



Uniwersytet Łódzki,  
Katedra Chemii Organicznej & Stosowanej  
Tamka 12, PL-91-403 Łódź  
Tel. (48)(42) 635-57-61; Fax: (48) (42) 665-51-62  
*e-mail:* grzegorz.mloston@chemia.uni.lodz.pl

prof. dr hab. Grzegorz Mloston

Łódź, 23 stycznia 2023 r.

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ ZATYTUŁOWANEJ

***‘Diketopyrrolopyrrole-based fluorescent probes for cations’*** złożonej przez  
*G. Dinesh Kumar M.Sc., Radzie Naukowej Dyscypliny ‘Nauki Chemiczne’ działającej  
w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie celem uzyskania stopnia doktora  
nauk chemicznych*

Recenzowana rozprawa doktorska została przygotowana w X Zespole IChO, pod opieką naukową Kierownika tego zespołu prof. dr. hab. Daniela Gryko. Jest ona oparta na cyklu 3 publikacji, które ukazały się w latach 2021-2022, w czasopiśmie obrotu międzynarodowego o wysokich wartościach współczynnika oddziaływania (tzw. Impact Factor (IF)) w przedziale 3.890-6.065. Wszystkie prace są wieloautorские (od 4 do 9 współautorów) i z tego powodu, rozprawa zawiera stosowane oświadczenia współautorów o stopniu ich udziału w procesie powstania tych publikacji (str. 324-330). Wynika z nich, że dr G. D. Kumar wykonał wszystkie prace laboratoryjne o charakterze syntetycznym i przygotował próbki do wykonania pomiarów fizykochemicznych oraz badań medycznych, które zostały przeprowadzone we współpracujących zespołach krajowych oraz zagranicznych. Jak wynika ze złożonego oświadczenia, prace o charakterze obliczeniowym (computational work) wykonał prof. Denis Jacquemin z University of Nantes (Francja). Jednocześnie należy podkreślić, że w każdej publikacji włączonej do cyklu doktorskiego, Kandydat jest pierwszym autorem.

W ostatnich latach, metody fluorescencyjne odgrywają coraz większą rolę wśród technik spektroskopowych i jest to związane z rosnącym zakresem zastosowań praktycznych, daleko wykraczających poza obszar chemii organicznej i chemii strukturalnej. Oprócz znanych od dawna zastosowań w takich obszarach jak analityka kryminalistyczna, chemia bionieorganiczna, biochemia i analityka żywności, metody fluorescencyjne odgrywają coraz większą rolę w diagnostyce medycznej. Ciekawostką wartą zapamiętania przez osoby uprawiające badania w zakresie chemii organicznej jest fakt, że zjawisko fluorescencji, czyli zjawisko emisji promieniowania elektromagnetycznego przez cząsteczkę wzbudzoną do wyższych stanów elektronowych w wyniku uprzedniej absorpcji promieniowania elektromagnetycznego, zostało odkryte przez Sir Georga G. Stokesa, profesora Uniwersytetu w Cambridge, w połowie XIX wieku, w trakcie badania chininy, preparatu pochodzenia naturalnego, zawierającego alkaloidy drzewa chinowego, które obecnie odgrywają olbrzymią rolę w rozwoju syntezy asymetrycznej oraz innych działów współczesnej syntezy organicznej. Wiadomo, że warunkiem występowania fluorescencji jest wydajna absorpcja promieniowania z zakresu UV/VIS przez cząsteczkę związku organicznego o charakterze aromatycznym lub posiadającą skoniugowane/sprzężone układy wiązań podwójnych. Olbrzymie możliwości w tym zakresie otwierają aromatyczne związki heterocykliczne, szczególnie aromatyczne heterocykle 5-członowe zawierające atomy tlenu, siarki i/lub azotu. Zespół promotora prowadzi od wielu lat intensywne prace w zakresie rozwoju metod syntezy policyklicznych pochodnych pirolu, które doprowadziły do opracowania wydajnych metod syntezy stosunkowo mało znanych diketo(pirol)piroli, czyli pochodnych 1,4-diketopirolo[4,3-c]pirolu opisywanego w recenzowanej rozprawie akronimem 'DPP'. Zadanie postawione przed Doktorantem polegało na syntezie szeregu nowych pochodnych DPP, które jako nowe barwniki pirolowe mogłyby znaleźć zastosowanie w roli fluoroforów, przydatnych w diagnostyce medycznej, a dokładniej w coraz szybciej rozwijającej się technice bioobrazowania. Przeprowadzone badania, dorowadziły do otrzymania szeregu nowych związków poliheterocyklicznych, pochodnych pirolu, zawierających jako podstawniki fragmenty eterów koronowych lub odpowiednio funkcjonalizowane podstawniki aryłowe, wykazujące zdolność koordynowania różnorodnych kationów,

takich jak  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ , lub  $\text{Zn}^{+2}$ , które, jak wiadomo, odgrywają ważną rolę w procesach komórkowych, wymagających kontroli analitycznej przed postawieniem diagnozy medycznej. Jedno z nowatorskich rozwiązań opisywanych przez Doktoranta polegało na modyfikacji cząsteczki barwnika DPP poprzez wprowadzenie polarnego fragmentu soli fosfoniowej co doprowadziło do otrzymania związku **16** (wg numeracji w autoreferacie). W trakcie badań biologicznych okazało się, że obecność polarnej grupy trifenylofosfoniowej powoduje selektywną akumulację takiej sondy w mitochondriach komórek sercowych H9C2 i w ten sposób umożliwia obserwację szybkiego przemieszczania kationów potasowych  $\text{K}^+$  po stymulacji nigercyną.

Trzeci nurt projektu doktorskiego dotyczył badań polegających na zaprojektowaniu i syntezie pochodnych DPP, które, jak wykazano, można następnie wykorzystać jako wysoce czułe sondy fluorescencyjne do wykrywania kationów  $\text{Zn}^{+2}$ . W tej serii zastosowano dipikoliloaminę jako kluczową jednostkę rozpoznania.

Otrzymane barwniki pirołowe poddawano rozległym badaniom fizyko-chemicznym polegającym na kompletnej charakterystyce ich właściwości fotofizycznych. W końcowej fazie, otrzymane barwniki były badane w zastosowaniach medycznych jako nowe rodzaje sond fluorescencyjnych. Tak więc, opisywane badania, rozpoczynające się od wysoce specjalistycznych prac w zakresie syntezy organicznej, chemii obliczeniowej i badań fizyko-chemicznych, przybrały ostatecznie charakter prac interdyscyplinarnych, wymagających współpracy kilku zespołów pracujących także w obszarach biologii molekularnej oraz diagnostyki medycznej.

Jak zaznaczyłem we wstępie, rozprawa została oparta na cyklu 3 publikacji oryginalnych i z tego powodu stanowi ona rodzaj komentarza/autoreferatu do już zrecenzowanych i opublikowanych wyników, które znalazły swoje miejsce w literaturze chemicznej. Jako taka, stanowi więc ona rodzaj opracowania przedstawionego w formie wydruku komputerowego, na który składa się 47 stron tekstu własnego, do którego dołączone są reprinty wszystkich publikacji, łącznie z częściami SI (Supplementary Information). Z tego powodu, cała rozprawa stanowi obszerne opracowanie, zajmujące łącznie 304 strony tekstu.

Wprowadzenie ('Introduction'), czyli Rozdział 1, daje czytelnikowi możliwość zapoznania się z tematyką związaną ze spektroskopią fluorescencyjną poczynając od opisu zjawiska fluorescencji i reguł, które nim rządzą. W drugiej części wprowadzenia Doktorant dokonał podsumowania prac nad syntezą diketopirolopiroli poczynając od pionierskiej pracy Farmuma et al. opublikowanej w roku 1974 i kończąc na najnowszych procedurach z wykorzystaniem aromatycznych nitryli, pozwalających na syntezę niesymetrycznie podstawionych pochodnych DPP, które zostały wykorzystane przez Doktoranta w trakcie prowadzonych przez niego prac eksperymentalnych. Metody syntezy niesymetrycznych pirolopiroli zostały opracowane w zespole Promotora i opublikowane wcześniej w *Angew. Chem.* w roku 2020.

'Opis badań własnych' ('Results and Discussion') liczący 7 stron tekstu komputerowego został podzielony na trzy podrozdziały stosownie do tematyki każdej z publikacji stanowiących podstawę rozprawy. Wydaje się, że jest to podejście słuszne, gdyż pełny opis, łącznie ze szczegółami eksperymentalnymi, został już zawarty w załączonych publikacjach.

Dyskusja nad uzyskanymi wynikami kończy się 'Rozdziałem 6' zatytułowanym 'Comparison and Conclusions', a po nim umieszczono wykaz 64 pozycji literatury cytowanej w autoreferacie; wiele pozycji zawiera po kilka cytowanych publikacji, a więc liczba cytowanych prac jest faktycznie o wiele większa. Spis literatury cytowanej został przygotowany starannie i w zgodności z obowiązującymi w tym zakresie standardami międzynarodowymi.

Autoreferat został przedstawiony w przejrzysty i dobrze zrozumiały sposób; włączono do niego niezbędne schematy pozwalające dobrze śledzić kolejne etapy zrealizowanych prac eksperymentalnych. Dyskusja dotycząca prac teoretycznych, pomiarów fizyko-chemicznych i badań medycznych nie została włączona do autoreferatu i jest dostępna tylko w tekstach załączonych publikacji.

Jedna z uwag krytycznych, która nasunęła mi się przy czytaniu tekstu rozprawy dotyczy kwestii nomenklaturowej związanej z nazwą opisywanych pirolopiroli. Włączenie do ich nazwy przedrostka 'diketo' jest oczywistą nieścisłością, gdyż

sugeruje obecność ugrupowania ketonowego. Tymczasem, grupy karbonylowe obecne w pozycji  $\alpha$  pierścienia pirolu należałoby zakwalifikować raczej jako fragmenty ugrupowania amidowego. Z tego powodu, dla macierzystego układu bardziej prawidłowa byłaby nazwa '2,5-dihidropyrrolo[3,4-c]pyrrole-1,4-dione' (w uproszczeniu: 'pyrrolopyrroledione' (PPD); po polsku: 'pirolopirolodiony'. Zresztą, taka nazwa podstawowego układu została zastosowana przez Doktoranta w opisach otrzymanych związków zamieszczonych w Supporting Information. Oczywiście, zdaje sobie sprawę z faktu, że używana od dawna nazwa 'diketopyrrolopyrrole' ma już swoje miejsce w literaturze i prawdopodobnie jest także używana przez innych autorów publikacji poświęconych tej tematyce.

Druga uwaga krytyczna odnosi się do opisu eksperymentów i uzyskiwanych produktów. W opisach, które są dostępne w 'Supplementary Information', Doktorant nie podaje opisu postaci wydzielanych produktów po etapie oczyszczania na kolumnie chromatograficznej. Prawdopodobnie chodzi o substancje oleiste, ale opis podany w lapidarnej formie '... to obtain 90% yield, 1.17 g.' (przykładowo ze strony S4 pierwszej publikacji) nic o tym czytelnikowi nie mówi.

W podsumowaniu mojej oceny pragnę podkreślić wysoką ocenę dokonań Doktoranta. Prace eksperymentalne polegające na syntezie kilkunastu fluoroforów (barwników fluorescencyjnych), zbudowanych na szkielecie 'diketopyrrolopyrrole' została wykonana w pełnej zgodności z zasadami nowoczesnej syntezy organicznej i są wzbogacone o rozległe badania teoretyczne, fizykochemiczne i z zakresu diagnostyki medycznej. Te ostatnie badania dały dość wyraźne wskazówki co do możliwości praktycznego wykorzystania niektórych z nowych związków w diganostyce medycznej. Interpretacje danych spektroskopowych są prawidłowe, a czystość opisywanych związków została potwierdzona zarejestrowanymi widmami HRMS. Niemniej, w trakcie obrony chciałbym się dowiedzieć, czy Doktorant podejmował próby potwierdzenia wzoru cząsteczkowego otrzymanych, nowych produktów końcowych na drodze analizy elementarnej.

Jak zaznaczyłem na wstępie, publikacje stanowiące podstawę recenzowanej rozprawy są wieloautorskie, ale kluczowa rola Doktoranta w trakcie ich powstawania

nie ulega wątpliwości ponieważ w każdej z nich Doktorant jest pierwszym autorem. Taka jego rola wynika także z załączonych oświadczeń współautorów.

W podsumowaniu mojej recenzji stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska złożona przez Mr. G. Dinesh Kumar M.Sc., spełnia warunki formalne, opisane w Ustawie 'Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późniejszymi zmianami, Dział V, Rozdział 2, Oddział 1) oraz zwyczajowe, stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora w zakresie nauk chemicznych. W oparciu o to stwierdzenie, zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny 'Nauki Chemiczne' działającej w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie z wnioskiem o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów postępowania w jego przewodzie doktorskim.



.....  
(prof. dr hab. Grzegorz Mlostoń)