

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. farm. Szymona Sipa
pt.: „Opracowanie układów dostarczania aktywnych biologicznie substancji o potencjale transformacji mikrobiomu jelitowego”, w związku z powierzeniem obowiązków recenzenta przez Kapitułę Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Praca doktorska została przygotowana w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji i Biomateriałów Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu pod kierunkiem promotora prof. dr hab. n. farm. Judyty Cieleckiej-Piontek. Drugim promotorem był dr hab. n. med. Marcin Żarowski, prof. UMP. Tematyka rozprawy doktorskiej wpisuje się w zagadnienia realizowane przez panią Promotor, której działalność mam przyjemność obserwować przez wiele lat. Rozprawę mgr farm. Szymona Sipa stanowi cykl pięciu publikacji przedstawiony w formie zalecanej dla prac promocyjnych i obejmuje 170 stron.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy:

- 1) **Sip S**, Szymanowska D, Chanaj-Kaczmarek J, Skalicka-Woźniak K, Budzyńska B, Wronikowska-Denysiuk O, Słowik T, Szulc P, Cielecka-Piontek J. *Potential for Prebiotic Stabilized Cornus mas L. Lyophilized Extract in the Prophylaxis of Diabetes Mellitus in Streptozotocin Diabetic Rats. Antioxidants* (Basel). 2022; 11(2): 380. IF 7,0, MNiSW 100, cytowania 13.
- 2) **Sip S**, Sip A, Szulc P, Cielecka-Piontek J. *Haskap Berry Leaves (Lonicera caerulea L.)- The Favorable Potential of Medical Use. Nutrients*. 2022; 14(19): 3898. IF 5,9, MNiSW 140, cytowania 7.
- 3) **Sip S**, Sip A, Szulc P, Selwet M, Żarowski M, Czerny B, Cielecka-Piontek J. *Exploring Beneficial Properties of Haskap Berry Leaf Compounds for Gut Health Enhancement. Antioxidants* (Basel). 2024; 13(3): 357. IF 7,0, MNiSW 100, cytowania .
- 4) **Sip S**, Sip A, Miklaszewski A, Żarowski M, Cielecka-Piontek J. *Zein as an Effective Carrier for Hesperidin Delivery Systems with Improved Prebiotic Potential. Molecules*. 2023; 28(13): 5209. IF 4,6, MNiSW 140, cytowania 7.
- 5) **Sip S**, Rosiak N, Sip A, Żarowski M, Hojan K, Cielecka-Piontek J. *A Fisetin Delivery System for Neuroprotection: A Co-Amorphous Dispersion Prepared in Supercritical Carbon Dioxide. Antioxidants* (Basel). 2023; 13(1): 24. IF 7,0, MNiSW 100, cytowania 3.

Pan mgr Szymon Sip jest pierwszym autorem wszystkich prac, łączny IF wynosi 31,5, liczba punktów ministerialnych 580, a liczba cytowań 30, co uważam za ogromne osiągnięcie.

Recenzent uznaje niniejszą rozprawę jako bardzo dobrą, wynikającą z problematyki realizowanej przez Autora w zespole, który od wielu lat zajmuje się badaniem możliwości wykorzystania roślin jako źródeł aktywnych biologicznie substancji. Wykorzystanie układów roślinnych dla potrzeb modyfikacji mikrobiomu jelitowego stanowi logiczną kontynuację prac prowadzonych przez prof. Judytę Cielecką-Piontek. Tematyka przedstawiana przez Doktoranta jest mi bliska, ponieważ działam w zakresie możliwości wykorzystania substancji biologicznie aktywnych dla celów terapeutycznych oraz analiz mikrobiomu człowieka.

W pierwszym artykule Doktorant oceniał możliwość wykorzystania liofilizowanego ekstraktu z derenia jadalnego *Cornus mas* L. jako prebiotyku w profilaktyce cukrzycy na modelu szczura. Spośród czterech odmian owoców wybrano jedną odmianę (*Wydubieckij*) o najwyższej aktywności w warunkach *in vitro*. Opracowano unikalny system terapeutyczny hamujący aktywność α -glukozydazy oraz o działaniu antyoksydacyjnym zastosowanego ekstraktu roślinnego w połączeniu z prebiotycznym działaniem inuliny. Uzyskany układ scharakteryzowano *in vitro* pod względem aktywności przeciwutleniającej i zdolności hamowania enzymów, a następnie przebadano na modelu szczura z cukrzycą. Badanie połączono z analizą zmian mikrobioty jelitowej. Układ stabilizowanego prebiotykiem liofilizowanego ekstraktu *Cornus mas* L. z inuliną stanowił cenne wsparcie w profilaktyce cukrzycy u szczurów (*Antioxidants* 2022, IF 7,0, MNiSW 100, cytowania 13).

W drugim artykule mgr Szymon Sip wykorzystał liście pięciu odmian jagody kameczackiej (*Lonicera caerulea* L.). Liście poddano standaryzacji w oparciu o analizę chromatograficzną substancji aktywnych biologicznie oraz zawartości polifenoli, chlorofili i karotenoidów. Doktorant określił hamowanie aktywności α -glukozydazy, lipazy, hialuronidazy oraz potencjał antyoksydacyjny. Wykazał, że liście odmiany Jugana najwydajniej wspomagają profilaktykę i leczenie cukrzycy typu II (*Nutrients* 2022, IF 5,9, MNiSW 140, cytowania 7).

W trzeciej pozycji, Doktorant analizował różne układy obejmujące ekstrakty z liści jagody kameczackiej i dekstran jako nośniki do modyfikacji aktywności przeciwutleniającej i hamującej enzymy oraz wzrost określonych szczepów bakterii. Wykazał najwyższe zdolności przeciwutleniające, znaczny potencjał hamujący wobec α -glukozydazy, hialuronidazy i lipazy dla ekstraktu nr 3. Zastosowanie dekstranu wraz z ekstraktem z jagody kameczackiej zapewniło stabilność układów biologicznie aktywnych i sprzyjało podziałom korzystnych szczepów, w szczególności z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacilli* (*Antioxidants* 2024, IF 7,0, MNiSW 100, cytowania 0 – praca z marca br.).

Czwarty artykuł poświęcony został zwiększeniu biodostępności i przedłużonego uwalniania hesperydyny pochodzącej z owoców cytrusowych poprzez wykorzystanie zeiny.

Mgr Szymon Sip wykazał, że najlepiej sprawdził się potrójny układ hesperydyna-zeina-hydroksypropylo- β -cyklodekstryna, zwiększając rozpuszczalność (ponad sześciokrotnie), aktywność przeciwutleniającą i zdolność do hamowania α -glukozydazy. Doktorant oceniał ponadto metabolizm hesperydyny przez wybrane bakterie probiotyczne oraz wpływ tego związku flawonoidowego na ich wzrost (*Molecules* 2023, IF 4,6, MNiSW 140, cytowania 7).

Ostatni, piąty artykuł wchodzący w skład cyklu odnosi się do możliwości wykorzystania fisetyny (FIS) w postaci amorficznej dyspersji przygotowanej poprzez ekstrakcję dwutlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym (scCO₂). Fisetyna jako flawonoid senolityczny łagodzi związane z wiekiem zmiany neuroprotektoryjne. Doktorant oceniał amorfizację i interakcje międzycząsteczkowe, wykazał, że amorficzna dyspersja FIS charakteryzuje się zwiększoną rozpuszczalnością, profilem rozpuszczania i biodostępnością w porównaniu z formą krystaliczną. Określił ponadto w układzie *in vitro* aktywność przeciwutleniającą i działanie neuroprotektoryjne poprzez hamowanie acetylocholinoesterazy i butyrylocholinoesterazy. Podanie fisetyny modyfikowało mikrobiotę jelitową, ograniczając liczbę potencjalnie patogennych bakterii Gram-ujemnych bez wpływu na mikroorganizmy probiotyczne, sugerując możliwość praktycznego wykorzystania optymalizowanych systemów dostarczania (*Antioxidants* 2023, IF 7,0, MNiSW 100, cytowania 3).

Rozprawa doktorska zawiera główne elementy wchodzące w skład typowej pracy promocyjnej i obejmuje: wykaz stosowanych skrótów, spis treści, wykaz publikacji stanowiących podstawę postępowania w sprawie o nadanie stopnia naukowego doktora, aktywność naukowa doktoranta oraz opis dorobku naukowego (w tym pozostałe publikacje, realizowane projekty, komunikaty i wystąpienia zjazdowe, nagrody i stypendia, współautorstwo w komunikatach i wystąpieniach zjazdowych, szkolenia i staże), przedmiot badań (w tym wstęp, cel i założenia pracy, omówienie poszczególnych prac wchodzących w skład cyklu, wnioski, perspektywy dalszych badań), piśmiennictwo, streszczenia w języku polskim i angielskim, kopie artykułów stanowiących cykl publikacji oraz pisemne oświadczenia współautorów prac tworzących cykl. Zamieszczono również informację o braku konieczności uzyskania na badania zgody lokalnej Komisji Bioetycznej lub lokalnej Komisji Etyki Badań na Zwierzętach, ponieważ prezentowane badania nie stanowią eksperymentu medycznego. Jest to układ wystarczający do przygotowania recenzji rozprawy, chociaż może warto by pokusić się o krótką dyskusję nad wszystkimi artykułami, chociaż trzeba pamiętać, że artykuły zawierają już dyskusję.

Cel i założenia pracy dotyczą opracowania układów dostarczania ekstraktów roślinnych lub czystych substancji aktywnych z wybranymi nośnikami wraz z oceną rozpuszczalności.

przenikalności oraz aktywności biologicznej, możliwości transformacji mikrobiomu jelitowego oraz określenia potencjalnego pozytywnego działania na mikrobiom. Mgr Szymon Sip charakteryzował surowce roślinne (owoce *Cornus mas* L., liście *Lonicera caerulea* L.), wybrane substancje (hesperydyna, fisetyna) dla potencjalnego wykorzystania w terapii wybranych jednostek chorobowych (cukrzyca, choroby neurodegeneracyjne). Cele uważam za bardzo ambitne.

Mgr Szymon Sip przedstawił bardzo krótko wnioski, które stanowią raczej podsumowanie prowadzonych prac. Wnioski w pełni odpowiadają założeniom rozprawy.

Ciekawą część rozprawy stanowi rozdział Perspektywy dalszych prac, który został przedstawiony bardzo syntetycznie, stanowiąc podsumowanie uzyskanych wyników i pozostawiając w odczuciu Recenzenta pewien niedosyt, podobnie jak brak części poświęconej dyskusji, szczególnie w odniesieniu do łącznej analizy publikacji. To niedopatrzenie może być związane z ujęciem dyskusji w ramach opublikowanych artykułów, tym niemniej, z pewnością wzbogaciłaby prezentowaną do oceny rozprawę.

Przedstawione przez mgr Szymona Sipa artykuły tworzą spójną całość, w której Doktorant przechodzi od wyboru najlepszego źródła substancji bioaktywnych, poprzez przygotowanie najbardziej korzystnej formy podania, aż do oceny wpływu na wybrane układy badawcze. Artykuły podlegały recenzji przed opublikowaniem, natomiast najlepszym sprawdzianem jakości przedstawionej do oceny dysertacji jest z pewnością liczba cytowań, która dla prac publikowanych w latach 2022-2024, za wyjątkiem najnowszej pracy wynosi od 3 do 13, dając łączną liczbę cytowań 30.

Ze względu na pojawiające się w świecie naukowym sugestie, uprzejmie proszę o ograniczenie stosowania wyrazu „mikroflora”, a zastąpienie go raczej pojęciem „mikrobiota”. W związku z recenzowaną pracą doktorską nasuwają się następujące pytania:

- 1) W rozprawie badano substancje biologicznie aktywne w formie ekstraktów, stanowiących złożoną mieszaninę wielu substancji (dereń i jagoda kameczacka) oraz substancje czyste (hesperydyna i fisetyna). Jakie są zalety i wady stosowania złożonych układów i substancji chemicznie czystych?
- 2) Czy znane są ogólnoświatowe trendy? Czy może Doktorant wskazać, które z podejść powinno być rozwijane?
- 3) Jakie czynniki mogą wpływać na skład mikrobioty?
- 4) Proszę ustosunkować się do badań prowadzonych na zwierzętach w porównaniu z bezpośrednim oddziaływaniem substancji czynnych na komórki. Układ *in vivo* a *in vitro*.

- 5) Czy badane substancje czynne można w pełni rekomendować jako substancje odbudowujące komórki centralnego układu nerwowego?

Wniosek końcowy. Zwracam się do Kapituły Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne mgr. farm. Szymonowi Sipowi. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.).

Ze względu na opracowanie bardzo szerokiej problematyki związanej możliwością modyfikacji mikrobiomu jelitowego poprzez systemy dostarczania naturalnych związków bioaktywnych i wybranych substancji ze zwiększoną biodostępnością w modelach chorób cywilizacyjnych, zgłaszam wniosek o wyróżnienie rozprawy. Rozprawa powstała w oparciu o pięć publikacji, w których Szymon Sip jest pierwszym autorem, na uwagę zasługuje ponadto cytowanie prac: 1) **Sip S**, Szymanowska D, Chanaj-Kaczmarek J, Skalicka-Woźniak K, Budzyńska B, Wronikowska-Denysiuk O, Słowik T, Szulc P, Cielecka-Piontek J. *Potential for Prebiotic Stabilized Cornus mas L. Lyophilized Extract in the Prophylaxis of Diabetes Mellitus in Streptozotocin Diabetic Rats. Antioxidants* (Basel). 2022; 11(2): 380. IF 7,0, MNiSW 100, cytowania 13; 2) **Sip S**, Sip A, Szulc P, Cielecka-Piontek J. *Haskap Berry Leaves (Lonicera caerulea L.)-The Favorable Potential of Medical Use. Nutrients*. 2022; 14(19): 3898. IF 5,9, MNiSW 140, cytowania 7; 3) **Sip S**, Sip A, Szulc P, Selwet M, Żarowski M, Czerny B, Cielecka-Piontek J. *Exploring Beneficial Properties of Haskap Berry Leaf Compounds for Gut Health Enhancement. Antioxidants* (Basel). 2024; 13(3): 357. IF 7,0, MNiSW 100, cytowania 0; 4) **Sip S**, Sip A, Miklaszewski A, Żarowski M, Cielecka-Piontek J. *Zein as an Effective Carrier for Hesperidin Delivery Systems with Improved Prebiotic Potential. Molecules*. 2023; 28(13): 5209. IF 4,6, MNiSW 140, cytowania 7; 5) **Sip S**, Rosiak N, Sip A, Żarowski M, Hojan K, Cielecka-Piontek J. *A Fisetin Delivery System for Neuroprotection: A Co-Amorphous Dispersion Prepared in Supercritical Carbon Dioxide. Antioxidants* (Basel). 2023; 13(1): 24. IF 7,0, MNiSW 100, cytowania 3. Łączny IF wynosi 31,5, liczba punktów ministerialnych 580, a liczba cytowań 30, co uważam za bardzo duże osiągnięcie uzasadniające wniosek o wyróżnienie rozprawy. Opublikowanie pięciu prac z pierwszym autorstwem wchodzi w zakres osiągnięcia naukowego na poziomie habilitacji.



Prof. dr hab. n. med. Ryszard Słomski

Poznań, 6.06.2024 r.