



**WYDZIAŁ BIOLOGII  
i OCHRONY  
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

Dr hab. Ewa Gajewska, prof. UŁ  
Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź  
e-mail: ewa.gajewska@biol.uni.lodz.pl

**Recenzja osiągnięcia naukowego, pozostałego dorobku naukowego oraz działalności dydaktycznej, popularyzatorskiej i organizacyjnej dr Ewy Kochan w związku z ubieganiem się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk farmaceutycznych**

Podstawę wykonania recenzji stanowi decyzja Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów z dnia 10.06.2019 r., wyznaczająca mnie jako recenzenta w Komisji Habilitacyjnej w postępowaniu dr Ewy Kochan, przekazana, wraz z dokumentacją, przez Dziekana Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi prof. dr hab. Darię Orszulak-Michalak pismem z dnia 25 czerwca 2019 r.

**Podstawowe informacje o Habilitantce i uwagi ogólne**

Pani dr Ewa Kochan jest absolwentką Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego, gdzie w 1994 r. otrzymała tytuł magistra biologii. Pracę magisterską pt. „Wpływ kwasu salicylowego i zakażeń *Botrytis cinerea* na zawartość fenoli i aktywność peroksydazy w liściach truskawki namnażanych techniką *in vitro*” wykonała w Katedrze Fizjologii i Biochemii Roślin UŁ pod opieką prof. dr hab. Henryka Urbanka. Stopień doktora nauk farmaceutycznych uzyskała w 2004 r. na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w oparciu o rozprawę doktorską pt. „Hodowla *in vitro* i badania fitochemiczne *Panax quinquefolium*” wykonaną w Zakładzie Biosyntezy Środków Leczniczych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem prof. dr hab. Aleksandra Chmiela.

Zawodową pracę naukową dr Ewa Kochan rozpoczęła w 1996 r. jako asystent w Samodzielnej Pracowni Biosyntezy Środków Leczniczych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (później przemianowanej na Zakład Biotechnologii Farmaceutycznej). Od 2012 r. do chwili obecnej jest

adiunktem w Zakładzie Biotechnologii Farmaceutycznej UM w Łodzi. Obecnie ubiega się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk farmaceutycznych, a postępowanie przeprowadza Rada Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Stwierdzam, że nadesłana dokumentacja jest kompletna i od strony formalnej zostały spełnione wszystkie wymogi niezbędne do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, zgodnie z obowiązującymi regulacjami prawnymi określonymi w art. 26 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789) i zawartych w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 roku § 19 ust.3 w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. z 2018, poz.261).

### **Ocena dorobku stanowiącego treść osiągnięcia naukowego**

Na osiągnięcie naukowe dr Ewy Kochan składa się monotematyczny cykl 7 prac zatytułowany „Optymalizacja warunków hodowli i biosyntezy ginsenozydów w kulturach korzeni transformowanych żeńszenia północnoamerykańskiego, prowadzonych w kolbach wstrząsanych i bioreaktorze rozpyłowym”. Wszystkie prace z cyklu to współautorskie prace oryginalne. Zgodnie z oświadczeniami Habilitantki i współautorów Jej wkład w powstanie publikacji tworzących cykl wynosi **70-85%**. Doktor Ewa Kochan była autorem koncepcji badawczych zaprezentowanych prac, zaplanowała ich część eksperymentalną, współuczestniczyła w wykonywaniu analiz, a ponadto opracowała otrzymane wyniki i przygotowała manuskrypty do druku. Na uwagę zasługuje fakt, że we wszystkich pracach Habilitantka jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym. Świadczy to jednoznacznie, że wkład dr Ewy Kochan w przedstawione osiągnięcie naukowe był dominujący. Warto podkreślić jest to, że wszystkie prace z cyklu ukazały się w uznanych w środowisku naukowym czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR), o wartości IF między 1,305 a 3,849, których **sumaryczny IF wynosi 17,985, a suma punktów MNiSW 205** (zgodnie z rokiem ukazania się publikacji). W sumie prace te cytowane były 54 razy (wg Scopus, dane z dnia 12.08.2019 r.). Biorąc pod uwagę, że większość prac stanowiących osiągnięcie naukowe pochodzi z bardzo niedawnego okresu (5 prac z lat 2016-2019), należy się spodziewać, że liczba ich cytowań w przyszłości istotnie wzrośnie.

Osiągnięcie naukowe dr Ewy Kochan dotyczy wykorzystania kultur korzeni transformowanych żeńszenia północnoamerykańskiego (*Panax quinquefolium*) do produkcji metabolitów wtórnych. Ten pochodzący z kontynentu północnoamerykańskiego gatunek od wieków wykorzystywany jest do celów leczniczych. Znany jest z wielokierunkowego korzystnego oddziaływania na metabolizm człowieka i jego wydolność psychofizyczną. W tkankach żeńszenia, głównie w jego korzeniu, występuje ponad 200 związków wykazujących aktywność biologiczną, z których najważniejszą grupę stanowią ginsenozydy należące do grupy saponin triterpenowych. Większość ginsenozydów żeńszenia jest pochodnymi 20(S)-protopanaksadiolu lub 20(S)-protopanaksatriolu.



Ze względu na duże zapotrzebowanie na surowiec do produkcji preparatów leczniczych z żeńszenia północnoamerykańskiego, przy braku możliwości pozyskiwania go ze stanowisk naturalnych i wysokich kosztach uprawy polowej, poszukuje się alternatywnych źródeł jego otrzymywania. Możliwość wydajnej produkcji ginsenozydów w kontrolowanych warunkach dają kultury *in vitro*, zwłaszcza kultury korzeni transformowanych, które w przeciwieństwie do kultur zawiesin komórkowych, nie wymagają do wzrostu dodatku hormonów. Zaletami kultur korzeni transformowanych są także szybki przyrost biomasy, stabilność genetyczna oraz stosunkowa łatwość zmiany skali produkcji metabolitów z laboratoryjnej na przemysłową.

W związku z powyższym Habilitantka jako pierwsza podjęła się wyprowadzenia kultur korzeni transformowanych żeńszenia północnoamerykańskiego (*Panax quinquefolium*), optymalizacji warunków, zarówno ich wzrostu jak i syntezy ginsenozydów w tych kulturach. Prace wskazane jako osiągnięcie naukowe, poza uzyskaniem korzeni transformowanych żeńszenia północnoamerykańskiego, obejmowały charakterystykę ich wzrostu, optymalizację składu podłoża, zwłaszcza zawartości sacharozy, azotu i fosforu, identyfikację produkowanych przez nie ginsenozydów oraz opracowanie warunków dla ich wydajnej biosyntezy. Ponadto, prowadzone przez dr Ewę Kochan badania miały na celu izolację i charakterystykę promotorów wybranych genów kodujących kluczowe enzymy biorące udział w biosyntezie ginsenozydów, intensyfikację produkcji tych związków za pomocą elicytorów a także opracowanie warunków dla zwiększenia skali hodowli korzeni transformowanych żeńszenia północnoamerykańskiego i wytwarzanych przez nie metabolitów wtórnych w bioreaktorze rozpyłowym. Wykonując badania ujęte w pracach wchodzących w skład cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe Habilitantka korzystała z nowoczesnych metod biotechnologicznych, molekularnych i fitochemicznych.

Proces otrzymywania korzeni transformowanych żeńszenia północnoamerykańskiego został opisany w pierwszej pracy cyklu (**publikacja H1**). Transformację korzeni a także skuteczność eliminacji bakterii *Agrobacterium rhizogenes* z kultur potwierdzono z zastosowaniem metody PCR. Po wybraniu do dalszych doświadczeń jednej z otrzymanych linii korzeni transformowanych *P. quinquefolium* Habilitantka zbadała dynamikę przyrostu biomasy kultur korzeni oraz, wykorzystując metodę HPLC, scharakteryzowała pod względem jakościowym i ilościowym produkowane przez nie ginsenozydy, zwracając uwagę na dynamikę ich biosyntezy w czasie trwania hodowli. Wykazała, że kultury korzeni wytwarzały 6 różnych metabolitów z grupy ginsenozydów a maksymalne sumaryczne ich stężenie stwierdziła między 30 a 45 dniem hodowli.

Kolejny etap pracy z otrzymanymi kulturami korzeni był poświęcony optymalizacji warunków ich wzrostu i warunków dla wydajnej biosyntezy ginsenozydów. Wyniki tych badań dr Ewa Kochan opisała w **publikacjach H1-H3**. Modyfikacja składu podłoża dotyczyła stężenia sacharozy, stężenia i formy azotu oraz zawartości fosforanów. Habilitantka stwierdziła, że spośród siedmiu przetestowanych stężeń sacharozy najlepiej na przyrost świeżej biomasy wpływała dawka  $30 \text{ g L}^{-1}$ , natomiast największy przyrost suchej masy następował przy stężeniu  $50 \text{ g L}^{-1}$ . Stężenie sacharozy  $30 \text{ g L}^{-1}$  okazało się również optymalne dla wydajnej biosyntezy większości ginsenozydów w kulturach korzeni transformowanych *P. quinquefolium*. Badania dotyczące ilości i formy azotu obecnej w podłożu hodowlanym wykazały, że dla wydajnego wzrostu korzeni bardzo istotna jest



obecność w pożywce zarówno jonów azotanowych jak i amonowych, natomiast ogólna zawartość tego pierwiastka wydaje się mieć mniejsze znaczenie. Najlepsze rezultaty, jeśli chodzi o przyrost biomasy, uzyskano z zastosowaniem wariantów podłoży, w których stosunek stężenia jonów azotanowych do amonowych wynosił 24,8 : 1. Odpowiednie stężenia tych jonów okazały się również istotne dla syntezy saponin żeńszenia. Przy zmianach stosunku ilościowego obydwu tych form azotu obserwowano różną intensywność syntezy poszczególnych metabolitów. Habilitantka wykazała, że najlepiej na wydajność syntezy ogólnej puli ginsenozydów wpływa obniżenie zawartości  $\text{NO}_3^-$  i  $\text{NH}_4^+$  do połowy ich ilości występującej w standardowym podłożu Gamborga (B 5). Badania nad modyfikacją podłoża pod kątem zawartości fosforanów doprowadziły do stwierdzenia, że najbardziej optymalne dla przyrostu biomasy korzeni transformowanych *P. quinquefolium* jest stężenie 1,65 mM  $\text{PO}_4^{3-}$ . Z kolei najwydajniejszą syntezę całkowitej puli ginsenozydów stwierdzono przy stężeniu 0,83 mM.

Na podstawie otrzymanych wyników Habilitantka, przed przystąpieniem do kolejnych etapów badań, zdecydowała się na modyfikację standardowego składu podłoża Gamborga obniżając o połowę zawartość jonów  $\text{NO}_3^-$  i  $\text{NH}_4^+$  oraz zmniejszając stężenie  $\text{PO}_4^{3-}$  do wartości 0,83 mM. Sacharoza dodawana była do pożywki w ilości 30 g L<sup>-1</sup>.

Równoległe z prowadzeniem kultur korzeni transformowanych *P. quinquefolium* w kolbach Erlenmeyera dr Ewa Kochan testowała również możliwość ich hodowli na większą skalę, z zastosowaniem bioreaktora rozpyłowego, w którego zaprojektowaniu i wykonaniu wydatny udział miał ówczesny kierownik macierzystej jednostki Habilitantki, prof. dr hab. Aleksander Chmiel. Przyrost biomasy korzeni transformowanych hodowanych w bioreaktorze był jednak niższy w porównaniu z korzeniami hodowanymi tradycyjnie we wstrząsanych kolbach Erlenmeyera. Hodowla korzeni w bioreaktorze wpłynęła natomiast korzystnie na syntezę saponin żeńszenia północnoamerykańskiego, około dwukrotnie zwiększając wydajność ich produkcji. Tak jak w przypadku kultur korzeni prowadzonych w kolbach Habilitantka zbadała również wpływ różnych stężeń sacharozy oraz zmodyfikowanych na podstawie wyników wcześniejszych doświadczeń stężeń jonów  $\text{NO}_3^-$  i  $\text{NH}_4^+$  oraz  $\text{PO}_4^{3-}$  na syntezę ginsenozydów w korzeniach transformowanych z hodowli bioreaktorowych.

Po dokonaniu optymalizacji składu podłoża hodowlanego dr Ewa Kochan podjęła próby intensyfikacji produkcji ginsenozydów przez kultury korzeni transformowanych *P. quinquefolium* poprzez zastosowanie elicytorów. Wyniki badań z tego zakresu zostały przedstawione przez Habilitantkę w **publikacjach H4-H7**. Jako elicytory zostały wybrane: ekstrakt drożdżowy, *trans*-anetol, jasmonian metylu i kwas abscysynowy. Na podkreślenie zasługuje pionierskie zastosowanie *trans*-anetolu w celu intensyfikacji biosyntezy metabolitów wtórnych w roślinnych kulturach *in vitro*. Związek ten, będący składnikiem olejków eterycznych roślin z rodziny *Apiaceae* nie był wcześniej wykorzystywany jako elicytor.

Przeprowadzone przez dr Ewę Kochan badania wykazały, że poszczególne elicytory do wywołania wydajnej syntezy ginsenozydów wymagały innego czasu oddziaływania na kulturę korzeni transformowanych *P. quinquefolium*. O ile *trans*-anetol, ekstrakt drożdżowy i jasmonian metylu najlepiej stymulowały akumulację tych metabolitów po stosunkowo krótkim czasie



ekspozycji, odpowiednio 1, 3 i 7 dni, to kwas abscysynowy najskuteczniej działał po dłuższym, 28-dniowym traktowaniu. Spośród testowanych związków najlepszy efekt, biorąc pod uwagę sumaryczną zawartość ginsenozydów w kulturze korzeni, uzyskano po zastosowaniu jasmonianu metylu, który wywołał 3-krotnie większą, w porównaniu z kontrolą, akumulację tych metabolitów. Uwzględniając okres czasu potrzebny do wywołania wydajnej produkcji ginsenozydów, obiecującym elicytorem okazał się *trans*-anetol, który już po 1 dniu traktowania spowodował 2-krotny wzrost zawartości tych metabolitów. Jednak warto zwrócić uwagę, że poszczególne ginsenozydy charakteryzowały się różną wrażliwością na działanie elicytorów. Dobrym przykładem takiego selektywnego działania elicytorów może być obserwowany przez Habilitantkę ponad 17-krotny wzrost stężenia ginsenozydu Rg2 po 28-dniowej ekspozycji korzeni na kwas abscysynowy zastosowany w dawce  $1 \text{ mg L}^{-1}$ , podczas gdy całkowita zawartość ginsenozydów była podwyższona w tym czasie zaledwie o kilkanaście procent.

Skuteczność działania wybranych elicytorów, tj. jasmonianu metylu i ekstraktu drożdżowego Habilitantka przetestowała również na kulturach *P. quinquefolium* prowadzonych w bioreaktorze. W tym układzie doświadczalnym obydwie zastosowane związki wywołały lepszy efekt stymulujący na syntezę całkowitej puli ginsenozydów, w porównaniu do kultur korzeni hodowanych w kolbach Erlenmeyera.

Jednym z najciekawszych aspektów osiągnięcia naukowego dr Ewy Kochan jest włączenie do warsztatu badawczego nowoczesnych technik biologii molekularnej. Wyniki badań z tego zakresu zostały zamieszczone w **publikacjach H6 i H7**. Prace obejmowały izolację, zsekwencjonowanie i scharakteryzowanie promotorów 2 genów kodujących kluczowe enzymy uczestniczące w szlaku syntezy ginsenozydów: reduktazę 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A (HMGR), wpływającą na syntezę saponin żeńszenia poprzez regulację syntezy mewalonianu oraz syntazę skwalenu (SSq) katalizującą syntezę głównego prekursora w biosyntezie triterpenów. Badania te zaowocowały zgłoszeniem sekwencji nukleotydowej promotorów genów *HMGR* i *Ssq* do GenBanku. W obydwu promotorach Habilitantka zidentyfikowała sekwencje regulatorowe wrażliwe na działanie elicytorów. W obrębie promotora genu *HMGR* obecny był między innymi element ABRE (TACGTG) zaangażowany w odpowiedź rośliny na działanie kwasu abscysynowego, natomiast promotor genu *Ssq* zawierał element CGTCA biorący udział w odpowiedzi rośliny na działanie jasmonianu metylu. Uzyskane wyniki sugerowały, że zastosowanie wymienionych elicytorów jako potencjalnych regulatorów ekspresji genów *HMGR* i *Ssq* może spowodować wzmożenie syntezy ginsenozydów w kulturach korzeni transformowanych *P. quinquefolium*. Oprócz wytypowania jasmonianu metylu i kwasu abscysynowego jako potencjalnie skutecznych elicytorów syntezy ginsenozydów, przeprowadzone Habilitantką badania molekularne pomogły również oszacować odpowiednie dla wydajnej stymulacji dawki tych związków i czas ich oddziaływania na kultury korzeni. Oceny tej dokonano na podstawie badań poziomu ekspresji danego genu. Wyniki badań *in silico* promotorów genów *HMGR* i *Ssq* wraz z rezultatami analizy RT-PCR potwierdzającej wpływ jasmonianu metylu i kwasu abscysynowego na ekspresję tych genów były podstawą do wyboru wymienionych elicytorów do intensyfikacji produkcji ginsenozydów w kulturach korzeni *P. quinquefolium*.



Podsumowując, przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe dostarcza istotnej, nowej wiedzy w zakresie wykorzystania kultur korzeni transformowanych żeńszera północnoamerykańskiego do produkcji cennych ze względu na swe właściwości lecznicze ginsenozydów. Publikacje wchodzące w skład cyklu przedstawiają wyniki starannie zaplanowanych i kompleksowych badań dotyczących tego zagadnienia. Problematyka kolejnych prac ściśle łączy się ze sobą, dzięki czemu prezentowane osiągnięcie naukowe zachowuje ciągłość tematyczną i stanowi logiczną całość. Doktor Ewie Kochan jako pierwszej udało się otrzymać kultury korzeni transformowanych *P. quinquefolium*. Kultury te, dzięki swoim właściwościom, a także dokonanej przez Habilitantkę optymalizacji składu podłoża hodowlanego, w ciągu 4 tygodni hodowli są zdolne do akumulacji ginsenozydów w ilości porównywalnej do występującej w korzeniach 3-letnich roślin uprawianych w gruncie. Doktor Ewa Kochan jako pierwsza zastosowała w charakterze elicytora *trans*-anetol i wykazała, że związek ten już po krótkim czasie oddziaływania istotnie zwiększa produkcję ginsenozydów w otrzymanych przez Nią kulturach korzeni. Niewątpliwie dużym sukcesem Habilitantki jest również zwiększenie skali produkcji biomasy korzeni i syntetyzowanych przez nie metabolitów dzięki wykorzystaniu do hodowli bioreaktora rozpyłowego.

**W mojej ocenie prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego dr Ewy Kochan stanowią istotny wkład w rozwój biotechnologii farmaceutycznej. Są nie tylko ważne poznawczo ale posiadają również charakter aplikacyjny. Z całym przekonaniem mogę stwierdzić, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe spełnia wymagania ustawowe i upoważnia dr Ewę Kochan do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.**

### **Ocena pozostałego dorobku naukowego**

Na pozostały dorobek publikacyjny dr Ewy Kochan, zgodnie z przedstawioną przez Nią dokumentacją, składa się w sumie 27 prac (23 prace oryginalne, 2 prace przeglądowe oraz 2 monografie, dane z Załącznika nr 5). Spośród nich, 12 prac zostało opublikowanych w czasopismach znajdujących się na liście JCR. Całkowita wartość współczynnika oddziaływania tych prac (IF) wynosi 14,840 a liczba punktów MNiSW 274. Na uwagę zasługuje fakt, że w 14 spośród 27 prac niewliczonych do osiągnięcia naukowego dr Ewa Kochan jest pierwszym autorem. Deklarowany przez Nią udział własny w pracach z pozostałego dorobku naukowego jest imponująco wysoki i wynosi średnio 60% (dla poszczególnych prac wynosi on od 15 do 95%). Powyższe dane wskazują, że Habilitantka miała znaczny wkład w powstanie prac z tej puli. Warto również podkreślić, że 20 prac, a więc prawie 75% omawianego dorobku publikacyjnego, ukazało się już po uzyskaniu przez Habilitantkę stopnia naukowego doktora i większość z nich została opublikowana w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Świadczy to o istotnym rozwoju naukowym dr Ewy Kochan po doktoracie. Należy zwrócić uwagę, że już po złożeniu wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego ukazały się 3 kolejne publikacje współautorstwa Habilitantki, widniejące obecnie w bazie Scopus (nie były ujęte w dokumentacji złożonej wraz z wnioskiem). Są to artykuły w renomowanych czasopismach z listy JCR, takich jak *Nutrients* (IF 4,171), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (IF 2,200) oraz *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences* (IF 1,418).



Pozostała działalność naukowa dr Ewy Kochan, podobnie jak omówione wyżej osiągnięcie naukowe, dotyczy głównie biotechnologii roślin leczniczych. Po rozpoczęciu pracy na Wydziale Farmaceutycznym UM w Łodzi zajęła się wyprowadzeniem kultur *in vitro* kilku gatunków roślin, m.in. *Hyssopus officinalis*, *Paulownia tomentosa* i *Arnica montana*. Były wśród nich kultury pędowe, kalusowe, zawiesinowe a także kultury korzeni transformowanych. Habilitantka scharakteryzowała część otrzymanych kultur pod kątem wytwarzanych przez nie metabolitów wtórnych. Dokonała również optymalizacji warunków prowadzenia hodowli prowadzącej do zwiększenia wydajności biosyntezy związków farmakologicznie czynnych.

Na szczególną uwagę zasługują prowadzone przez dr Ewę Kochan i Jej współpracowników nowatorskie prace nad zastosowaniem bioreaktora rozpyłowego do hodowli otrzymanych z roślin leczniczych korzeni transformowanych na większą skalę. Badania te były prowadzone we współpracy z Katedrą Inżynierii Bioprocessowej Politechniki Łódzkiej.

Najszerszym zagadnieniem realizowanym przez Habilitantkę było otrzymywanie ginsenozydów w kulturach *in vitro* żeńszenia północnoamerykańskiego. Wyprowadziła kultury kalusowe oraz kultury zawiesinowe tego gatunku. Badania dotyczące tej tematyki stały się przedmiotem Jej rozprawy doktorskiej obronionej w 2004 r. Wydajność produkcji ginsenozydów w otrzymanych kulturach *in vitro* Habilitantka porównywała z zawartością tych metabolitów w roślinach z uprawy gruntowej.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych dr Ewa Kochan kontynuowała badania nad produkcją metabolitów wtórnych w tradycyjnych kulturach *in vitro* oraz w bioreaktorach. Oprócz dalszych prac prowadzonych na kulturach żeńszenia północnoamerykańskiego wyprowadziła sterylne kultury kolejnych gatunków roślin będących źródłem związków aktywnych biologicznie. Analiza ekstraktów z materiału pozyskiwanego w kulturach *in vitro* zastała rozszerzona o ocenę ich właściwości antyoksydacyjnych i zawartości związków fenolowych.

Nowym kierunkiem podjętych przez Habilitantkę badań była ocena przeciwdrobnoustrojowego działania metabolitów roślinnych. Analizowała wpływ olejków eterycznych lub ich składników na wzrost wielolekoopornych klinicznych szczepów bakteryjnych. Badania te były prowadzone we współpracy z naukowcami z Zakładu Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej UM w Łodzi, Politechniki Łódzkiej oraz Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie.

Stosunkowo niedawno podjętą przez Habilitantkę tematyką są badania molekularne. Łączy się to z rozszerzeniem Jej warsztatu metodycznego o nowe techniki, takie jak izolacja kwasów nukleinowych, metoda PCR, klonowanie genów a także z wdrożeniem się do korzystania z platform bioinformatycznych. Owocem pracy dr Ewy Kochan w tym zakresie była izolacja promotorów kilku genów kodujących enzymy uczestniczące w syntezie tanszynonów u *Salvia miltiorrhiza* oraz alkaloidów indolowych u *Catharanthus roseus*. Po ustaleniu sekwencji, promotory zostały przeanalizowane pod kątem występowania czynników wpływających na regulację ich ekspresji (przy zastosowaniu metody *in silico*). Efektem badań molekularnych przeprowadzonych przez Habilitantkę i Jej współpracowników z macierzystej jednostki było zgłoszenie do GenBanku sekwencji promotorów 6 genów kodujących enzymy uczestniczące w syntezie metabolitów wtórnych *S. miltiorrhiza* i *C. roseus*.



Do najnowszych zainteresowań dr Ewy Kochan należy prowadzenie badań związanych z aktywnością fizyczną sportowców, występowaniem u nich urazów i z procesem ich rehabilitacji. Habilitantka włączyła się również w tematykę znaczenia suplementów diety w żywieniu sportowców i aktywnych fizycznie amatorów. Powyższe badania są realizowane we współpracy z naukowcami z Wydziału Wojskowo-Lekarskiego oraz Wydziału Nauk o Zdrowiu UM w Łodzi.

Oceniając pozostałe aspekty działalności naukowej Habilitantki należy stwierdzić, że Jej doświadczenie w realizacji projektów badawczych finansowanych ze źródeł zewnętrznych jest na razie niewielkie. Ogranicza się do pracy jako wykonawca w projekcie „Badania kultur *in vitro* *Panax quinquefolium*” finansowanym przez MNiSW/KBN w latach 2002-2004. Doktor Ewa Kochan uczestniczyła także w realizacji projektów w ramach tzw. badań własnych finansowanych z funduszy UM w Łodzi: 1 raz jako kierownik projektu i 1 raz jako wykonawca. Była również wykonawcą w kilku projektach badawczych finansowanych z funduszy statutowych Zakładu Biotechnologii Farmaceutycznej UM w Łodzi.

Na uznanie zasługuje fakt, że dr Ewa Kochan prowadzi swoje badania we współpracy z licznymi krajowymi ośrodkami naukowymi, a także z różnymi jednostkami macierzystej uczelni. Wśród współpracowników znajdują się między innymi badacze z Politechniki Łódzkiej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie oraz Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Nawiązane współpracy pozwoliły Habilitantce na znaczne poszerzenie i urozmaicenie warsztatu metodycznego, w tym dały możliwość testowania metabolitów wtórnych syntetyzowanych w prowadzonych przez Nią kulturach *in vitro* pod kątem ich właściwości przeciwdrobnoustrojowych oraz działania cyto- i genotoksycznego. Dzięki tym współpracom nie tylko podniosła się wartość merytoryczna badań naukowych Habilitantki ale również zwiększył się ich charakter aplikacyjny. Współprace naukowe zaowocowały kilkunastoma publikacjami i doniesieniami konferencyjnymi składającymi się na dorobek dr Ewy Kochan.

O uznaniu dr Ewy Kochan przez środowisko naukowe za kompetentnego specjalistę w swojej dziedzinie świadczy powierzenie Jej funkcji recenzenta przez redakcje czasopism o zasięgu międzynarodowym. Zgodnie z przedłożoną dokumentacją Habilitantka przygotowała recenzje 8 manuskryptów złożonych do publikacji w takich czasopismach jak *Plant Physiology and Biochemistry*, *Plant Cell Reports*, *Plant Gene*, *Protoplasma*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, *Burns*, *Industrial Crops and Products* oraz *Studies in Natural Products Chemistry*.

Godnym podkreślenia jest fakt, że działalność naukowa dr Ewy Kochan nie ograniczała się jedynie do zgodnej z jej wykształceniem i kontynuowanej przez wiele lat tematyki dotyczącej biotechnologii roślin. W życiorysie naukowym Habilitantki zaznaczyło się również Jej zainteresowanie problematyką komercjalizacji badań naukowych. Jego wyrazem była praca zatytułowana „Nowoczesna formuła leku przeciwwzapalnego” przygotowana w postaci biznes planu na zakończenie 2-semestralnych studiów podyplomowych „Komercjalizacja nauki i technologii”, których słuchaczem była dr Ewa Kochan. Ukończenie przez Nią wspomnianych studiów potwierdza stosowne świadectwo wydane przez Wydział Zarządzania Uniwersytetu Łódzkiego oraz certyfikat wystawiony przez University of Texas w Austin w USA.



Za słabszą stronę dorobku naukowego dr Ewy Kochan należy uznać brak odbytych staży naukowych. Jedyny udokumentowany pobyt Habilitantki na zagranicznej uczelni to wizyta studyjna w University of Lund w Szwecji będąca formą wyróżnienia dla najlepszych słuchaczy studiów podyplomowych „Komerccjalizacja nauki i technologii”.

Za swoją pracę naukową dr Ewa Kochan była czterokrotnie wyróżniona nagrodami JM Rektora UM w Łodzi. Były to nagrody naukowe zespołowe III stopnia przyznane za współautorstwo publikacji lub cyklu publikacji. Formą nagrody było również umożliwienie odbycia wspomnianej wcześniej wizyty studyjnej na Uniwersytecie w Lund.

**Podsumowując, pozostały dorobek naukowy dr Ewy Kochan, niewłączony do Jej osiągnięcia naukowego, oceniam bardzo pozytywnie. Podobnie jak wydzielone osiągnięcie, cechuje się on wielokierunkowością badań oraz urozmaiconym i nowoczesnym warształem metodycznym. Jest cenny zarówno ze względu na swą wartość poznawczą jak i aplikacyjną.**

Biorąc pod uwagę całkowity dorobek publikacyjny dr Ewy Kochan, to obejmuje on 29 oryginalnych pełnotekstowych prac (w tym 19 w czasopismach z listy JCR), 2 prace przeglądowe, 2 monografie oraz 29 doniesień na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Zgodnie z danymi przedstawionymi w autoreferacie sumaryczny Impact Factor tych prac wynosi 32,825 a łączna liczba punktów MNiSW 479. Całkowita liczba cytowań prac znajdujących się w dorobku Habilitantki (łącznie z osiągnięciem naukowym) w chwili składania wniosku wynosiła według bazy Web of Science 84 a według bazy Scopus 96. Od tego czasu liczba ta wzrosła odpowiednio do 101 i 124 (bez autocytowań wartości te wynoszą odpowiednio 74 i 93 - dane z dnia 7.08.2019 r.). Podana w autoreferacie wartość indeksu Hirscha przypisana Habilitantce wynosi 6, ale obecnie, według obydwu wspomnianych baz wynosi ona 7. **W mojej opinii wymienione wskaźniki bibliometryczne charakteryzujące dorobek naukowy dr Ewy Kochan są wystarczająco wysokie do ubiegania się przez Nią o stopień doktora habilitowanego.**

### **Ocena działalności dydaktycznej, popularyzatorskiej i organizacyjnej**

Działalność dydaktyczna dr Ewy Kochan obejmuje opracowanie i prowadzenie licznych zajęć dla studentów, głównie na kierunku farmacja na Wydziale Farmaceutycznym UM w Łodzi. Poza zajęciami kursowymi pełniła funkcję promotora 20 prac magisterskich przygotowywanych przez studentów Wydziału Farmaceutycznego, Wydziału Wojskowo-Lekarskiego oraz Wydziału Nauk o Zdrowiu UM w Łodzi. Kierowała również 2 pracami licencjackimi. Zrecenzowała 46 prac magisterskich i 8 prac licencjackich. Ponadto, powierzono Jej rolę promotora pomocniczego w 1 przewodzie doktorskim. Jest również opiekunem Studenckiego Koła Naukowego działającego przy Zakładzie Biotechnologii Farmaceutycznej UM w Łodzi. Bogata i urozmaicona oferta zajęciowa dr Ewy Kochan oraz wielokrotne powierzanie Jej promotorstwa prac dyplomowych świadczą o wysokich kwalifikacjach dydaktycznych Habilitantki. Należy podkreślić, że dr Ewa Kochan regularnie podwyższała swoje kompetencje jako nauczyciel akademicki uczestnicząc w różnych kursach i szkoleniach dotyczących metodyki nauczania w dyscyplinach biomedycznych, prowadzonych między innymi przez Akademię Rozwoju Talentów UM w Łodzi a także organizowanych w ramach projektu „Ready to Teach!”



mającego na celu rozwój kadry dydaktycznej UM w Łodzi, współfinansowanego z środków Unii Europejskiej.

Doktor Ewa Kochan angażuje się również w prace organizacyjne na rzecz swojego środowiska akademickiego. Pełni funkcję koordynatora w systemie oceniania studentów Wirtualna Uczelnia od czasu jego wprowadzenia na UM w Łodzi. Od 2016 r. jest członkiem Polskiego Towarzystwa Botanicznego.

W dokumentacji przedłożonej przez Habilitantkę brak jest jednoznacznej informacji o Jej zaangażowaniu w działalność popularyzatorską. Można uznać, że pełniąc funkcję opiekuna Studenckiego Koła Naukowego popularyzuje wśród młodych badaczy wiedzę z zakresu biotechnologii roślin leczniczych. Formą popularyzacji wiedzy, a zwłaszcza własnych osiągnięć naukowych jest również Jej aktywny udział w konferencjach naukowych.

### **Podsumowanie i wniosek końcowy**

Na podstawie przedstawionej dokumentacji stwierdzam, że całokształt dorobku dr Ewy Kochan należy ocenić bardzo dobrze. Przedstawione do oceny osiągnięcia naukowe bez wątpienia wnoszą istotny wkład w rozwój biotechnologii farmaceutycznej, a poziom czasopism, w których ukazały się prace wchodzące w skład cyklu potwierdza jego wysoką wartość merytoryczną. Również pozostały dorobek naukowy Habilitantki uważam za wartościowy, zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym. Podobnie, wysoko oceniam jej działalność dydaktyczną, popularyzatorską i organizacyjną. W mojej opinii dr Ewa Kochan spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego określone w art. 16 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789) oraz w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. z 2018 r., poz. 261). Uważam, że Habilitantka jest już dostatecznie ukształtowanym i doświadczonym badaczem, dydaktykiem i organizatorem, by sprostać obowiązkom i wyzwaniom samodzielnej pracy akademickiej. W związku z powyższym składam wniosek do Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o nadanie dr Ewie Kochan stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk farmaceutycznych.



dr hab. Ewa Gajewska, prof. UŁ