

Jacek Waluk

Instytut Chemii Fizycznej PAN

Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa

Warszawa, 17.5.2015

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Mateusza Gierszewskiego

Spektroskopia i fotofizyka pochodnych 5-deazaalloksazyny. Ujęcie eksperymentalne i teoretyczne.

Pochodne alloksazyn oraz izoalloksazyn - cząsteczki będące przedmiotem rozprawy doktorskiej Pana mgr Mateusza Gierszewskiego - są ściśle spokrewnione z flawinami – związkami pełniącymi bardzo ważne i różnorodne role w procesach biochemicznych. Najbardziej znanym przedstawicielem flawin jest ryboflawina – witamina B₂. Spektroskopia, fotochemia i fotofizyka alloksazyn to tematyka uprawiana od lat w grupie profesora Marka Sikorskiego, promotora recenzowanej rozprawy. Promotorem pomocniczym była Pani dr Dorota Prukąła.

Głównym celem doktoratu Pan Gierszewskiego było poznanie właściwości 5-deazalloksazyn oraz 5-deazaizoalloksazyn – związków powstałych poprzez zastąpienie azotu N(5) w alloksazynach przez grupę metinową (CH=), a następnie porównanie otrzymanych charakterystyk z danymi dostępnymi dla analogicznych alloksazyn i izoalloksazyn. W zakres pracy, oprócz wymienionych powyżej cząsteczek weszły również ich pochodne alkilowe, a także czteropierścieniowe pochodne alloksazyny.

Rozprawa liczy 315 stron, zawiera 131 rysunków, 50 tabel, a lista odnośników literaturowych obejmuje 181 pozycji. Układ rozprawy jest tradycyjny. Po streszczeniu i abstrakcie w języku angielskim Autor przedstawia wstęp i cele pracy. Następnie, w liczącej 63 strony części literaturowej omawia stan wiedzy odnośnie elektronowych stanów wzbudzonych – singletowych i trypletowych - alloksazyn i izoalloksazyn. Osobne podrozdziały poświęcone są właściwościom tlenu singletowego oraz znaczeniu flawin dla organizmów żywych i w gospodarce człowieka. W następnej kolejności Autor omawia obserwowaną w pochodnych flawin reakcję podwójnego przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym, równowagi kwasowo-zasadowe, oraz efekty solwatochromowe. Końcowy fragment części literaturowej poświęcono technice synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej. Ta część pasowałaby, moim zdaniem, równie dobrze do następnego rozdziału – części eksperymentalnej, w której Autor omawia badane przez siebie objekty, używane odczynniki, opisuje metody pomiaru i aparaturę zastosowaną do badań widm elektronowych, zarówno stacjonarnych, jak i czasowo-rozdzielczych, a wreszcie przedstawia podstawowe informacje dotyczące obliczeń kwantowo-chemicznych.

Główną częścią rozprawy jest rozdział 4, w którym Autor omawia wyniki badań własnych. Obszerny – ponad 160 stron - rozdział podzielony został na osiem części, każda poświęcona jest innemu zagadnieniu. W pierwszym podrozdziale omówiono doświadczalne wyniki dotyczące położenia stanów singletowych oraz ich parametrów fotofizycznych dla 5-dezaalloksazyny i szeregu pochodnych w rozmaitych rozpuszczalnikach. Podrozdział następny dotyczy stanów trypletowych, badanych poprzez widma absorpcji przejściowej. Znajdujemy tu także wyznaczenie wartości wydajności przejścia interkombinacyjnego dla 5-dezaalloksazyny w wodzie.

W następnej części autor omawia wyniki obliczeń kwantowo-chemicznych. Przedstawia rezultaty obliczeń energii przejść elektronowych i odpowiadających im sił oscylatora, uzyskane dla szeregu pochodnych przy użyciu rozmaitych funkcjonałów gęstości i różnych baz funkcyjnych. Dla wybranych związków wyliczono również rozkłady gęstości elektronowej w stanach S_0 i S_1 , a także momenty dipolowe oraz energie przejść singlet-tryplet i tryplet-tryplet. Dla kilku pochodnych pokazano kształt orbitali Kohna-Shama zaangażowanych w najniższe przejścia elektronowe.

Podrozdział 4.4 poświęcony jest procesowi fotoindukowanego podwójnego przeniesienia protonu w pochodnych 5-deazaalloksazyny oraz czteropierścieniowych alloksazyn. Zgodnie z oczekiwaniami, tautomeryzacja w stanie wzbudzonym obserwowana jest dla pochodnych 5-deazaalloksazyny niezablokowanych grupą alkilową przy atomie N(1). Natomiast w związkach 1MeFR oraz 3MeFR wykryto gaszenie fluorescencji przez kwas octowy.

W części 4.5 pokazano i omówiono widma synchronicznej spektroskopii fluorescencyjnej, podkreślając jej zalety w stosunku do rutynowej spektrofluorymetrii. Te ostatnie uwidaczniają się zwłaszcza w przypadku analizy wieloskładnikowych mieszanin.

Podrozdział 4.6 dotyczy fotosensybilizowanego tworzenia tlenu singletowego przez 5-deazaalloksazyny. Okazuje się, że są one dobrymi fotouczulaczami w procesie tworzenia tlenu singletowego, choć wydajności tego procesu są nieco większe dla odpowiednich alloksazyn. Ciekawym wynikiem jest znacznie niższa wydajność generowania tlenu singletowego przez związki o strukturze izoalloksazynowej.

Część 4.7 omawia równowagi kwasowo-zasadowe 5-deazaalloksazyn. Stacjonarne i czasowo-rozdzielcze pomiary przeprowadzone w szerokim zakresie wartości pH pozwoliły Autorowi zidentyfikować rozmaite formy obecne w stanach S_0 i S_1 .

Ostatnia część – 4.8 – poświęcona jest efektem solwatochromowym. Używając jako sond cząsteczki 8Me-5DAII, 9Me-5DAII i 10Et-5DizoAll, autor testuje rozmaite skale polarności i protyczności rozpuszczalników do opisu przesunięć spektralnych widm absorpcji i emisji. Ze względu na możliwość rozmaitych oddziaływań specyficznych nie jest to zadanie łatwe. Stosunkowo najlepsze wyniki daje (sądzę, że zgodnie z oczekiwaniami) zastosowanie wieloparametrowej skali Catalána. Analiza efektów solwatochromowych pozwala na wyciągnięcie pewnych wniosków odnośnie siły wiązań wodorowych z rozmaitymi fragmentami cząsteczki.

Rozprawę kończy czterostronicowa dyskusja i wnioski. Istotnym suplementem jest wykaz publikacji i wystąpień konferencyjnych. Ze względu na ogromną liczbę zawartych w nim pozycji (w sumie 71!), jest on świadectwem aktywności naukowej doktoranta.

Moje ogólne wrażenia po przeczytaniu rozprawy określić mogę jako mieszane. Zaczę od pozytywów. Ogrom pracy wykonanej przez Autora jest imponujący. Zbadano wiele cząsteczek w rozmaitych otoczeniach, łącząc podejście doświadczalne z teoretycznym. Użyto wielu technik spektroskopowych, poruszono bardzo wiele zagadnień związanych z rozmaitymi aspektami struktury, spektroskopii, fotofizyki i fotochemii. W zasadzie każdy z ośmiu podrozdziałów omawiających wyniki badań mógłby stać się przedmiotem osobnej rozprawy. Wśród wyników zasługujących na wyróżnienie wymienić mogę (i) obserwację

„oczyszczania” najniższego stanu $\pi\pi^*$ z „domieszki” stanu $n\pi^*$, (ii) wykrycie dwuprotonowej fototautomerii, czy wreszcie (iii) procesu wygaszania stanu wzbudzonego przez kwas octowy.

Niestety, ceną za bogactwo materiału wyprodukowanego przez Autora jest dość pobieżne potraktowanie wielu ciekawych obserwacji oraz niezbyt systematyczna analiza uzyskanych wyników. Postaram się to udowodnić na kilku przykładach.

1. Najobszerniejszy fragment pracy omawiający wyniki Autora to podrozdział dotyczący obliczeń kwantowo-chemicznych (ponad 60 stron). Wykonana została ogromna praca. Dla przykładu, Tabela 14 przedstawia energie i siły oscylatora piętnastu najniższych przejść singlet-singlet liczonych na dziewięć sposobów, tj. z użyciem różnych baz i, dodatkowo, z zastosowaniem modelu PCM. Podobna sytuacja powtarza się wiele razy. Natomiast wniosek o charakterze ogólnym kilkakrotnie przez autora przywoływany, to stwierdzenie, że lepsze wyniki uzyskuje się dla większej bazy. Nie jest to wynik nieoczekiwany. Poza tym, eksperymentalnym odnośnikiem dla wykonywanych obliczeń jest położenie dwóch niskoleżących pasm absorpcyjnych, charakter których raczej nie ulega wątpliwości.

Moim zdaniem, tak obfity materiał eksperymentalny otrzymany przez Autora mógłby być podstawą do przewidywań o charakterze ogólnym, dotyczących wpływu podstawnika w określonej pozycji na położenie pierwszego i drugiego stanu $\pi\pi^*$, jak również zmian energii stanu $n\pi^*$, zarówno w allo- jak i w izoalloksazynach i odpowiednich deazapochodnych. Inna sprawa, że tego rodzaju przewidywania nie wymagają tak pracochłonnych obliczeń. Wystarczyłaby analiza orbitali molekularnych cząsteczek macierzystych, a konkretnie wartości współczynników LCAO na danym centrum. Tego rodzaju podejście, stosowane od dziesięcioleci w chemii kwantowej (np. prace Goutermana, Dewara i Michla) znakomicie

sprawdziło się dla setek związków. Jestem przekonany, że nawet jakościowa analiza orbitali molekularnych pozwoliłaby wyjaśnić np. oscylujące energie przejść dla stanów $\pi\pi^*$ i małe zmiany energii przejść $\pi\pi^*$ (Rys. 60-61, 63-64). W tym kontekście oczekiwałbym w pracy rysunków przedstawiających orbitale atomowe niepodstawionych cząsteczek macierzystych, a nie wybranych (wedle jakiego kryterium?) pochodnych.

2. Aby nie zostać posądzony o nienależyty szacunek dla metod obliczeniowych, przejdę teraz do tych fragmentów pracy, w których powinny one zostać użyte, a nie zostały. A jest takich miejsc sporo. Po pierwsze, obliczenia mogłyby wzmocnić przypisanie rozmaitych form kwasowo-zasadowych. Po drugie, aż się prosi o diagramy energii stanów singletowych i trypletowych przy omawianiu fotofizyki (zdominowanej przez przejścia bezpromieniste). Taki diagram mógłby umożliwić szczegółową dyskusję różnic w generowaniu tlenu singletowego przez formy alloksazynowe i izoalloksazynowe, oraz oczywiście pomóc w analizie porównawczej związków aza- i deaza. Wreszcie, analiza obliczeń struktury kompleksów z alkoholami dostarczyłaby materiału odnośnie siły rozmaitych możliwych w badanych cząsteczkach wiązań wodorowych, o czym Autor wspomina w części 4.8.

3. Omawiając w części 4.1 fotofizykę stanów singletowych, Autor podaje wartości stałych dezaktywacji promienistej oraz sumy stałych dezaktywacji bezpromienistej. Nasuwa się oczywiste pytanie, jaki jest w tych ostatnich wkład konwersji wewnętrznej, a jaki – przejścia międzysystemowego. Autor nie podejmuje tego wątku, natomiast w następnym podrozdziale, 4.2 podaje wartość wydajności obsadzania stanu trypletowego dla 5-dezaalloksazyny. Niestety, dla roztworu wodnego, a ten rozpuszczalnik nie figuruje z kolei w Tabeli 7. W tej samej tabeli znajdujemy również ciekawą, ale nieskomentowaną różnicę w wartościach stałej k_r w DCE w stosunku do polarnych rozpuszczalników. Przy okazji, mogę się

tylko domyślać, co oznacza DCE, bo tego skrótu brakuje w wykazie stosowanych rozpuszczalników (str. 86).

4. Omawiając różne formy kwasowo-zasadowe, autor wyróżnia (Rys. 117) struktury 1NK i 10NK oraz 10NA i 1 NA. Na powyższym rysunku są one przedstawione jako struktury rezonansowe, ale z lektury tekstu odnoszę wrażenie, że Autor traktuje te formy jako osobne indywidua. Proszę o komentarz.

5. Chętnie posłuchałbym próby wyjaśnienia mechanizmu wygaszania fluorescencji przez cząsteczki kwasu octowego.

6. Zagadkowa wydaje mi się obserwacja deprotonacji kationu 13Me-5DAII w stanie wzbudzonym. Jeśli protonacja zachodzi na atomie N(10), to spodziewałbym się efektu odwrotnego, bo przecież ten właśnie atom azotu jest akceptorem protonu przy fototautomeryzacji.

7. Autor wspomina w tekście i we wnioskach, że „analiza zaników absorpcji przejściowej w wielu przypadkach wykazała obecność drugiego, długożyjącego składnika, którym jest anionorodnik powstały wskutek oddziaływania stanu trypletowego ... z tą samą cząsteczką znajdującą się w stanie podstawowym”. Brakuje jakiegokolwiek wzmianki o podstawach takiego wniosku. A co z kationem?

8. Nie wspomniano w tekście (str. 105), czy przy obliczaniu energii kompleksów z wiązaniem wodorowym brano pod uwagę błąd superpozycji bazy (BSSE).

9. W wielu Tabelach brakuje wartości błędów oszacowania podawanych wartości, co utrudnia, a czasem wręcz uniemożliwia wyciągnięcie wniosków z porównywania uzyskanych danych.

10. To, co Autor przedstawia jako stopień zaangażowania orbitalu molekularnego w przejście elektronowe, jest w rzeczywistości procentowym udziałem konfiguracji. Stopień zaangażowania orbitalu jest z reguły wyższy, ponieważ dany orbital uczestniczy nie tylko w jednej konfiguracji.

11. Autor nie wyjaśnia, na czym polega brak możliwości zarejestrowania widm absorpcji w fazie gazowej (str. 142).

Strona edytorska pracy jest dość poprawna, choć liczba drobnych błędów jest spora, doliczyłem się ich w sumie stu kilkudziesięciu. Najczęściej szwankują interpunkcja i pisownia nazwisk zagranicznych. Dość duża jest dowolność Autora w stawianiu bądź niestawianiu kropki w podpisach pod rysunkami. Widoczne są przykre skutki używania techniki „cut and paste” (np. „analiza paramterów” pojawia się kilkanaście razy). Poniżej przytaczam tylko te błędy, które uważam za merytorycznie istotne oraz te, które sprawiły mi największą przykrość przy czytaniu:

- omawiając obliczenia energii przejść Autor wspomina w tytułach sekcji o „wykorzystaniu metod DFT”, podczas gdy chodzi o TD-DFT (ciekawe że prawidłowy termin pojawia się, ale tylko raz na sześć przypadków)

- co oznacza „półzredukowany rodnik” (str. 26)?

- „bleaching” to po polsku wybielanie (w pewnym miejscu Autor to zauważył)

- co oznacza „FMF” na Rys. 11?

- w Tabeli 15 pomyłono symbole reprezentacji nieprzywiedlnych grupy C_5

- str. 146: „przejście charakteryzuje niska siła oscylatora (f) stąd ma ono charakter π^* ”

- „roztwór saturowany argonem” !!!

Podsumowując: uważam, że, pomimo omawianych powyżej usterek, praca doktorska Pana mgr Mateusza Gierszewskiego spełnia ustawowe i zwyczajowe wymogi stawiane doktorantom (art. 16 i 17 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 poz. 595 ze zm. Dz.U. z 2005 r., nr 164, poz. 1365)). Dodać też należy, że przedstawione w rozprawie wyniki były już przedmiotem kilku publikacji. Stawiam wniosek o dopuszczenie Pana Mateusza Gierszewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jacek Waluk



