



Białystok, 25.04.2024

**Ocena rozprawy habilitacyjnej „Badanie struktur wybranych produktów naturalnych i wpływu ich modyfikacji na aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą” i dorobku naukowego doktora Krystiana Pyty**

*Dane ogólne*

Dr Krystian Pyta ukończył studia magisterskie na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w 2008 roku. Pracę magisterską „Synteza, struktura i właściwości kompleksujące nowych aza-pochodnych gossypolu” wykonał w Zakładzie Biochemii pod kierunkiem prof. dr hab. Bogumiła Brzezińskiego. Po ukończeniu studiów Krystian Pyta kontynuował swoje badania naukowe w tym samym Zakładzie w ramach studiów doktoranckich. Promotorem pracy doktorskiej „Synteza i struktura nowych aminowych analogów ansamycynowego antybiotyku rifampicyny” był prof. dr hab. Piotr Przybylski. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych w 2012 roku, dr Krystian Pyta został zatrudniony na stanowisku adiunkta w Zakładzie Chemii Produktów Naturalnych kierowanym przez prof. Piotra Przybylskiego. Miał On ogromny wpływ na rozwój naukowy i całokształt działalności dr. K. Pyty, który daje się zauważyć do chwili obecnej (prof. Przybylski figuruje jako współautor we wszystkich publikacjach naukowych dr. K. Pyty).

Dr Krystian Pyta jest autorem 40 publikacji w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports*. Prace te dotyczą związków pochodzenia naturalnego i ich syntetycznych pochodnych. Głównym obiektem zainteresowań habilitanta są antybiotyki makrocykliczne, w szczególności ansamycyny, takie jak rifampicyna i geldanamycyna, oraz 14-, 15- i 16-członowe makrolidy. W polu zainteresowań dr. K. Pyty są też inne produkty naturalne, np. polifenolowy biseskwiterpen gossypol i alkaloid tropolonowy kolchiceina. Większość publikacji habilitanta (22) ukazało się po uzyskaniu stopnia doktora. Sumaryczny *Impact Factor* tych prac wynosi 84,3, co daje bardzo przyzwoity średni IF na pracę 3,8 (średni IF dla wszystkich 40-u opublikowanych prac wynosi niespełna 3,2). Cytowalność tych prac (673 bez autocytowań wg. bazy Web of Science; stan na wrzesień 2023) jest wysoka, szczególnie że większość z nich ukazała się niedawno i z tego powodu nie mogła jeszcze być cytowana. Index Hirscha autora wynosi  $h = 13$  wg. tej samej bazy. Wszystkie prace dr. K. Pyty są wieloautorskie, ale jest On pierwszym lub/i korespondencyjnym autorem w 12-u publikacjach. Z tego, całkiem już obszernego, dorobku 8 publikacji zostało włączonych do rozprawy habilitacyjnej.

## Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego

Rozprawę habilitacyjną dr. Krystiana Pyty stanowi cykl publikacji zatytułowany „Badanie struktur wybranych produktów naturalnych i wpływu ich modyfikacji na aktywność przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą”. Składa się na niego 8 publikacji, które ukazały się w latach 2014-2019 w dobrych i bardzo dobrych czasopismach chemicznych (3 w *Eur. J. Med. Chem.*, 2 w *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1 w *Magn. Reson. Chem.*, 1 w *ChemPhysChem.*, 1 w *ACS Infect. Dis.*). Sumaryczny IF tych prac wynosi ok. 27,5; średni IF na pracę to ok. 3,4. Chociaż wszystkie wybrane prace są wieloautorskie (średnio 6-u autorów na publikację), to wkład dr. K. Pyty w ich powstanie jest znaczący, o czym świadczy, że jest On pierwszym autorem w 5-u z nich, a w jednej pracy jest dodatkowo autorem korespondującym. Wybór publikacji do habilitacji jest nieoczywisty, gdyż brakuje wśród nich prac z ostatnich pięciu lat. W dorobku dr. K. Pyty znajdują się trzy publikacje na temat pochodnych geldanamycyn z lat 2021-2023, które lepiej pasowałyby do opisanego osiągnięcia naukowego niż praca na temat gossypolu (**H1**). W przypadku ich włączenia w miejsce tej ostatniej publikacji można by zawęzić temat habilitacji do ansamycyn. Przypuszczam, że na przeszkodzie mogły stanąć względy formalne, takie jak włączenie tych publikacji do doktoratu innego członka zespołu. Publikacja **H1** przedstawia modyfikacje biseskwiterpenu gossypolu z wykorzystaniem katalizowanej  $\text{Cu}^+$  1,3-dipolarnej cykloaddycji Huisgena do syntezy pochodnych zawierających ugrupowanie 1,2,3-triazolowe. Niektóre otrzymane pochodne posiadały oczekiwaną aktywność przeciwgrzybiczą, która była związana z inhibicją biosyntezy ergosterolu w komórkach grzybów. Pozostałe publikacje (**H2-H8**) wchodzące w skład osiągnięcia naukowego dotyczyły rifampicyny i innych pochodnych rifamycyn. Rifampicyna posiada w swojej strukturze ugrupowanie hydrazonowe. Jest ono podatne na hydrolizę, która prowadzi do dezaktywacji antybiotyku. Celem omawianych prac było otrzymanie, na drodze aminowania redukcyjnego, nowych aminowych analogów rifamycyn, odpornych na hydrolizę. Rifampicyna występuje w dwóch formach – niejonowej i jonowej (zwitterjonowej). W pracy **H2** opisano analizę spektroskopową 3-formylorifamycyny SV i czterech aminowych pochodnych z wykorzystaniem technik  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  CP/MAS oraz FT-IR. Zgodnie z oczekiwaniem rifaldehyd występował w formie niejonowej, natomiast pochodne aminowe występowały wyłącznie w formie zwitterjonowej, niezależnie od użytego rozpuszczalnika. W pracy potwierdzono, że rifampicyna może występować w ciele stałym w postaci różnych form, co należy mieć na względzie przy ilościowym oznaczaniu tego antybiotyku. Dwuetapowa synteza pochodnych 1,2,3-triazolowych z 3-formyloryfamycyny SV została przedstawiona w publikacji **H3**. Zastosowano w tym przypadku procedurę podobną do syntezy pochodnych gossypolu, w której po etapie redukcyjnego aminowania następowała 1,3-dipolarna cykloaddycja Huisgena. Okazało się jednak, że w przypadku użycia większej ilości katalizatora i dłuższego czasu reakcji, otrzymane pochodne 1,2,3-triazolowe ulegały nieoczekiwanej następnej kondensacji z utworzeniem układu 3,4-dihydrobenzo[g]chinazolinowego. Niektóre z otrzymanych pochodnych wykazywały wysoką aktywność przeciwbakteryjną. Różne metody obliczeniowe zostały

wykorzystane do skorelowania konformacji nowych pochodnych heterocyklicznych i ich właściwości kwasowo-zasadowych z aktywnością biologiczną. W kolejnej publikacji **H4** w reakcji redukcyjnego aminowania zostały zastosowane estry L-aminokwasów. Otrzymane w ten sposób nowe pochodne ryfamycyny SV występowały w dwóch formach – klasycznej zwitterjonowej i w formie pseudo-cyklicznej, w której proton był przeniesiony na zasadowy podstawnik, stabilizowej dodatkowo przez wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe. Dla otrzymanych pochodnych aminokwasowych została przeprowadzona analiza SAR. Dalsze aminowe i hydrazonowe pochodne ryfamycyny SV (33 związki) zostały opisane w publikacji **H5**. Niektóre z nich, zawierające sztywny i zasadowy podstawnik przy C3, wykazywały wyższą aktywność przeciwbakteryjną niż rifampicyna. W badaniach dokowania molekularnego wykazano, że związki te korzystnie oddziałują z bakteryjną polimerazą RNA, w tym z kluczowym aminokwasem glutaminianem E<sub>445</sub>. Publikacja **H6** tłumaczy w jaki sposób zachodzi proces przeniesienia protonu w nowych pochodnych rifamycyny SV zawierających w swojej strukturze pierścień eteru koronowego lub azakoronowego. Badania za pomocą FT-IR i NMR wykazały, że w procesie przeniesienia protonu uczestniczą jony hydroniowe lub kationy Zundela H<sub>5</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, które tworzą międzycząsteczkowe wiązania wodorowe z eterem koronowym. Tematyka makrocyklicznych eterowych pochodnych rifamycyn była kontynuowana. W publikacji **H7** wykazano za pomocą ESI-MS, że etery benzokoronowe pochodne rifamycyn tworzą kompleksy z małymi cząsteczkami organicznymi, takimi jak 2-chlorobenzylamina, histamina lub izoniazyd, które mogą zostać wyparte przez kation Na<sup>+</sup>. Kompleksowanie wzmacnia aktywność przeciwbakteryjną badanych związków. W ostatniej publikacji **H8** wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego habilitanta badany był wpływ wody na aktywność antybiotyków rifamycynowych. Okazało się, że może ona zmienić konformację mostka ansamycynowego z „otwartej” (konformery A i B, w których grupy hydroksylowe skierowane są na zewnątrz) na „zamkniętą” typu C (grupy OH skierowane „do środka”). Konformacje „otwarte” stabilizowane są wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym z udziałem N-H laktamu. Brak tej stabilizacji czyni cząsteczkę bardziej elastyczną, dzięki czemu może ona przyjmować różne konformacje podczas transportu do molekularnego targetu, w tym bardziej lipofilową konformację C, którą stabilizują cząsteczki wody. Równowaga między różnymi konformacjami rifamycyn zwiększa możliwość dostosowania się do zmieniającej się natury błon komórkowych, zwłaszcza szczepów bakterii Gram-ujemnych.

Opisana powyżej tematyka pracy habilitacyjnej wpisuje się doskonale w aktualne trendy wynikające z potrzeby ciągłego udoskonalania (modyfikacji) stosowanych antybiotyków i odkrywania nowych związków o działaniu przeciwbakteryjnym. Taka potrzeba spowodowana jest zdolnością mikroorganizmów do przystosowywania się do nowych warunków, co prowadzi do antybiotykooporności bakterii. Badania prowadzone w Zakładzie Chemii Produktów Naturalnych kierowanym przez prof. Piotra Przybylskiego są na wysokim poziomie, a ich wyniki publikowane w czołowych czasopismach z zakresu chemii medycznej. Publikacje te są starannie napisane i czyta się je z przyjemnością. Niestety nie da się tego powiedzieć

o autoreferacie autorstwa dr. Krystiana Pyty. Autoreferat zawiera wiele błędów zarówno merytorycznych, jak i językowych. Z błędów merytorycznych można wymienić np. pomylenie benzylu z fenylem, „1,4-dipolarna cykloaddycja Huisgena”, „struktury krystalograficzne otrzymane w roztworze”, łączenie struktur mezomerycznych niewłaściwym znakiem graficznym, różne błędy na schematach (błędy we wzorach, pomylenie reagentów nad strzałkami, itp.). Z tego powodu autoreferat czyta się z trudnością, a już apogeum zostało osiągnięte na str. 20, gdzie autor stwierdza „Nie chcąc wprowadzać niepotrzebnego zamieszania z dodawaniem innej numeracji niż w materiałach źródłowych, pozostawię oznaczenia pochodnych w zgodzie z tymi zawartymi w pracach H3-H5 dodając za każdym razem przy korzystaniu z oznaczenia danego związku informacji, z której pracy pochodzi ten związek podając w nawiasie oznaczenie publikacji”. W tym momencie zrezygnowałem z dalszej lektury autoreferatu, który z założenia powinien ułatwiać zapoznanie się z osiągnięciem naukowym, a korzystałem wyłącznie z oryginalnych publikacji.

Niezależnie od mojej oceny autoreferatu, ilość uzyskanych przez habilitanta rezultatów naukowych, jak też jakość powstałych na ich podstawie publikacji, robi ogromne wrażenie. Nie ulega wątpliwości, że udział habilitanta w prowadzonych badaniach jest znaczny, zarówno w odniesieniu do koncepcji badań, jak i ich realizacji. Dr K. Pyta jest autorem korespondencyjnym tylko w jednym przypadku, ale może to i dobrze dla tych prac. Niemniej powinien się On nadal wprawiać w pisanie prac naukowych, takich jak publikacje i wnioski grantowe.

#### *Inne aspekty działalności naukowej*

Dr Krystian Pyta był promotorem pomocniczym w trzech ukończonych przewodach doktorskich. Pełnił rolę opiekuna trzynastu prac magisterskich, a w jednym przypadku był promotorem. Pisze recenzje prac licencjackich i artykułów naukowych przysyłanych do czasopism z listy JCR. Bierze udział w krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Wyniki swoich badań prezentuje najczęściej w postaci plakatów (39 prezentacji). W wykazie publikacji jest też siedem prezentacji ustnych, ale w przedstawionej formie trudno jest się zorientować, w których z nich dr K. Pyta osobiście wygłaszał komunikat. Habilitant uczestniczył w realizacji sześciu projektów grantowych (jeden ministerialny i pięć NCN). W dwóch („Juventus plus” i „Miniatura”) był kierownikiem, a w pozostałych („Sonata bis 1”, „Opus 3”, „Opus 10” i „Opus 13”) pełnił rolę wykonawcy. Dr K. Pyta (wraz z prof. P. Przybylskim) ma szeroko zakrojoną współpracę z naukowcami z innych ośrodków badawczych. W szczególności należy wspomnieć o bliskiej współpracy z prof. F. Bartlem z Uniwersytetu Humbolta w Berlinie, z którym ma 11 wspólnych publikacji. W ośrodku tym odbył półroczny staż naukowy i kilka szkoleń z wykorzystania spektroskopii FT-IR. Dr K. Pyta uzyskał za swoją działalność nagrodę Rektora UAM w 2020 r., a we wcześniejszym okresie (przed doktoratem) był stypendystą Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej, Fundacji im. Adama Mickiewicza oraz Miasta Poznania.

### *Działalność dydaktyczna, organizacyjna i popularyzatorska*

Dr Krystian Pyta prowadzi w macierzystej uczelni zajęcia dydaktyczne przewidziane w programie studiów dla studentów Chemii i Biologii UAM z Chemii Organicznej, Biochemii, Chemii Produktów Naturalnych oraz Spektroskopii Molekularnej. Są to zajęcia laboratoryjne, ćwiczenia i proseminaria. Habilitant opracował ćwiczenia laboratoryjne z Biochemii i obecnie pełni rolę kierownika laboratorium. Opracował też sylabus wykładu „Toksykologia leków”, który jest przewidziany na przyszły rok akademicki dla studentów „Chemii medycznej z projektowaniem leków”. Dr K. Pyta jest członkiem Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Wydziału UAM w kadencji 2020-2024.

### *Uwagi końcowe i konkluzja*

Praca habilitacyjna dr. Krystiana Pyty, chociaż opiera się na solidnych podstawach, posiada również sporo mankamentów. Omówienie swoich niewątpliwych osiągnięć naukowych habilitant przedstawił w sposób niezbyt staranny. Może to wynikać z braku doświadczenia w pisaniu manuskryptów naukowych, co nieco dziwi, gdyż jest On współautorem wielu publikacji. W dorobku habilitanta nie ma żadnego artykułu przeglądowego. Ma On stosunkowo mało wystąpień ustnych na konferencjach naukowych i nie prowadzi wykładów (np. monograficznych) dla studentów w macierzystej uczelni. Największą jednak wątpliwość budzi samodzielność naukowa habilitanta, gdyż nie podejmował On na razie prób stworzenia własnego zespołu i ewentualnej zmiany (lub rozszerzenia) tematyki badawczej. Przedstawione plany badawcze nie przewidują istotnych zmian w tym zakresie. Myślę, że przyjdzie na to czas, w czym powinien pomóc uzyskany niedawno grant NCN „Miniatura” - stanowi on dla habilitanta szansę na przyjęcie doktoranta i stopniowe usamodzielnienie się. Na podstawie przedstawionego materiału nie udało mi się wyrobić zdania o przygotowaniu merytorycznym i potencjale intelektualnym habilitanta, ale o Jego fascynacji chemią antybiotyków makrocyklicznych już tak. Nie ulega wątpliwości, że dr K. Pyta jest zdolnym eksperymentatorem, z zapalem wprowadzającym swoje koncepcje naukowe w życie. Niezależnie od moich uwag krytycznych uważam, że bogaty dorobek naukowy opublikowany przez habilitanta po doktoracie w czołowych czasopismach z zakresu chemii medycznej, a w szczególności osiem wybranych publikacji, stanowi istotne osiągnięcie naukowe, które z powodzeniem może być podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Nie mam wątpliwości, że dr Krystian Pyta spełnia wymagania ustawowe stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego i wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne UAM o kontynuowanie postępowania w sprawie nadania Mu tego stopnia.

*Jacek Morzycki*