

Jacek Waluk

Instytut Chemii Fizycznej PAN

Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa

Warszawa, 1.12.2011

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Magdaleny Bruszyńskiej

*Fototautomeria alloksazyn*

Rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Bruszyńskiej wykonana została na Wydziale Chemii UAM w grupie prof. UAM dr hab. Marka Sikorskiego. Zespół ten od dawna specjalizuje się w badaniach alloksazyn i izoalloksazyn – związków flawinowych o istotnym znaczeniu biologicznym. Szczególnie ciekawym zjawiskiem zaobserwowanym we wzbudzonych elektronowo alloksazynach jest fotoindukowana tautomeryzacja, wspomagana przez cząsteczkę protycznego „partnera”, takiego jak kwas octowy, alkohol, a nawet pirydyna. Badanie fototautomerii alloksazyn jest zadaniem niezwykle trudnym. Wynika to z wielu czynników, jak np. (i) obecność w strukturze alloksazyny wielu potencjalnych centrów reakcji; (ii) możliwość tworzenia wielu rodzajów kompleksów z wiązaniem wodorowym; (iii) słabo rozseparowane pasma przejść elektronowych form tautomerycznych, mało różniące się dla rozmaitych kompleksów, czy wreszcie (iv) trudności w uzyskaniu roztworów alloksazyn wolnych od protycznych zanieczyszczeń (woda krystalizacyjna).

W swojej pracy Autorka przeprowadziła badania, których głównym celem, jak pisze na str. 86, była „próba podjęcia głosu nad mechanizmem fototautomeryzacji alloksazyn”. Cel

ten realizowała stosując różnorodne metody, zarówno eksperymentalne, jak i teoretyczne. Już sam widok pracy robi wrażenie ze względu na jej objętość – liczy ona bowiem 302 strony. W obejmującym 80 stron przeglądzie literaturowym znajdujemy informacje o strukturze krystalicznej metylowych pochodnych alloksazyn, ich własnościach kwasowo-zasadowych, strukturze elektronowej, i wreszcie o mechanizmach procesów przenoszenia protonów.

Po omówieniu w rozdziale II celu i układu pracy, Autorka przechodzi do najważniejszego, liczącego ponad 150 stron rozdziału III, w którym znajdujemy omówienie wyników i ich dyskusję. Następuje po nim część zawierająca podsumowanie i wnioski. W rozdziale V umieszczono opis stosowanych technik eksperymentalnych. Rozprawę zamyka liczący 239 pozycji spis odnośników literaturowych.

Rozprawa Pani mgr Bruszyńskiej imponuje rozmachem, zakresem podjętej tematyki i przede wszystkim ogromem wysiłku, jaki autorka włożyła w badania, zarówno eksperymentalne, jak i teoretyczne. W sumie omówiono w pracy kilkanaście związków, a także ich kompleksów z protycznymi partnerami, otrzymując charakterystyki krystalograficzne, strukturalne, spektralne, elektronowe, fotofizyczne, fotochemiczne, a także informacje o możliwych ścieżkach tautomeryzacji, zarówno w podstawowym, jak i wzbudzonym stanie elektronowym. Przeprowadzono rozmaitego rodzaju obliczenia kwantowo-chemiczne, w szczególności optymalizacje geometrii molekuł w stanie wzbudzonym. Łącząc eksperyment z teorią, uzyskano informacje na temat możliwych ścieżek reakcji tautomeryzacji.

Paradoksalnie, to co świadczy o sile pracy, jest, z drugiej strony, jej pewną słabością. Podjęcie tak wielu wątków spowodowało, że pewne zagadnienia zostały potraktowane mniej

wnikliwie niż na to zasługują. Przykładami są tu choćby obserwacje bardzo dużej zależności wydajności kwantowej i czasów zaniku od rozpuszczalnika dla cząsteczek RC3 i RC4 ( str.120): przeciwne zachowanie wykazują molekuly 6MAII i 89MAII (str. 149), czy też nieskomentowane wyniki pomiarów czasów zaniku fluorescencji 6MAII w funkcji temperatury (str. 157-8). A już wyjątkowo lakoniczny jest rozdział 5.14, poświęcony kinetyce reakcji przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym. Czytamy w nim, że „Wyniki pomiarów czasowo-rozdzielczych pozwoliły na wyznaczenie stałych szybkości przeniesienia protonu w stanie wzbudzonym...”. Nie dowiadujemy się jednak, o jakie pomiary chodzi, jakie rozpuszczalniki (i domieszki) stosowano. Z kolei na schemacie kinetycznym nie znajdujemy informacji odnośnie tego, jak (i czy w ogóle) rozważano rolę „mediatora” tautomeryzacji (kwasu octowego).

Poniżej przedstawiam bardziej szczegółowe uwagi krytyczne. Jest ich sporo, co nie powinno dziwić, z uwagi na objętość rozprawy.

1. Nie wiem na jakiej podstawie Autorka przyjmuje  $500\text{ cm}^{-1}$  jako błąd metody przy liczeniu energii przejść elektronowych (np. str. 105); moim zdaniem jest on przynajmniej 5 razy większy. W literaturze zwykle przyjmuje się wartość  $2000\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ .

2. Rysując orbitale molekularne i przedstawiając dominującą dla danego przejścia elektronowego konfigurację (rys. 3.2.13-14, 3.4.17-18, 3.5.20-27), Autorka stosuje niezrozumiałą dla mnie konwencję, umieszczając na skali energii odpowiednie orbitale HOMO i LUMO tym dalej od siebie, im większa jest obliczona energia przejścia. Konsekwencją takiego podejścia jest dość dziwna pozycja linii przedstawiających energie orbitalne, np. na rys. 3.2.13 najniżej jest umieszczony orbital HOMO-1, potem HOMO-3,

potem HOMO, a wreszcie HOMO-2. Ale ważniejsze jest, że taka konwencja rysunku sugeruje, że większej różnicy energii orbitalnej odpowiada wyższa energia stanu elektronowego. Mam nadzieję, że Autorka wie, że tak wcale nie musi być.

3. Termin „relaksacja oscylacyjna” używany jest w pracy niezbyt precyzyjnie, np. na str. 167, przy okazji opisu zmian geometrii po wzbudzeniu, czy też na str. 234.

4. Nie rozumiem dlaczego na rys. 3.4.20 podpis „S<sub>1</sub> geom” umieszczono obok stanu, który jest stanem S<sub>2</sub> zarówno w absorpcji, jak i w emisji. Podobna uwaga odnosi się do podpisu „S<sub>2</sub> geom”. W dodatku opisując ten rysunek, Autorka pisze: „widać wyraźnie odwrócenie kolejności stanów <sup>1</sup>(π, π\*) oraz <sup>1</sup>(n, π\*)”; z rysunku wynika coś przeciwnego. Mam podobne zastrzeżenia również w stosunku do rys. 3.5.49.

5. Zgadzam się z Autorką co do wyższości analizy populacyjnej NBO nad analizą populacyjną Mullikena. Ale z kolei mówiąc o zgodności wyników z obliczeniami Szymusiaka i innych należało podać, jakiego typu analizę stosowali.

6. Mam poważne zastrzeżenia co do wiarygodności wyników dotyczących określania stechiometrii kompleksów 6MAlI z kwasem octowym. Zmiany widm absorpcji po dodaniu kwasu octowego są nieznaczne, a z własnego doświadczenia wiem, że do analizy należy stosować wartości otrzymane dla długości fali przy których jedna z form absorbuje znacznie silniej niż druga. Poza tym należy pamiętać, że wzór 3.5.3, który stosuje Autorka, nie uwzględnia zmiany stężenia kwasu octowego spowodowanej tworzeniem kompleksów. Ale najważniejsze jest to, że wzór ten wyprowadzony został z równania na stałą równowagi w którym występowały całkowite współczynniki stechiometryczne w proporcji 1:n:1 (A+nX=AX<sub>n</sub>). Dla przypadku, kiedy dwie cząsteczki alloksazyny łączy jedna cząsteczka kwasu

octowego ta proporcja wynosi 2:1:1, i wówczas nie można w prosty sposób „przeskalować” wyrażenia na stałą równowagi. Należy więc spodziewać się innej zależności niż opisana wzorem 3.5.4).

7. Nie bardzo rozumiem, jak Autorka rozumie pojęcie „ścieżki minimum energii reakcji”, zwłaszcza, że rysunki 3.5.28-30 przedstawiają dwie krzywe o różnym przebiegu.

8. Autorka dyskutuje z jednej strony termodynamikę tautomerii, a drugiej, wspomina, że „siłą napędową reakcji jest redystrybucja gęstości elektronowej” (str. 235). Z kolei obliczone zmiany gęstości na centrach reakcji są raczej niewielkie. Czy można pokusić się o stwierdzenie, że małe zmiany gęstości są przyczyną niezbyt dużej szybkości procesu? Innymi słowy, determinują one barierę procesu, który w stanie wzbudzonym byłby kontrolowany kinetycznie, a nie termodynamicznie.

9. O komentarz prosi się obserwacja punktów izoemisyjnych w widmach roztworów 6MAll i 89MAll miareczkowanych kwasem octowym (rys. 3.5.36-40).

10. Rys. 3.5.46 pokazuje około 10 widm, podczas gdy w podpisie wspomniano o dwóch. Czy „w obecności kwasu octowego” oznacza jego różne stężenia? (nie podano ich w podpisie). Dlaczego nie zamieszczono na rysunku widma absorpcji?

11. Co oznacza stwierdzenie na str. 231: „Pozostałe stany singletowe prawdopodobnie nie są zrelaksowane po wzbudzeniu.”

12. Nie ma chyba sensu podawanie czasu zaniku fluorescencji z trzema cyframi po przecinku (str. 244). Poza tym, jak pewna jest Autorka możliwości wiarygodnego rozdzielania

składowych zaniku dwueksponencjalnego o czasach tak bliskich sobie jak 0.7 i 1.1 ns (tabela 3.5.12)?

13. Autorka nazywa barierę tautomeryzacji 16.4 kcal/mol „niewysoką”. Co jest kryterium upoważniającym do takiego stwierdzenia?

Strona redakcyjna pracy jest poprawna, rysunki ładne i czytelne, a liczba zauważonych pomyłek niewielka w stosunku do objętości pracy. Zamieszczam je poniżej z obowiązku recenzenta:

- str. 13: na rys.1.1.5 zamieniono w podpisie formy (a) i (b)
- str. 21, 103: „dwoma grupami”
- str. 24: symbol  $E_T$  użyty został w dwóch różnych znaczeniach
- str. 26: „Dimortha”
- str. 31, 50, 149: zamiast terminu „struktura wibroniczna” należało użyć terminu „oscylacyjna”
- str. 31: fosforescencja o długim czasie życia rzędu kilkudziesięciu ns??
- str. 34: co to jest forma B?
- str. 36: co oznacza: „powierzchniowe oddziaływanie między stanem CT a stanem podstawowym”
- str. 40: „ $S_0 S_1$ ”, „ $S_0 S_2$ ”

- str. 45: „kształtu powierzchni ekwipotencjalnej” - co to znaczy?

- str. 48 i 294 „Held” zamiast „Heldt”

- str. 49: „rozszczerzenie poziomów oscylacyjnych  $0^+$  i  $0^-$ ”: te poziomy są *wynikiem* rozszczepienia

- str. 48: „oddziaływań”

- str. 70: „Onsagera”, „przy duże wydajności”

str. 77: „W przypadku krystalicznego 7-azaindolu nie stwierdzono występowania procesu ESDPT z uwagi na brak struktury podwójnie związanej wodorowo”: to nieścisłe, w tej strukturze brak dwóch wiązań wodorowych łączących te same (dwie) cząsteczki

str. 100: zamiast terminu „współczynnik ekstynkcji” należy używać „współczynnik absorpcji”

str. 118 i 134: używając terminu „struktura subtelna” Autorka ma chyba na myśli strukturę oscylacyjną?

str. 136, 151, 159, 259: niewłaściwa interpunkcja (brak przecinka)

str. 145: „ze większą”

str. 147: „Debajach”

str. 147, Rys. 3.4.8; ujemny ładunek na wodorze przy N1?

str. 167:  $^1(n, \pi)$

str. 182: rys. 3.5.15 jest na str. 185, nie na 182

str. 190: „widma absorpcji nie różniące się..”

str. 207: „Tylko modyfikacja...” – niezrozumiałe

str. 216: „w tabeli ,”

str. 223: niepotrzebny średni na końcu podpisu pod rysunkiem 3.5.48.

str. 226: „Emisja promienista”; „geomterii”

str. 228: Energia przejścia  $S_2 \rightarrow S_0$  . Dlaczego  $S_2$ ?

str. 235: „reakcji”, „stanch”

str. 238: „rozkładzie”

str. 241: „,rośnie”

str. 260: „reakcja w kierunku tworzenia formy tautomerycznej zachodzić powinna szybciej niż reakcja prowadząca do jej odtwarzania”

str. 269: „są uzupełniają”

str. 284: „flitrowano”

str. 291: „Demechenko”.

Podsumowując, uważam że Pani mgr Bruszyńska wykonała ciekawą, wielowątkową pracę, podczas której stała się specjalistką w wielu dziedzinach eksperymentalnej i teoretycznej chemii fizycznej. Mam nadzieję, że wiele poruszonych w pracy zagadnień doczeka się dalszego ciągu.

Stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr Magdaleny Bruszyńskiej 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)). Stawiam wniosek o dopuszczenie Pani Magdaleny Bruszyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

☺



Jacek Waluk