

## Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr. inż. Marka Grzybowskiego

“Synteza analogów diketopirolopiroli o wysokim przekroju czynnym na absorpcję dwufotonową”

Mgr inż. Marek Grzybowski wykonał pracę doktorską w Instytucie Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk w latach 2010-2014, promotorem rozprawy był prof. Daniel Gryko. Celem doktoranta była synteza barwników – pochodnych diketopirolopirolu (DPP) – wykazujących wysokie wartości przekrojów czynnych na absorpcję dwufotonową ( $\sigma$ ), a także wysokie wydajności kwantowe fluorescencji oraz ich dokładne zbadanie. Ponieważ związki wykazujące wysoką absorpcję dwufotonową znajdują bardzo wiele zastosowań, wybór tematu pracy jest w pełni uzasadniony.

Rozprawa ma klasyczny układ: wstęp, część literaturowa, opis badań własnych, część eksperymentalna i spis cytowanej literatury. W części literaturowej (67 str.) zatytułowanej “Synteza i właściwości diketopirolopiroli”, ściśle związanej z tematyką rozprawy, doktorant omówił znane metody syntezy DPP, ich reaktywność, strukturę i własności oraz zastosowania, głównie jako wskaźników fluorescencyjnych i barwników o wysokim przekroju czynnym na absorpcję dwufotonową. Cytowane w tej części prace (zdecydowana ich większość została opublikowana w XXI w.) przedstawił w sposób niewyliczankowy, krytycznie je analizując. Warto podkreślić, że doktorant pracował w warunkach wyraźnej konkurencji z ośrodkami zajmującymi się dwufotonowymi własnościami DPP (np. odsyłacze 19j, 59b, 96 – wszystkie z lat 2013 i 2014), co dowodzi aktualności badanej przez niego tematyki. Podejrzewam, że było to też nieco stresujące dla doktoranta.

Rozdział “Badania własne” liczy 96 stron. Na wstępie stwierdzę, że podoba mi się “historyczny” sposób opisu badań przez doktoranta – przedstawia on (może niekiedy w sposób odrobinę przegadany, ale jasny) pozytywny lub negatywny (a tych było sporo) wynik, analizuje go, wyciąga poprawne wnioski i przechodzi do kolejnych badań eksperymentalnych. Pracę rozpoczął od badań nad syntezą polarnych pochodnych DPP, licząc że uda mu się otrzymać barwniki rozpuszczalne



w wodzie. W tym czasie (rok 2010) znana była tylko jedna praca dotycząca dwufotonowej absorpcji pochodnych DPP o małym ciężarze cząsteczkowym. Jako substrat wybrał pigment **86**, który otrzymał omówioną w części literaturowej metodą "bursztynianową". Przekształcił go drogą N-alkilowania pochodnymi monoeteru glikolu trietylenowego w bis-N-dialkilopochodne **157** i **158**, które z kolei poddał reakcji aminowania Buchwalda-Hartwiga morfoliną, uzyskując pochodne odpowiednio **160** i **161**. Nie było to proste zadanie i niestety związki te okazały się nierozpuszczalne w wodzie. Związek **157** przekształcił w niesymetryczny **165**, który również słabo rozpuszczał się w wodzie. Dopiero starannie przemyślana i zrealizowana synteza związku **168** (zawierającego cztery łańcuchy glikolu trietylenowego) doprowadziła do produktu bardzo dobrze rozpuszczalnego w wodzie, który został zbadany pod kątem barwienia żywych komórek, z umiarkowanym sukcesem. W kolejnym etapie badań doktorant postanowił otrzymać pochodne DPP, zawierające podstawniki jonowe. Zsyntetyzował pochodną zawierającą dwa podstawniki imidazoliowe **170**, która również nie w pełni go usatysfakcjonowała (nadawała się do zastosowania w mikroskopii fluorescencyjnej do selektywnego barwienia jąder komórkowych, ale selektywność barwienia nie była wysoka). Drogą logicznego rozumowania modyfikował początkowo "myślowo" struktury, otrzymując związki **172** i **173**, które okazały się dobrze rozpuszczalne.

Za swój największy sukces doktorant uważa "zaprojektowanie i syntezę unikalnych strukturalnie diketopirolopiroli o rozszerzonym chromoforze (EDPP) – płaskich pochodnych DPP, które pomiędzy rdzeniem DPP a podstawnikami aromatycznymi w pozycjach 3 i 6 posiadają dwa dodatkowe pierścienie sześciocłonowe". Podzielam ten pogląd. Autor opracował dość ogólny sposób syntezy trwałych diketopirolopiroli o rozszerzonym chromoforze (m.in. związki **202**, **241**, **244-247**), polegający na N-alkilowaniu DPP dietyloacetalem aldehydu bromooctowego, względnie  $\alpha$ -bromoketonami i wewnątrzcząsteczkowej reakcji Friedela-Craftsa. Realizacja tych syntez poprzedzona została wnikliwą analizą struktur N-podstawionych pochodnych DPP i możliwości zamknięcia dodatkowych pierścieni pomiędzy rdzeniem DPP a podstawnikami aromatycznymi w pozycjach 3 i 6 DPP. Doktorant przypuszczał, że w otrzymanej w ten sposób strukturze cały chromofor będzie wypłaszczony, co niewątpliwie istotnie powinno wpłynąć na własności fotofizyczne produktu. Zaplanował, zrealizował i zoptymalizował syntezę pochodnej **202**, a następnie wyżej wymienionych związków. Związek **245**, zawierający pierścienie tiofenowe w swej strukturze, został użyty w mikroskopii fluorescencyjnej do barwienia żywych komórek z pełnym sukcesem. Mimo, że wydajności substratów – odpowiednich pigmentów otrzymywanych z pochodnych benzonitrylu metodą



“bursztynianową” są raczej niewysokie (18-34%), to dalsze etapy przedstawionego sposobu zachodziły z dobrymi lub bardzo dobrymi wydajnościami. Biorąc pod uwagę ilość etapów syntezy i fakt, że substraty są tanie i dostępne handlowo, początkowe stwierdzenie o ogólności metodologii jest uprawnione.

Doktorant przeprowadził też syntezy EDPP drogą cyklizacji diketonów, otrzymanych drogą alkilowania DPP  $\alpha$ -bromoketonami, uzyskując w ten sposób EDPP 251, 252, 255, jednak wprowadzenie nowych podstawników aryłowych do EDPP otrzymanych w ten sposób nie spowodowało znacznego wzrostu rozpuszczalności otrzymanych pochodnych. Zastanawiając się nad innymi sposobami nadania produktom dobrej rozpuszczalności i właściwości dwufotonowych, doszedł do wniosku, że warunki te będą spełniać EDPP oparte na strukturze 9,9-dialkilofluorenu. Zaplanował drogę syntezy i otrzymał związek 258, który przekształcił w diacetal 259, a następnie po licznych optymalizacjach pochodne 260 i 265, a także fluorenowe EDPP z aminowymi podstawnikami donorowymi 268 i 269. Próba syntezy tych związków z diacetalami 266 i 267 nie powiodła się, wobec czego otrzymał je z wcześniej uzyskanego 260, zawierającego atom bromu, w reakcji Buchwalda-Hartwiga w obecności starannie dobranych prekatalizatora i ligandu. Tu również należy podkreślić pomysłowość i staranność doktoranta w realizacji zamierzonego celu. W rozdziale 3.4 autor opisał też kilka nieudanych (z jednym wyjątkiem) prób syntezy N-aryłowych analogów DPP. Przeprowadził wnikliwą dyskusję przyczyn niepowodzeń.

Te krótkie opisy nie oddają ogromu pracy włożonej przez doktoranta w realizację postawionych przed sobą celów, gdyż nie wszystko w laboratorium, jak to często bywa, toczyło się gładko. Negatywne wyniki uzyskiwane na niektórych etapach doktoratu mgr Grzybowski krytycznie analizował i wprowadzał modyfikacje bądź zmieniał plan działania, z reguły zabiegi te kończyły się pozytywnie.

Znaczna część, zarówno części literaturowej, jak i badań własnych przedstawionych w rozprawie mgr. Grzybowskiego, poświęcona jest zastosowaniu DPP jako wskaźników fluorescencyjnych i barwników o wysokim przekroju czynnym na absorpcję. Autor zbadał, we współpracy z zespołem z Université Bordeaux oraz Zakładem Immunologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, absorpcję dwufotonową polarnych DPP i pochodnych EDPP oraz absorpcję jednofotonową EDPP. Stwierdził między innymi, że kationowe barwniki 170 i 184 (a także inne) są bardzo dobrze rozpuszczalne w wodzie i można je zastosować w mikroskopii fluorescencyjnej do selektywnego barwienia jąder komórkowych. Przeprowadził dogłębną analizę zależności własności



fotofizycznych DPP i EDPP od ich struktury. Nie jestem specjalistą w tej dziedzinie, nie mogę jednak powstrzymać się od stwierdzenia, że wymienione badania – cenne i wartościowe oraz umożliwiające wyciąganie wniosków na przyszłość – nie byłyby oczywiście możliwe bez istnienia zaprojektowanych przez doktoranta obiektów badań. Powiązanie ich struktury z przewidywanymi właściwościami, a co najważniejsze realizowana często w sposób mistrzowski ich synteza – a nader często nie było to zadanie łatwe – jest główną zasługą doktoranta.

Obszerna (68 str.) część eksperymentalna napisana jest przejrzysto, opis procedur umożliwia ich odtworzenie. Produkty zidentyfikowane są jednoznacznie za pomocą widm  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR oraz widm masowych i (mniej więcej w połowie przypadków) analiz elementarnych. Tych ostatnich często brakuje w pracach realizowanych w ostatnich latach, a przecież to one są ostatecznym i jednoznacznym dowodem czystości związku. Podejrzewam, i chciałbym usłyszeć potwierdzenie, że doktorant analizował metodą spaleniową wszystkie otrzymane przez siebie, nieopisane w literaturze produkty, ale w niektórych przypadkach uzyskiwał wyniki zbyt odbiegające od normy, dlatego ich nie zamieścił. W przypadku związków o bardzo dużych ciężarach cząsteczkowych jest to zrozumiałe, ale przydałby się komentarz. Podkreślam raz jeszcze, że struktury wszystkich produktów zostały określone jednoznacznie.

Spis literatury zawiera 134 pozycje, z czego wiele składa się z podpunktów (np. pozycja 19 zawiera 10 odsyłaczy). W zdecydowanej większości są to cytowania z ostatnich lat.

Swoje wyniki doktorant przedstawił w trzech publikacjach w renomowanych czasopismach (*European Journal of Chemistry*, *Organic Letters*, *Journal of Physical Chemistry B*), jest też współautorem dwóch dalszych artykułów (*Angewandte Chemie Int.*, *Chemical Communications*), których tematyka pośrednio jest związana z zagadnieniami jego pracy doktorskiej. Praktyczne walory opracowanej przez doktoranta metodologii syntezy pochodnych DPP o rozszerzonym chromoforze spowodowały, że zostały one opatentowane (trzy patenty).

Nie mam żadnych zastrzeżeń merytorycznych do pracy.

Edycja rozprawy jest bardzo staranna, w liczącym 246 stron opracowaniu dostrzegłem zaledwie kilka literówek i przejęzyczeń.

Wspomaganie katalizy międzyfazowej przez dodatek aprotonowego rozpuszczalnika polarnego, stosowane z powodzeniem przez doktoranta w przynajmniej piętnastu przypadkach, jest znane od dawna ze wczesnych prac Mąkoszy. Uważam, że należało przynajmniej jedną z nich zacytować.

W części doświadczalnej brak opisu syntezy związku **86** (mimo starannej dyskusji w rozdziale "Badania własne", str. 73-74). Na str. 76 autor stwierdza "Przeprowadziłem próby reakcji DPP **86** z 1,3-dibromopropanem i 1,2-dichloroetanem, lecz w żadnej z nich nie udało mi się otrzymać oczekiwanego produktu". A co powstawało, smoły, regenerowano substraty? Wolałbym, żeby autor pisał "przeprowadziłem reakcję", a nie "nastawiłem reakcję" i nie używał sformułowań "protony ulatują z mieszaniny" (str. 87), "motorem napędowym jest" (str. 85), "finałowy produkt" (często).

W konkluzji stwierdzam, że mgr inż. Marek Grzybowski jest bardzo dobrym chemikiem, umiejącym na podstawie własnych wyników i danych literaturowych zaprojektować i zrealizować syntezy o znacznym stopniu złożoności. Potrafi biegle posługiwać się współczesnymi sposobami wydzielania i oczyszczania związków organicznych oraz metodami spektralnymi. Krytycznie analizuje wyniki własne i cudze. Potrafi współpracować z fizykami i fizykochemikami oraz przedstawicielami nauk medycznych.

Praca mgr. Grzybowskiego spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim, wnosząc do Rady Naukowej Instytutu Chemii Organicznej PAN o dopuszczenie jej autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę wagę tematyki i sposób jej realizacji oraz przedstawiania wyników, uważam ponadto, że pracy doktorskiej mgr. Grzybowskiego należy się wyróżnienie.

