



Dr hab. Piotr Przybylski, Prof. UAM

Recenzja rozprawy habilitacyjnej pt.

**„MOTYW CYTYZYNY W SEMISYNTYZIE I ANALIZIE SPEKTROSKOPOWEJ ALKALOIDÓW  
CHINOLIZYDYNOWYCH”**

oraz dorobku naukowego dr. Anny Klementyny Przybył

Dr Anna Przybył ukończyła 5-cio letnie studia magisterskie w 1992 r. na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod opieką Pani prof. dr hab. Walerii Wysockiej. Habilitantka kontynuując dalej swoje zainteresowania związane z chemią alkaloidów uzyskała w 2000 r. stopień doktora nauk chemicznych za pracę pt. „Stereochemia alkaloidów chinolizydynowych, występujących w śladowych ilościach *Lupinus albus* i *Lupinus angustifolius*” wykonaną pod opieką tego samego promotora. Dzięki uzyskanemu prestiżowemu stypendium Fundacji Fogarty, staż podoktorski w latach 2001-2003 dr. Anna Przybył zrealizowała w tematyce receptorów alkaloidów opium w grupie badawczej Dr. Kenner'a C. Rice (Bethesda, MD, USA). Przedmiotem rozprawy habilitacyjnej Dr. Anny Przybył są badania fizykochemiczne (spektroskopowe, spektrometryczne i teoretyczne) głównie dotyczące struktury (konformacji) alkaloidów chinolizydynowych i ich pochodnych a także soli i kompleksów z kationami metali. Innym wiodącym zagadnieniem poruszonym w Autoreferacie jest optymalizacja metod izolacji (rozdzielenia) alkaloidów w celu otrzymania ich optycznie czystych form. Ogólnie, uważam tematykę pracy uprawianą przez Habilitantkę za aktualną, przydatną i ciekawą, szczególnie w zakresie fizykochemii organicznej i chemii produktów naturalnych.

**Dorobek naukowy /dane scjentometryczne/**

Na ogólny dorobek Dr. Anny Przybył składa się współautorstwo 46 publikacji, z których tylko 24 (w/g *Scopus*) opublikowane w latach 1994-2014, indeksowane są przez ISI i analizowane przez bazy JCR. Indeks Hirscha i liczba cytowań dla wszystkich 24

Ul. Umultowska 89b, 61-614 Poznań  
tel. +48 61 829 1693, e-mail: piotrp@amu.edu.pl

[www.chemia.amu.edu.pl](http://www.chemia.amu.edu.pl)

prac Habilitantki na podstawie baz wynosi:  $h=6$ , liczba cytowań = 91\* (w/g *Scopus*) i  $h=8$  z liczbą cytowań= 102\* (w/g *Web of Science*); \*- bez autocytowań. Największą liczbę cytowań równą 31\* w/g *Scopus* (33\* w/g *Web of Science*) uzyskała jedna z prac Habilitantki opublikowana całkiem niedawno w *J. Org. Chem.* (2010 r.). Porównując rangę prac posiadających IF opublikowanych przed doktoratem - 6 prac (sumaryczny IF=6.57, średni IF ~1.1/pracę) i po doktoracie - 18 prac (sumaryczny IF = 48.36, średni IF ~2.7/pracę) widoczny jest znaczny postęp Habilitantki po doktoracie szczególnie w zakresie jakości prezentowanych wyników co jest zasługą publikacji w tak prestiżowych czasopismach jak: *Journal of Organic Chemistry* (2 prace), *Journal of Medicinal Chemistry* (1 praca), *Organic&Biomolecular Chemistry* (1 praca), *Journal of Chemical Theory and Computation* (1 praca), *Journal of Inorganic Biochemistry* (1 praca), *Tetrahedron* (2 prace) oraz *Rapid Communications in Mass Spectrometry* (3 prace). Oprócz 24 prac indeksowanych Habilitantka jest także współautorką w sumie 22 opracowań i materiałów konferencyjnych a także rozdziałów w książkach zarówno w j. polskim jak i j. angielskim, głównie w zagadnieniach izolacji, właściwości biologicznych i spektroskopii alkaloidów. Przywołane dane bibliometryczne Habilitantki, sprawiają przyzwoite wrażenie i lokują jej dorobek w tzw. „średniej krajowej”. Dr Anna Przybył od początku swojej działalności naukowej bardzo aktywnie prezentowała swoje wyniki oraz propagowała szeroko chemię alkaloidów na licznych konferencjach międzynarodowych (w sumie 24 wystąpienia, w tym 3 ustne - wszystkie po doktoracie) oraz krajowych (w sumie 53 wystąpienia, w tym 7 ustnych – w sumie 49 po doktoracie) uzyskując wyróżnienia – nagrodzone postery.

### **Ocena merytoryczna osiągnięcia zawartego w publikacjach H1-H11**

Rozprawą habilitacyjną Dr. Anny Przybył jest 33-stronnicowy komentarz (wraz z cytowaną literaturą), który oparty jest o wyniki opublikowane w jedenastu pracach (H1-H11) z listy filadelfijskiej. Zasadniczo w rozprawie habilitacyjnej Dr. Anny Przybył można wyróżnić kilka głównych nurtów badawczych, których „wspólnym mianownikiem” jest modyfikacja, rozdział, fizykochemia organiczna i analiza



strukturalna (w tym teoretyczna) alkaloidów chinolizydynowych. Do najważniejszych osiągnięć zaliczyć można:

- 1) Zaproponowanie wydajnej nowej metody rozdziału mieszaniny enancjomerycznych lupanin z wykorzystaniem chiralnych pochodnych kwasu winowego [H7]. W ramach tych badań Habilitantka zaproponowała szybką i wydajną metodę rozdziału (-)- i (+)-lupanin z wykorzystaniem krystalizacji ich diastereomerycznych kompleksów z kwasem (+)-2,3-dibenzoilo-*D*-winowym lub (-)-2,3-dibenzoilo-*L*-winowym jednocześnie proponując dalej te połączenia w  $^1\text{H}$  NMR jako alternatywę do stosunkowo drogiej metody LIS (*Lanthanide Induced Shifts* ang.) w określaniu czystości optycznej wybranych alkaloidów. Wynik ten został elegancko „podsumowany” strukturą krystalograficzną jednego z diastereomerycznych kompleksów, który stabilizowany jest międzycząsteczkowym wiązaniem wodorowym (lupanina) $\text{N}^+\text{-H}\cdots\text{OOC-}$ (pochodna kw. winowego)  $\sim 2.8$  Å, kąt 177°. Otrzymanie optycznie czystych form lupaniny otworzyło drogę do uzyskania z jednej z nich optycznie czynnej (-)-sparteiny /cennej w reakcjach asymetrycznych/ poprzez redukcję z wykorzystaniem  $\text{LiAlH}_4$ , co Habilitantka zrealizowała z powodzeniem.
- 2) Badania równowag konformacyjnych [H1 – współpraca z prof. Galasso] cytyzyny i nienasyconych pochodnych keto-sparteiny z wykorzystaniem metod eksperymentalnych NMR i teoretycznych B3LYP DFT (CSGT), gdzie wykazano zgodność pomiędzy danymi obliczeniowymi i eksperymentalnymi w zakresie stereoelektronowych hiperkoniugacyjnych efektów mających wpływ na różnice w  $\delta$ [ppm] i  $^1J$ [Hz] dla protonów ekwatorialnych i aksjalnych przy ugrupowaniach laktamowych. W analizie teoretycznej, skorelowanej z danymi eksperymentalnymi, wyznaczono energię przekształcenia wzajemnego konformerów  $\text{N-H}_{\text{endo}}$  i  $\text{N-H}_{\text{egzo}}$  dla różnych alkaloidów chinolizydynowych oraz obliczono populację występowania pierścienia B i C danego alkaloidu w konformacjach: sofa i półkrzesło oraz łódź i krzesło. W analizie struktur wybranych alkaloidów wykorzystano także obliczenia teoretyczne IR położenia pasm drgań  $\nu(\text{C=O})$ ,  $\nu(\text{C=C})$  oraz pasm Bohlmanna, jednakże w ostatnim przypadku moim

zdaniem popełniono błąd nie analizując szczególnie wpływu matrycy na częstość i rodzaj pasm Bohlmanna (położenie pasm Bohlmanna jest zależne od rodzaju wykorzystanej matrycy KBr, rozpuszczalnik etc.). Badania we współpracy z prof. Galasso zainspirowały dalej Habilitantkę do przeanalizowania analogicznych konformacji do N-H<sub>endo</sub>/N-H<sub>egzo</sub> również dla zsyntezowanych N-alkilowych, N-acylowych (amidowych) i bromowych pochodnych cytyzyny [H5] przez wykorzystanie pomiarów temperaturowych NMR (<sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C), wyznaczenie temperatur koalescencji i obliczenie ΔG [kcal/mol] wzajemnego przekształcenia konformerów N-COR<sub>trans/krzesło</sub>/N-COR<sub>cis/lódź</sub> z równania Eyring'a, a także dyskusję w tym aspekcie niektórych struktur wyznaczonych rentgenograficznie. **UWAGA:** O ile wyznaczenie udziału % konformerów na podstawie pomiarów <sup>1</sup>H NMR (z integracji) jest jak najbardziej poprawne o tyle wykorzystanie metody <sup>13</sup>C NMR /na podstawie intensywności sygnałów/ jest dość kontrowersyjne z założenia /różne czasy relaksacji dla atomów węgla o różnej rzędowości/ i powinno być wspomagane dodatkowymi eksperymentami NMR, których recenzent nie znalazł. Poza tym niektóre z sygnałów rezonansowych <sup>13</sup>C analizowanych próbek zanikały przy określonych temperaturach - i tutaj kolejne pytanie czy były wykonywane widma korelacyjne dla zmienianych temperatur?

- 3) Rozważania konformacyjne zostały poszerzone dalej przez Habilitantkę o ciekawe badania strukturalne protonowanych form amidowych pochodnych cytyzyny z dwoma potencjalnymi miejscami protonacji tzn. amidowymi atomami tlenu O(2) i O(14) [H10]. Pomimo tego, że analiza NMR nie przyniosła odpowiedzi, dzięki obliczeniom teoretycznym udało się wskazać na podstawie różnic energetycznych, że w roztworze raczej uprzywilejowanym miejscem protonacji powinien być atom tlenu O(2) grupy amidowej, ze względu na utworzenie formy rezonansowej z całkowicie nienasyconym pierścieniem A. Analiza krystalograficzna ukazała, że miejscem protonacji w c. stałym jest atom tlenu O(2), sugerowany przez wyniki obliczeń teoretycznych. **UWAGA:** Rozważane protonowane formy na atomach tlenu O(2) i O(14) nie są tautomerycznymi



/jak zostało to opisane w Autoreferacie i w pracy/ względem siebie w świetle definicji IUPAC (*Golden Book IUPAC*) tzn. ich wzajemne przekształcenie nie jest bezpośrednio sprzężone z przemieszczeniem się elektronów  $\pi$ !

- 4) Modyfikacje lupaniny z wykorzystaniem reakcji utlenienia/redukcji, rodnikowego bromowania oraz reakcji z odczynnikami Lawesson'a w celu otrzymania nowych siarkowych (mono-tioeterowych, tioacetalowych) nienasyconych w pierścieniu A pochodnych lupaniny oraz nienasyconych tiolupanin [H4], których konformacja pierścieni A-D jest zależna od ilości i rodzaju podstawników, jak ustalono na podstawie kompleksowych badań krystalograficznych i NMR. Ten punkt uważam, za jeden z ciekawszych zwartych w cyklu prac gdyż uzyskanie takich nienasyconych bromowych i siarkowych pochodnych otwiera całkiem nowe drogi dalszych wielokierunkowych przekształceń pierścieni A alkaloidów chinolizydynowych.
- 5) Analiza tworzenia kompleksów cytyzyny z kationami metali Zn(II) i Cu(II) z wykorzystaniem metod ESI MS,  $^{13}\text{C}$  NMR, EPR, UV-vis i krystalografii [H11]. Habilitantka na wstępie wykazała (badania ESI MS), że cytyzyna koordynuje kationy metali w stosunku 1:1 i 2:1. Kompleksowa analiza strukturalna wykazała, że w koordynację kationów metali w roztworze zaangażowany jest drugorzędowy atom N(16) z pierścienia C natomiast w ciecie stałym amidowy atom tlenu O(2) z pierścienia A. **UWAGA:** Habilitantka stwierdziła w Autoreferacie, że: „(-) cytyzyna jako ligand kompleksujący jony miedzi i cynku może znaleźć potencjalne zastosowanie jako narzędzie służące do wiązania metali w organizmach żywych” – recenzent zna o wiele lepsze środki koordynujące wybrane jony metali *in vivo* w związku z czym nasuwa się pytanie o wyznaczenie stałych trwałości tych kompleksów i ich porównanie z wartościami klasycznych czynników kompleksujących te jony?
- 6) Analiza wybranych trój- i czteropierścieniowych alkaloidów chinolizydynowych i ich pochodnych z wykorzystaniem spektrometrii mas z jonizacją EI oraz ESI w celu poszukiwania pewnych uogólnień dotyczących rozpadów masowych tej grupy

związków (prace: H2, H3, H6 i H8). Ustalono tu między innymi, że oczekiwana i typowa utrata obojętnych cząsteczek NO czy NO<sub>2</sub> nie ma miejsca w przypadku nitropochodnych benzytowych cytyzyny (odchylenie od reguły parzysto-elektronowej dla pochodnych z grupą –NO<sub>2</sub>) oraz, że kierunek rozpadu nienasyconych pochodnych cytyzyny i lupaniny silnie zależy od podstawnika przy atomie azotu w pierścieniu C oraz od obecności grup C=O czy C=S. Zaproponowano także niskorozdzielczą metodę EI MS jako analityczne narzędzie w rozróżnianiu pozycji podstawienia atomem halogenu nienasyconego pierścienia A pochodnych cytyzyny. **UWAGA:** prezentacja w rozpadach masowych w jednej z prac /[H6], Schemat 3 – Autoreferat/ geometrii struktury rezonansowej karbokationu acyliowego z kątem międzywiązaniowym <sup>+</sup>O≡C-C równym 90° jest niepoprawna.

- 7) Zastosowanie pochodnych sparteiny i cytyzyny do testowania algorytmu zgodności między danymi eksperymentalnymi IR i VCD a obliczonymi [H9]. Wiadomym jest, że analiza teoretyczna nie jest w stanie odwzorować w 100% różnych efektów związanych z oddziaływaniami wewnątrz- i międzycząsteczkowymi np. z cząsteczkami rozpuszczalnika, oddziaływania warstwowe (stacking, staggering) etc. Istnieje zatem potrzeba walidacji metod obliczeniowych w kontekście ich zastosowania jako narzędzia np. w określaniu konfiguracji absolutnej. Zaproponowany w pracy [H9] nowy algorytm charakteryzuje się pewną uniwersalnością w stosunku do małych cząsteczek, zarówno sztywnych jak i labilnych konformacyjnie takich jakimi są analizowane w pracy alkaloidy chinolizydynowe i ich nienasycone pochodne.

Wszystkie prace Habilitantki są sygnowane nazwiskami od 2 do 6 autorów, przy czym najczęściej jest to liczba dwóch Autorów (w 6-ciu pracach). W 9-ciu z 11-tu publikacji **H1-H11** Dr. Anna Przybył jest pierwszym autorem i jednocześnie odpowiadającym za korespondencję. Z przedstawionych oświadczeń współautorów wynika, że w zdecydowanej większości prac Habilitantka była autorem wiodącym inicjującym tematykę badawczą (udział od 70-90%), natomiast w przypadku prac: **H1** (praca w *Chem. Phys.* z prof. Galasso jako korespondencyjnym autorem, deklarowany



udział Habilitantki 40%) i **H9** (praca w *J. Chem. Theory Comput.* z prof. Bultinck'iem jako korespondencyjnym autorem, deklarowany udział Habilitantki 25%) analiza pracy i oświadczenia wskazują na pomocniczą rolę Habilitantki w rozwiązaniu problemu badawczego z zakresu chemii teoretycznej (na izolacji i dostarczeniu pochodnych). Biorąc pod uwagę jednak fakt opublikowania prac **H1** i **H9** w prestiżowych czasopismach można stwierdzić, że Habilitantka wykazała się umiejętnością międzynarodowej współpracy i chęcią poszerzenia wachlarza metod o teoretyczne i VCD w analizie wybranych alkaloidów chinolizydynowych, co w przypadku dojrzałego samodzielnego pracownika naukowego jest niezwykle cenną zaletą. Szkoda natomiast, że Habilitantka nie napisała pracy samodzielnej w uprawianej tematyce badawczej.

#### **Ocena działalności organizacyjnej (w zakresie nauki i jej popularyzacji) i dydaktycznej**

Działalność organizacyjna Dr. Anny Przybył jest łatwo dostrzegalna: jest Ona Sekretarzem Zarządu PTChem-Oddziału Poznańskiego (od 2004 r.), członkiem Polskiego Towarzystwa Łubinowego (od 1994 r.) a także była członkiem ACS (2001-2004 r.). Habilitantka była współorganizatorem szeregu konferencji naukowych (2005-2014) a także od 2012 r. jest członkiem Rady Wydziału Chemii UAM. Z załączonych materiałów wynika, że Habilitantka podnosiła regularnie swoje kompetencje w ramach licznych szkoleń i kursów oraz, że współpracowała aktywnie z wieloma ośrodkami zagranicznymi w USA, Japonii, Meksyku, Włoszech, Belgii a także w Polsce (Uniwersytety Ekonomiczny i Przyrodniczy w Poznaniu) składając tam między innymi wizyty naukowe oraz uczestnicząc we wspólnych publikacjach. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż Habilitantka dostała zaproszenie do prowadzenia kursu w tematyce alkaloidów w Universidad de Guadalajara (Meksyk) w 2004 r. Pewną zaletą i jednocześnie mankamentem może być to, że Dr. Anna Przybył do tej pory brała udział aż w 6-ciu projektach jednakże . . . wyłącznie w charakterze wykonawcy. W moim przekonaniu posiadając tak rozległe doświadczenie w chemii alkaloidów mogłaby Ona z pewnością zaproponować własny projekt badawczy, w którym byłaby kierownikiem. Działalność

dydaktyczna Habilitantki obejmuje prowadzenie zajęć dydaktycznych w ramach proseminariów i laboratoriów chemii organicznej a także anglojęzycznych wykładów, zajęć laboratoryjnych i proseminariów w ramach programów Premed, Erasmus i SERP-Chem (II stopień). Prowadziła Ona również zajęcia na Wydziale Chemii z j. angielskiego dla chemików w latach 2004-2009 oraz zajęcia dla Wydziału Biologii z chemii organicznej. W kraju Dr. Anna Przybył wygłosiła szereg wykładów popularno-naukowych (5) a także aktywnie opiekowała się magistrantami (10 osób) oraz pracami licencjackimi (3 osoby). Za swoją aktywną działalność organizacyjną i dydaktyczną otrzymała 4 Zespołowe Nagrody Rektorskie (2009, dwukrotnie 2011, 2012).

### **Konkluzja**

Reasumując, pomimo pewnych uwag krytycznych, jestem przekonany, że Dr. Anna Przybył przedstawiła jako osiągnięcie Autoreferat ze zbiorem publikacji (H1-H11) wnoszący znaczące i oryginalne elementy nowości naukowej w zakresie chemii alkaloidów chinolizydynowych i ich pochodnych a ogólny Jej dorobek naukowy jest dowodem szerokiej wiedzy i doświadczenia w różnych zagadnieniach dotyczących tych niezwykle interesujących produktów naturalnych. Zdolność Habilitantki do formułowania wniosków istotnie poszerzających wiedzę, umiejętność ścisłego współpracowania z ekspertami z różnych dziedzin a także duża aktywność organizacyjna upoważnia mnie do jednoznacznego poparcia wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego. Moim zdaniem dr. Anna Przybył spełnia kryteria sformułowane w Ustawie o tytule i stopniach naukowych z dnia 14 marca 2003 roku ze zmianami (Dz.U. z 2005 r., nr 164, poz. 1365 i Dz.U. z 2011 r., nr 84, poz. 455).

Poznań, dn. 21.07.2015