagi na to, które wymogi powinny być odmienne od tych dotyczących leków.

Recenzowana rozprawa stanowi odpowiedzi na istotne z punktu widzenia nauki pytania, a do najważniejszych jej osiągnięć należy zaliczyć: wykrycie w suplementach dodatkowych niezadeklarowanych

substancji (takich jak metabolity tryptofanu, czy też produkty jego kondensacji z innymi związkami), zdumiewającą rozbieżność zawartości składników w stosunku do deklarowanej wartości, duży rozrzut średniego procentowego uwalniania z formy farmaceutycznej, jak również potwierdzenie istotnego (i często negatywnego) wpływu parametrów procesu technologicznego, warunków fizjologicznych, czy też doboru substancji pomocniczych na kinetykę procesu uwalniania.



Podsumowując, praca doktorska mgr Krzysztofa Stępnia spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz.1789) oraz art. 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz. 1669). Wnioskuje zatem o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dodatkowo, biorąc pod uwagę aktualność tematyki badawczej oraz odwagę zmierzenia się z ważnymi problemami analitycznymi, co zaowocowało istotnym wkładem w metodologię oznaczania aminokwasów w złożonych matrycach, z przyjemnością wnioskuję o wyróżnienie przedłożonej mi do recenzji pracy.

Lublin, 17 kwietnia 2025.