

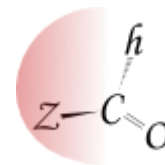


**Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej**

**Katedra Chemii Organicznej**

ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa

tel.: +48 22 234 7572; e-mail: stan@ch.pw.edu.pl



Warszawa, 14 listopada, 2019 r.

Stanisław Ostrowski  
Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska  
ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa

**Recenzja osiągnięć Pani doktor inżynier Edyty ŁUKOWSKIEJ–CHOJNACKIEJ  
ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego  
w dziedzinie nauk chemicznych**

Dr inż. **Edyta Łukowska–Chojnacka** jest absolwentką Politechniki Warszawskiej (Wydział Chemiczny, kierunek: *Biotechnologia*; 1998–2003). Pracę magisterską na temat "Próby enzymatycznego rozdziału mieszanin racemicznych tiocyjanohydryn" przygotowała pod kierunkiem prof. dr. hab. inż. Jana Plenkiewicza i obroniła w roku 2003 na Wydziale Chemicznym PW. Pracę doktorską "Otrzymywanie optycznie czynnych  $\beta$ -hydroksytiocyjanianów z zastosowaniem katalizy enzymatycznej i ich przekształcanie w tiirany" obroniła z wyróżnieniem na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej w roku 2008. Promotorem w przewodzie doktorskim był prof. dr. hab. inż. Jan Plenkiewicz (PW).

Od 2008 roku jest zatrudniona na macierzystym Wydziale (aktualnie w Katedrze Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków; jako adiunkt mianowany). W okresie przygotowywania doktoratu odbyła krótkoterminowy dwumiesięczny staż naukowy w Université Paris-Sud XI, Laboratory of Bioorganic Chemistry, Orsay; Francja, 2003.

Dr inż. E. Łukowska–Chojnacka jest autorką (bądź współautorką) 20 publikacji naukowych (na dzień składania Wniosku habilitacyjnego): 4 ukazało się przed uzyskaniem stopnia doktora, a 16 po uzyskaniu stopnia doktora. Wśród tych ostatnich znajduje się 11 publikacji, które zostały zaliczone do habilitacyjnych. Prace były publikowane w dobrych i bardzo dobrych czasopismach, legitymujących się wskaźnikiem *Impact factor* w przedziale: od 0.685 (*Journal of Heterocyclic Chemistry*) do 4.816 (*European Journal of Medicinal Chemistry*). Sumaryczny *Impact factor* dla wyżej wymienionych publikacji wynosi 49.802, liczba cytowań – 118, indeks Hirscha – 6 (bez autocytowań; dane w/g bazy Scopus®). Na uwagę zasługuje korzystna dynamika zmian tych wskaźników. Na przykład, ostatnia praca z tego roku była już zacytowana cztery razy. Udziały Autorki w 'artykułach habilitacyjnych' (w/g oświadczeń współautorów) zawierają się w przedziale 30–90%.

Z innych osiągnięć należy odnotować, że dr Łukowska–Chojnacka uczestniczyła w trzech projektach badawczych: (a) POIG.01.03.01-00-158/09, Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego – Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka (2010–2015, jako wykonawca); (b) 2011/01/B/ST5/00849, NCN (2011–2014, jako wykonawca); (c) 2014/13/B/NZ7/02273, NCN (2015–2019, jako wykonawca).

Aktywność naukową Kandydatki widać, w mniejszym lub większym stopniu, w każdym obszarze działalności. Czynnie bierze udział w pracach Wydziału – w ramach różnych komisji i zespołów powoływanych przez Dziekana. Niejednokrotnie pełniła funkcję przewodniczącej. Od ośmiu lat jest samodzielnym pełnomocnikiem Dziekana d/s programów międzynarodowych (w tym wymiany międzynarodowej studentów).

Ma w dorobku nagrody (zarówno przed, jak i po uzyskaniu stopnia doktora), była stypendystką PW dla młodych naukowców, wygłaszała referaty (nagradzane) objęte

powyższym programem. Brała czynny udział w międzynarodowych i krajowych sympozjach naukowych. Jest współautorką 16 doniesień konferencyjnych (cztery referaty ustne). Ponadto, wypromowała 13 prac inżynierskich i 14 prac magisterskich. W obu przypadkach wcześniej po dwa razy była także opiekunem. I na koniec, należy odnotować długą i urozmaiconą listę zajęć dydaktycznych dla studentów, przygotowanych i realizowanych przez Kandydatkę. Jest to niejako wpisane w charakter pracy.

Zdarzyło się Habilitantce recenzować nadesłane do druku artykuły dla renomowanych czasopism międzynarodowych (w tym dla *European Journal of Medicinal Chemistry*). Tę część aktywności naukowej, dydaktycznej i promocyjnej oraz udział w merytorycznym opiniowaniu (recenzowanie) oceniam bardzo dobrze.

Związki heterocykliczne, w tym pochodne tetrazolu, triazolu i imidazolu (w obszarze których umiejscowione jest odkrycie Autorki), występują w wielu produktach naturalnych. Wykazują różnorodną aktywność biologiczną i farmaceutyczną. Mają też bardzo szerokie zastosowania praktyczne, tak w syntezie, jak i w różnych aplikacjach, na przykład medycznych (są wszechobecne w znanych oraz we wprowadzanych na rynek środkach farmaceutycznych). Ponadto, stanowią elementy strukturalne w chemii koordynacyjnej i katalizie, oraz w chemii nowych materiałów (organiczne półprzewodniki, ciecze jonowe, ciekłe kryształy, materiały do produkcji fotoluminescencyjnych diod organicznych). Ostatnio, pochodne imidazolu stały się hitem w badaniach i produkcji elektrolitów stosowanych w bateriach do napędzania samochodów elektrycznych.

Związki heterocykliczne w ogromnej większości są aktywne biologicznie. Wiadomo z literatury, że ich wzajemne połączenia zwykle wzmagają aktywność. Heterocykle z pierścieniem tetrazolu pojawiają się w strukturze wielu leków, inhibitorów enzymów oraz związków mających właściwości: przeciwbólowe, przeciwzapalne, przeciwalergiczne, przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. W prezentowanym cyklu publikacji badaniom biologicznym szczególnie tych ostatnich właściwości poświęcono sporo uwagi, ze względu – jak pisze Autorka – na nieustannie rosnącą ilość groźnych infekcji powodowanych przez różne rodzaje grzybów (typu workowców). Pochodne benzoimidazolu są podstawowymi fragmentami rozlicznych czynników przeciwnowotworowych (na białaczkę, raka piersi). Obserwowano, że pochodne halogenowane (które były przedmiotem badań w kilku publikacjach tego cyklu) są inhibitorami kinazy proteinowej CK2 – enzymu kontrolującego prawie wszystkie funkcje komórkowe. Niestety, w stanach patologicznych jej działanie znacząco się wzmacnia, na przykład w komórkach nowotworowych, i bierze ona udział w rozwoju choroby.

Reasumując, wybór tematyki badawczej przez Autorkę (związki heterocykliczne w połączeniu z ukierunkowanymi badaniami biologicznymi) jest uzasadniony. Warto zauważyć, że poszukiwanie pożądaných bioaktywných układów docelowych jest żmudne, niepewne i często niedoceniane. Dlatego ci, którzy podejmują ten wysiłek, zasługują na uznanie i szacunek. Nakreślony wyżej obszar definiuje platformę badawczą. Dokonanie odkrycia to już zupełnie inna historia. By sformułować wnioski, konieczne będzie krótkie omówienie poszczególnych prac.

Pierwsza praca (**H1**; *Tetrahedron: Asymmetry*, 2012) dotyczy rozdzielenia enancjomerów alkoholi, otrzymanych z 5-arylo-podstawionych tetrazoli w dwuetapowym przekształceniu: (a) addycja Michaela wyżej wymienionych do metylo-winylo ketonu i (b) następcza redukcja borowodorkiem sodu ( $\text{NaBH}_4$ ) w metanolu. Mieszaniny racemiczne rozdzielano, poddając je reakcji enzymatycznego acetylowania wobec trzech osiągalnych handlowo lipaz (jeden enancjomer reagował, drugi pozostawał w mieszaninie). Alternatywną drogę syntezy (zamiast etapu addycji Michaela) stanowiło bezpośrednio alkilowanie pierścienia tetrazolo-

wego za pomocą chloroacetonu. Konfiguracja absolutna *R/S* docelowych estrów i alkoholi (otrzymanych z tych estrów) została określona zmodyfikowaną metodą Moshera. Wpływ podstawników na etapie reakcji enzymatycznej jest widoczny, ale trudno mówić o jakiejś ogólnej zależności, ponieważ badania dotyczą trzech przykładów. W końcu, najlepszą enancjoselektywność w reakcjach acetylowania Autorka osiągnęła dla alkoholu, który miał w pierścieniu heteroaromatycznym, w pozycji 5-, przyłączony pierścień fenylowy, niepodstawiony dodatkowymi grupami funkcyjnymi.

W następnej pracy (**H2**; *Chirality*, 2014) Habilitantka zastosowała podejście odwrotne. Prowadziła katalizowaną lipazą enancjoselektywną hydrolizę octanów, zawierających w 'części alkoholowej' pierścień tetrazolu, który jest tutaj strukturalnym motywem wiodącym. Otrzymała odpowiednie propan-2-ole (wyodrębniane jako jeden enancjomery) i estry (drugi enancjomery) z wysoką czystością optyczną (*ee*: 95-98%) i bardzo dobrą enancjoselektywnością (*E* > 100). Najlepsze wyniki dla tego kinetycznego rozdziału racematów dała lipaza *SP Novozyme 435*. Autorka badała kilka pochodnych tetrazolu. Warto by było dodać dlaczego akurat taki, a nie inny zestaw podstawników był stosowany.

Powyższe pochodne były poddane testom na aktywność przeciwdrobnoustrojową dla serii pięciu bakterii i pięciu grzybów. Nie obserwowano aktywności dla bakterii, natomiast zarówno racematy, jak i czyste enancjomery, wykazywały umiarkowaną aktywność przeciwgrzybiczą. Wstępnie dało się ustalić, że pierścień fenylowy, przyłączony do tetrazolu i podstawiony w pozycji 4- atomem chloru, oraz dłuższy łącznik węglowy pomiędzy tetrazolem a grupą OH, najkorzystniej wpływały na aktywność. Wątek ten był kontynuowany w publikacji *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2015 (**H3**), gdzie badano szczegółowo aktywność wobec grzyba drożdżaka bielnika białego (*Candida albicans*). Standardem porównawczym był antybiotyk przeciwgrzybiczy *Amfoterycyna B*, dla której obserwuje się 100% inhibicji wzrostu badanego grzyba.

Efekt podstawnika i miejsca podstawienia nie jest wyrazisty (raz jeden związek działał lepiej, innym razem drugi). Podobnie było z długością 'spacera' pomiędzy tetrazolem a grupą funkcyjną – dla OH inaczej, dla OAc inaczej. Najefektywniej inhibowała wzrost grzybnia pochodna estrowa związku z *orto*-chlorofenylem z jednej strony (w pozycji 5-) i łańcuchem hydroksyalkilowym z drugiej (w pozycji 2-, z grupą OH oddaloną od pierścienia tetrazolu o jedną jednostkę metylenową). Stwierdzono, że grupa OH (OAc) w pierwszej kolejności odpowiada za aktywność i rozpuszczalność badanego produktu. Kandydatka ma nadzieję, że może on spełnić rolę związku wiodącego w poszukiwaniu doskonalszych połączeń heterocyklicznych o działaniu przeciwgrzybiczym.

W publikacji *J. Heterocycl. Chem.*, 2015 (**H4**) Autorka przechodzi do badań pochodnych benzoimidazolu. Opracowała metodę otrzymywania polibromo-podstawionych związków, zawierających dodatkowo jednostkę *N*-(3-aminoalkilową). Kluczowym etapem w odniesieniu do wydajności była tu reakcja alkilowania amin chlorkiem alkilowym sfunkcjonalizowanym 'polibromobenzoimidazolem'. Habilitantka zaobserwowała, że dodając jodek potasu (KI) można uzyskać znacznie lepsze wyniki. Szkoda, że nie ma choćby zdania komentarza dlaczego tak się dzieje. A daje się to łatwo wytłumaczyć.

Domknięcie powyższych badań, dotyczących benzoimidazolo- i tetrabromobenzoimidazolo- pochodnych (synteza i poszerzone badania biologiczne), zostało opisane przez Autorkę w *Chirality*, 2016 (**H5**) dla grzyba *Candida albicans*. Badała różne czynniki: lipazy (*lipozyme*, *Novozyme SP 435*, *Amano AK*, *Amano PS*, *Amano PS-TM*), reakcje w różnych rozpuszczalnikach (eter *tert*-butyloowo-metylowy (TBME), toluen, Et<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, THF). Przy rozdzielaniu enancjomerów najlepiej sprawdziły się lipazy: *Novozyme 435* (dla hydrolizy) i *Amano AK* (dla estryfikacji); a badane związki wykazywały dobrą aktywność przeciwgrzybiczą wobec groźnego dla ludzi *Candida albicans 900028 ATCC*.

W kolejnych publikacjach środek ciężkości prac przesuwają się w kierunku badań aktywności biologicznej, chociaż nadal obejmują one także syntezę. Ciągłe jesteśmy w obszarze tych samych związków heterocyklicznych, ale Habilitantka włącza nowe elementy. Pojawiają się benzoksazole i pochodne cyjanoalkilowe tetrabromo-1*H*-benzoimidazolu (TBBi), jest powrót do tetrazoli. Są też cenne obserwacje dotyczące: (a) inhibicji CK2 przez otrzymane pochodne TBBi, (b) roli związków cyjanoalkilowych w skutecznym inhibowaniu fosforylowania czynnika transkrypcyjnego p65 dla rakowych linii komórkowych (c) badania cytotoksyczności produktów, (d) stwierdzenia, że pochodne polibromowe benzoimidazolu wykazują większą aktywność w porównaniu ze związkami macierzystymi (do 20 razy),

Jest to ogromna praca poznawcza. Nie ulega wątpliwości, że dr inż. Łukowska-Chojnacka była animatorką wszystkich badań (w większości przypadków jest autorem korespondującym, zajmowała się dobozem i koordynacją prac). Świadczy to o jej samodzielności i biegłości w prowadzeniu studiów nad syntezą i aktywnością biologiczną. Niektóre obszary badań szczegółowych *in vitro* dla recenzenta-chemika stanowią swoistego rodzaju novum poznawcze, np. aktywność hamująca przeciwko kinazie białkowej rhCK2 $\alpha$ , czy cytotoksyczność przeciwko rakowym liniom komórkowym CCRF-CEM (białaczka) i MCF-7 (rak piersi). O umiejętności organizacji i prowadzenia współpracy przez Kandydatkę świadczy jeszcze jeden fakt. W krótkim czasie wypromowała blisko 30 prac dyplomowych.

Muszę się jednak odnieść także do pewnych nieścisłości i błędów w prezentowaniu danych spektralnych i eksperymentalnych. W publikacjach przytrafiały się Autorce różne potknięcia. Niestety, winę niejednokrotnie ponoszą w takich przypadkach zarówno recenzenci (którzy sugerują określone niepoprawne zapisy), jak i Redakcje czasopism, które na to przyzwalają (lub zalecają). Nie zwalnia to recenzenta niniejszego wniosku habilitacyjnego z oceny opublikowanego już materiału, zwłaszcza, że ostatnio jakość recenzowania prac w czasopismach znacznie się obniżyła.

Podaję tylko przykłady; nie są to przypadki odosobnione. Stałe *J* w rezonansie  $^1\text{H}$  NMR zwykle podaje się z dokładnością 0.1 Hz. Dokładność 1 Hz jest niewystarczająca (np. związki **3a-3c** i **4c**, s. 140; publ. **H1**; związek **2**, s. 843; publ. **H4**). Z kolei dla  $^{13}\text{C}$  NMR przesunięcia chemiczne opisuje się z dokładnością 0.1 Hz (nie 0.01 Hz) (publ. **H1**). To samo dotyczy publ. **H2** i kolejnych (np. **4d**, s. 812). Generalnie, dokładności i rachunek błędów w całym cyklu publikacji stanowią odrębną kwestię, np. 0.51 g związku **2** nie jest równe 1 mmol, tylko 1.00 mmol (publ. **H4**, s. 843).

Wyniki większości pomiarów MS podawane z dokładnością 0.0001 (publ. **H1**) trudno uznać za pomiary wysokiej rozdzielczości (błędy byłyby ogromne), więc należało je przedstawiać inaczej. W publ. **H6** jest napisane wprost, że wzory molekularne produktów potwierdzono pomiarami HRMS. Łatwo można stwierdzić (po obliczeniu mas teoretycznych), że nie mogą być one traktowane jako pomiary wysokiej rozdzielczości HR.

Dla związku **4a** (publ. **H2**, s. 812) w opisie widma  $^1\text{H}$  NMR tylko raz podano wartość stałej sprzężenia protonów grupy  $\text{CH}_2$  (brak stałej  $J_{\text{AB}}$ , dla przesunięcia 4.68 ppm). W tej samej pracy dla niektórych związków dla dwóch protonów AB grupy metylenowej są podawane po cztery przesunięcia chemiczne. Związkowi **3d** przypisano za dużo protonów aromatycznych. W przypadku wszystkich związków opisanych w publikacji *Chirality*, 2016 (**H5**) podano, że widma  $^1\text{H}$  NMR zarejestrowano na aparacie o częstotliwości podstawowej 400 Hz. Jest to oczywisty 'błąd kopiowania'. Przepis dla związku **4a**, s. 843 (publ. **H4**), od momentu ekstrakowania produktu jest przedstawiony niepoprawnie.

Poza tym, dokumentacja związków jest zrobiona bardzo skrupulatnie. Szkoda, że Autorka nie zawsze korzystała z analizy elementarnej, która jest najpewniejszym kryterium oceny czystości produktu. Prezentowane wyniki mikroanaliz są zadziwiająco dokładne. Jest

to raczej ewenement w obszarze związków heterocyklicznych, zwłaszcza ze znaczną zawartością azotu.

Co jest znamienne w przygotowanym przez Autorkę cyklu publikacji i w całym wniosku habilitacyjnym? Odnosi się wrażenie, że gromadzenie dorobku było przemyślane, nie wzięło się z przypadku. Kandydatka konsekwentnie dążyła do celu, a cały dorobek jest pokąźny. Szkoda, że nie pojawił się w nim jakiś samodzielny artykuł przeglądowy. Jeszcze większa szkoda, że Kandydatka nie odbyła długoterminowego stażu naukowego.

W cyklu publikacji jest wątek syntetyczny i równoległy wątek badań biologicznych. Na pierwszy rzut oka oba mogą wydawać się rutynowe (niezbyt złożona chemia, raczej typowy warsztat badań). Prawda jest nieco inna, bo już otrzymane związki są nietrywialne (ciekawe połączenia heterocykliczne, w których każdy z elementów wykazuje aktywność biologiczną). Podobnie jest z badaniami. Trzeba na nie spojrzeć przez pryzmat uzyskanych wyników. Ale według recenzenta najcenniejszy element opisanego odkrycia jest pomiędzy tymi obszarami. To kinetyczny rozdział racematów dla różnych związków heterocyklicznych (alkoholi) w procesach hydrolizy lub enancjoselektywnego acetylowania, katalizowanych lipazami. Autorka zaproponowała dwa bardzo dobre stereoselektywne katalizatory dla poszczególnych procesów (*Novozyme SP 435, Amano AK*). Jest to istotne osiągnięcie.

W opinii recenzenta Kandydatka jest przygotowana do samodzielnej pracy naukowej i zapewne będzie zdolna do zorganizowania zespołu, bo te umiejętności już zdążyła zademonstrować dotychczas. Uwzględniając wszystkie diskutowane w niniejszej recenzji elementy, stwierdzam że Pani dr inż. **Edyta Łukowska-Chojnacka** spełnia wymogi określone w Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym i wnioskuje do Komisji o dalsze procedowanie w Jej przewodzie habilitacyjnym.

