



Wydział Chemiczny

POLITECHNIKA WARSZAWSKA

prof. dr hab. inż. Sergiusz Luliński

Warszawa, 12.12.2025 r.

Katedra Chemii Fizycznej

ul. Noakowskiego 3

00 664 Warszawa

tel./fax: 022-234-7575

e-mail: sergiusz.lulinski@pw.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej M.Sc. Jaqueline Araujo Badarò pt. „The synthesis and photophysical properties of novel indolizine-based fluorophores”

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Instytucie Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem prof. dr hab. Daniela T. Gryko. Tematyka rozprawy jest ściśle związana z zainteresowaniami naukowymi prof. Gryko, które dotyczą aktualnie przede wszystkim syntezy skondensowanych układów heterocyklicznych jako związków luminescencyjnych do potencjalnych zastosowań jako znaczników fluorescencyjnych w bioobrazowaniu.

Recenzowana rozprawa doktorska została zredagowana w formie ponad 40-stronicowego komentarza do cyklu 4 recenzowanych publikacji w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Pełna treść tych publikacji została dołączona do rozprawy. Komentarz ma klasyczny układ i składa się ze wstępu, dyskusji badań własnych, podsumowania najważniejszych wyników i bibliografii. W początkowej części wstępu (rozdziały 1.1 i 1.2 Autorka przedstawiła ogólne informacje na temat indolizyn, w tym m.in. metod ich otrzymywania, struktury elektronowej i reaktywności. Rozdziały 1.3 i 1.4 są poświęcone przeglądowi rozbudowanym π -elektronowo indolizynom, tj. układom zawierającym dodatkowe skondenowane fragmenty aromatyczne (π -expanded indolizines) bądź dołączone poprzez wierzchołki (π -extended indolizines). Tym samym wstęp nawiązuje ściśle do tematyki rozprawy, przy czym można uznać, iż podstawę do jego napisania stanowił artykuł przeglądowy, włączony przez Autorkę wspomnianego wyżej cyklu publikacji.

Zasadniczą część komentarza stanowi przewodnik po 3 publikacjach oryginalnych stanowiących podstawę rozprawy. Doktorantka przedstawiła w niej wyniki swoich badań poświęconych syntezie i charakterystyce właściwości fotofizycznych 3 typów pochodnych indolizyn. Rozdział 2.1 jest poświęcony wybranym benzo[a]indolizynom. Celem badań była modyfikacja metody syntezy tych związków opisaną jeszcze w latach 60-ych ubiegłego wieku przez Kröhnkego (W. Augstein, F. Kröhnke, “Synthesen des Benzo[a]- und des Naphtho[2.3-

b]indolizin-Ringsystems” *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1966**, 697, 158–170) i zbadanie ich właściwości fotofizycznych. Wspomniana metoda opiera się na wykorzystaniu jako substratów soli *N*-fenacylopirydyniowych i 1-chloro-2,4,6-trinitrobenzenu, związku znanego ze swojej wybuchowej natury. W związku z tym Autorka postanowiła zastosować jego analogi, w których grupa NO₂ w pozycji 4 została zastąpiona innymi podstawnikami o charakterze elektronoakceptorowym, tj. CO₂Me, CN i CF₃. Kolejnym krokiem było zastąpienie grupy *N*-fenacylowej soli pirydyniowej grupą CH₂CN, co pozwoliło na zwiększenie wydajności kwantowej fluorescencji. Doktorantka podjęła dalsze badania optymalizacyjne, polegające na dobraniu reagentów pomocniczych, rozpuszczalnika, temperatury i czasu reakcji. Stanowiły one podstawę efektywnej syntezy kilkunastu sfunkcjonalizowanych benzo[*a*]indolizyn, w tym układów zawierające dodatkowy skondensowany pierścień benzenowy lub podstawniki CN bądź NMe₂ w pozycji γ pierścienia pirydynowego. Badania właściwości fotofizycznych polegały na pomiarach widm absorpcyjnych i emisyjnych UV-Vis w roztworach (PhMe, DCM) i wyznaczenie wydajności kwantowych fotoluminescencji Φ . Związki te można w większości scharakteryzować jako pomarańczowe lub czerwone luminofory, przy czym dla układu typu *push-pull* z grupą NMe₂ przy pierścieniu pirydynowym pasmo luminescencji przesuwają się do zakresu bliskiej podczerwieni. Wartości Φ wahają się w szerokim zakresie od pomijalnie niskich do wysokich (> 50%), przy czym stwierdzono, że obecność grupy CN przy pierścieniu pirolowym była korzystna natomiast większe podstawniki CPh i CO₂tBu powodowały znaczne obniżenie Φ . Doktorantka wyjaśniła to znacznym zniekształceniem planarności, wzmacniającym przejście międzysystemowe (ISC) ze względu na zmniejszoną przerwę energetyczną singlet–tryplet (ΔE_{ST}). Wyniki te zostały uzyskane metodami obliczeniowymi, ale warto byłoby pokusić się o oszacowanie za pomocą stosownych pomiarów, ponieważ z mojego doświadczenia wynika, że nie zawsze zgodność jest zadowalająca. Kolejna interesująca obserwacja dotyczy stosunkowo dużych wartości Φ związków z grupą NO₂, jako że jest ona zazwyczaj związana z wygaszaniem fluorescencji. W tym miejscu mam drobną uwagę krytyczną odnośnie zdania na stronie 25, ponieważ jest częściowo mylące: “When comparing compound 9cCF with its reduced analog **10** (bearing an NH₂ group instead of NO₂), a drop in emission intensity (38% vs 26%) and a hypsochromic shift of both λ_{abs} (488 vs 377 nm) and λ_{em} (603 vs 495 nm) were observed”. Słowo „hypsochromic” powinno być chyba zastąpione słowem „bathochromic”? Badania eksperymentalne zostały wsparte obliczeniami teoretycznymi, które obejmowały nie tylko standardową analizę orbitali molekularnych, ale również wyznaczenie wydajności kwantowych luminescencji. W tym ostatnim aspekcie udało się uzyskać dobrą zgodność z wartościami doświadczalnymi. Uważam, że przedstawione wyniki są znaczące ze względu na istotne poszerzenie metodyki syntezy benzo[*a*]indolizyn oraz dokonanie szczegółowej analizy zależności pomiędzy ich strukturą a właściwościami fotofizycznymi.

W rozdziale 2.2 Autorka przedstawiła wyniki badań podstawionych pirano[2,3-*b*]indolizynonów. Również w tym w przypadku punktem wyjścia były wyniki opublikowane w przeszłości, a ich autorami byli Kakehi i współpracownicy (A. Kakehi et al., “Preparation of New Nitrogen-bridged Heterocycles. A Facile Synthetic Method of Pyrano[2,3-

b]indolizinoneDerivatives” *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1980**, *53*, 1115–1120). Opracowali oni różne metodologie syntezy pochodnych 2-okso-2*H*-pirano[2,3-*b*]indolizyno-3-karboksylianów, struktur, które można uznać za analogi kumaryn wykazujących interesujące właściwości fluorescencyjne i potencjalne zastosowanie w bioobrazowaniu. Doktorantka ponownie podjęła zadanie optymalizacji oryginalnej procedury, a kluczowe dla osiągnięcia tego celu było zastosowanie Cs_2CO_3 jako zasady w celu przyspieszenia kondensacji Dieckmanna prowadzącej do pośredniego indolizyn-2-olu, który w kolejnym etapie reagował z malonianem z utworzeniem docelowego produktu. Doktorantka otrzymała serię 8 nowych struktur wychodząc z różnych soli pirydyniowych. W celu dalszej funkcjonalizacji wykorzystano fakt kumulacji gęstości elektronowej w pozycji 5, co umożliwiło bezpośrednie arylowanie jednego z otrzymanych produktów odpowiednimi bromkami aryłowymi w obecności $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ jako katalizatora. W ten sposób otrzymano 3 nowe pochodne z dobrymi wydajnościami. Ponadto Autorka przeprowadziła sekwencję reakcji Vilsmeiera-Haacka i kondensacji Knoevenagela otrzymując 2 pochodne z grupami styryłowymi, również wprowadzonymi w pozycji 5. Dla tej klasy związków zmierzono absorpcję i emisję UV-Vis w toluenie, DCM i DMSO, a uzyskane dane porównano z wybranymi indolokumarynami. Podobnie jak w przypadku wyżej dyskutowanej serii związków, Doktorantka szczegółowo przeanalizowała wpływ modyfikacji strukturalnych na parametry fotofizyczne, a ich głębsza interpretacja była możliwa dzięki wykonaniu stosownych obliczeń orbitali granicznych. Na podkreślenie zasługuje przetestowanie potencjału jednego z tych związków do precyzyjnego obrazowania jądra komórkowego. Wykazało to barwienie komórek H9c2, pochodzących z kardiomioblastów szczura, ponieważ badany związek selektywnie barwił specyficzne struktury podjadrowe. Tym samym przedstawione w omawianym rozdziale wartościowe wyniki dotyczące metodyki syntezy i charakterystyki właściwości fotofizycznych zostały poszerzone o dodatkowe informacje mające bezpośrednie znaczenie aplikacyjne.

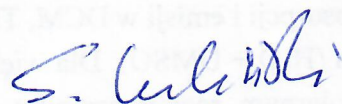
W rozdziale 2.3 Autorka opisała podstawione pochodne układy hybrydowe indolizyna-merocyjanina, które można określić jako nowego typu barwniki polimetinowe. Synteza tych barwników stanowiła adaptację procedury opracowanej do syntezy rodoli z wykorzystaniem 2,3,5,6-tetrafluoro-4-hydroksybenzaldehydu jako reagent elektrofilowy. Zamiast aminofenoli Doktorantka w swojej pracy zastosowała jako substraty 3-podstawione pochodne indolizyn-2-olu, a także analogi zawierające atom azotu w pozycji 3, tj. pochodne imidazo[1,2-*a*]pirydyny. Ponadto przetestowała 2,3,5,6-tetrafluoro-4-(piperydyn-1-ylo)benzaldehyd i 3-formylo-4-chloro-7-dialkiloaminokumarynę, które dały kationowe struktury różnego typu, tj. odpowiednio układ bis-ksantenowy, utworzony z dwóch fragmentów indolizyny i jednego aldehydu oraz barwnik typu cyjaninowego. Charakterystyka fotofizyczna obejmowała pomiar widm absorpcji i emisji w DCM, THF, DMSO, a dla niektórych związków także w środowisku wodnym ($\text{H}_2\text{O} + \text{DMSO}$). Dla większości barwników wartości Φ przekraczały 50%, nawet w silnie polarnym rozpuszczalniku, tj. DMSO. Związek otrzymany z pochodnej kumaryny charakteryzował się znacznym batochromowym przesunięciem pasma emisji w porównaniu z innymi badanymi w tym projekcie układami ($\lambda_{\text{em}} = 735 \text{ nm}$ w DMSO), choć Φ nie przekroczyła 1%. Rozpuszczalność w wodzie i fotostabilność porównywalna z rodaminą 6G stanowiła jednak impuls do dalszych eksperymentów w komórkach w celu oceny potencjału w zakresie

wizualizacji organelli. Badania mikroskopii konfokalnej na komórkach włókniakomięsaka HT1080 i normalnych ludzkich fibroblastach płucnych MRC-5 wykazały wysoką przepuszczalność komórkową i akumulację w mitochondriach i jąderkach bogatych w RNA, w porównaniu z MitoTracker™ Green FM i SYTO RNASelect™. Wyniki te mogą być zatem wykorzystane do opracowania metody monitorowania stanu mitochondriów w żywych komórkach.

Komentarz jest zamknięty zwięzłym podsumowaniem zawierającym przypomnienie najważniejszych wyników i kluczowe wnioski. Uważam, że Autorka przedstawiła spójny tematycznie i logicznie ujęty cykl publikacji, a Jej badania mają dużą wartość zarówno z punktu widzenia metodyki syntezy indolizyn i ich pochodnych, charakterystyki ich właściwości fotofizycznych oraz wykorzystania do bioobrazowania. Kończący rozprawę wykaz cytowanej literatury zawiera 76 pozycji, które w większości zostały opublikowane ostatnich latach, co świadczy o aktualności i perspektywach dalszego intensywnego rozwoju podjętej tematyki badawczej. Pod względem edytorskim komentarz został zredagowany starannie i w zwięzły, ale przystępny sposób, co zdecydowanie ułatwia dostrzeżenie najważniejszych osiągnięć naukowych Doktorantki opisanych szczegółowo w załączonych publikacjach. Warto także podkreślić, że zarówno komentarz jak i publikacje źródłowe zostały zilustrowane licznymi, w tym barwnymi, rysunkami i schematami, co ułatwia przyswojenie zawartych w rozprawie informacji.

Konkluzja

W podsumowaniu powyższej analizy rozprawy doktorskiej Jaqueline Araujo Badarò, M.Sc., stwierdzam, że przedstawione wyżej zastrzeżenia nie wpływają na ogólną ocenę rozprawy. W zasadniczym stopniu była ona już oczywiście poddana krytycznej analizie recenzentów 3 składających się na nią publikacji oryginalnych i jednego artykułu przeglądowego. Wszystkie prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Moja ocena jest bardzo pozytywna z uwagi na uzyskanie istotnych wyników dotyczących syntezy i właściwości fotofizycznych nowych funkcjonalizowanych indolizyn, a bardzo drobne uwagi krytyczne nie mają istotnego znaczenia. Uważam z przekonaniem, że przedstawiona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. W oparciu o powyższą opinię rekomenduję nadanie Jaqueline Araujo Badarò, M.Sc., stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplinie nauki chemiczne. Zwracam się więc do Rady Naukowej Instytutu Chemii Organicznej PAN z wnioskiem o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.





Wydział Chemiczny

POLITECHNIKA WARSZAWSKA

prof. dr hab. inż. Sergiusz Luliński
Katedra Chemii Fizycznej
ul. Noakowskiego 3
00 664 Warszawa
tel./fax: 022-234-7575
e-mail: sergiusz.lulinski@pw.edu.pl

Warszawa, 12.12.2025 r.

**Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Jaqueline Araujo Badarò, M.Sc.,
pt. „The synthesis and photophysical properties of novel indolizine-based fluorophores”**

Zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Chemii Organicznej PAN z wnioskiem o **wyróżnienie** przedłożonej mi do recenzji rozprawy doktorskiej Jaqueline Araujo Badarò, M.Sc.

Doktorantka opracowała metodykę syntezy kilkudziesięciu nowych pochodnych indolizyn, w tym szeregu układów π -rozszerzonych takich jak hybrydy typu indolizyna-merocyjanina. Otrzymane barwniki zostały szczegółowo scharakteryzowane za pomocą metod spektroskopowych UV-Vis i metod obliczeniowych chemii kwantowej, a także dokonano oceny ich potencjału jako znaczników fluorescencyjnych organelli komórkowych. O wartości naukowej uzyskanych wyników świadczy niewątpliwie to, że zostały udokumentowane w formie 3 publikacji oryginalnych w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej, takich jak *Angewandte Chemie International Edition* (wyd. Wiley, IF 17,0, 200 pkt MEiN, 1 publikacja) oraz *Organic Chemistry Frontiers* (wyd. RSC, IF 4,7, 140 pkt MEiN, 2 publikacje). Należy odnotować, że we wszystkich tych publikacjach jest pierwszym autorem, co wskazuje na Jej wiodący udział w ich opracowaniu. Świadczą o tym również dołączone do rozprawy oświadczenia pozostałych współautorów. W mojej ocenie poziom rozprawy jest znacząco wyższy pod względem jakościowym w porównaniu z typowym poziomem prac doktorskich w dyscyplinie nauki chemiczne.

S. Luliński