

dr hab. Irena Deperasińska  
Instytut Fizyki PAN

**Ocena rozprawy doktorskiej**  
**mgr Ganny Geregi**  
**p.t. „Matrix isolation studies of structure and UV-induced transformations**  
**of selected N-heterocyclic molecules”**

Rozprawa doktorska pani mgr Ganny Geregi zawiera omówienie wyników badań, (eksperymentalnych i teoretycznych) struktury kilkunastu wybranych cząsteczek i zmian w tej strukturze, zachodzących w wyniku zaabsorbowania przez nie promieniowania UV.

Obiektem badań w pracy mgr G. Geregi były pochodne pirydyny i pirymidyny, allopurinol, hypoksantyna i jej pochodna metylowa oraz N-tlenek-2-tiopirydyny. Wszystkie te cząsteczki są układami N-heterocyklicznymi, a ponadto z różnych względów klasyfikowane są w grupie cząsteczek o znaczeniu biologicznym.

Podstawową metodą eksperymentalną użytą w badaniach była spektroskopia w podczerwieni, a ośrodkiem, w którym umieszczono badane cząsteczki były matryce niskotemperaturowe.

Stowarzyszone z eksperymentem obliczenia teoretyczne wykonane zostały zaawansowanymi metodami chemii kwantowej (*ab initio* i metodą funkcjonału gęstości - DFT).

Zarówno wybór cząsteczek do badania, jaki i warunków eksperymentu nie były przypadkowe. Wybór cząsteczek dokonany został pod kątem wyjaśnienia wpływu, jaki na równowagę tautomeryczną ma dołączenie do pojedynczego pierścienia cząsteczki heterocyklicznej pierścienia benzenowego, a także pięciocłonowego pierścienia heterocyklicznego.

Z kolei izolacja badanych cząsteczek w nieaktywnych matrycach niskotemperaturowych, z jednej strony ograniczała niepożądane efekty oddziaływania z cząsteczkami ośrodkiem, a z drugiej zapewniała zawężenie linii w obserwowanych widmach. Dzięki temu możliwe jest, na przykład, precyzyjne rozdzielanie obserwowanych widm, będących często wynikiem nałożeniem się pasm, pochodzących od różnych form cząsteczek.

Wyniki obliczeń teoretycznych, które prowadzone były równoległe z eksperymentem pomogły Autorce w analizie zaobserwowanych widm. To, mogące służyć za wzór, połączenie eksperymentu i teorii umożliwiło szczegółową interpretację obserwowanych widm IR i identyfikację form, w jakich występują badane cząsteczki.

Wszystkie eksperymenty i obliczenia, omówione w rozprawie mgr G. Geregi, zostały wykonane w pracowni kierowanej przez dr hab. Macieja Nowaka, gdzie od pewnego czasu prowadzi się intensywne prace, których tematem są skutki procesów indukowanych naświetlaniem cząsteczek. Wyniki zebrane przez ten zespół tworzą coraz bardziej bogaty i uporządkowany zbiór danych fotochemicznych. Rezultaty uzyskane przez mgr G. Geregę stanowią nowy i istotny wkład do tego zbioru.

Rozprawa doktorska mgr G. Geregi liczy przeszło 200 stron i składa się z sześciu rozdziałów oraz bibliografii zawierającej 244 pozycje, a ponadto obszernego apendyксу. Rozprawę poprzedza jednostronicowe streszczenie.

Zawartość kolejnych rozdziałów to:

R1 - krótki wstęp, poświęcony głównie biologicznemu znaczeniu badanych cząsteczek, gdzie ogólnikowo napomyka się o istnieniu problemu fototautomerii. W ostatnim paragrafie w tym rozdziale wypunktowano cele pracy;

R2 - krótka charakterystyka metody izolacji w matrycach wraz z omówieniem spektroskopii IR w tych warunkach. W tym rozdziale umieszczony został paragraf, w którym omawia się zjawisko fototautomerii;

R3 - część eksperymentalna, zawierająca opis układu pomiarowego oraz przedstawienie schematów badanych cząsteczek ze wskazaniem źródeł, z których zostały otrzymane;

R4 - część teoretyczna, w której omawia się podstawy metod chemii kwantowej, wykorzystanych w obliczeniach w pracy.;

R5 - omówienie uzyskanych wyników, prowadzone jednocześnie z szerokim przeglądem literatury źródłowej;

R6 – konkluzje.

Obszerny apendyks do rozprawy zawiera wszystkie najważniejsze wyniki, uzyskane z badań, zarówno eksperymentalnych, jak i teoretycznych. Przedstawia się tam doświadczalne i teoretyczne widma IR form tautomerycznych wszystkich badanych cząsteczek. Można tam też znaleźć schematy cząsteczek wraz z przyjętą numeracją atomów oraz definicje współrzędnych wewnętrznych użytych w opisie drgań normalnych. Widma IR zaprezentowane są w postaci stabelaryzowanej, z podaniem częstości pasm oraz ich względnymi natężeniami. Wszystkie widma eksperymentalne uzyskano z pomiarów w matrycy argonowej w temperaturze 10 K (w przypadku N-tlenku-2-tiopirydyny scharakteryzowano także jego widmo zmierzone w matrycy azotowej). Natomiast widma teoretyczne otrzymano z obliczeń metodą DFT B3LYP w bazach cc-pVTZ lub 6-31++G(d,p), w zależności od grupy cząsteczek.

Mimo, że przedstawiony układ rozprawy jest sensowny, mam pewne uwagi krytyczne co do rozmieszczenia materiału w rozprawie. Bowiem w praktyce przegląd literatury dotyczącej bezpośrednio tematyki pracy został nieomal całkowicie przesunięty do dalszego rozdziału z omówieniem otrzymanych wyników. Co więcej prowadzony jest tam naprzemiennie z prezentacją wyników własnych Autorki. Utrudnia to ich prześledzenie. Ponadto brak tego typu przeglądu literatury w części wstępnej powoduje, że podanie celów pracy na zakończenie wstępu nie ma głębszego uzasadnienia. Cele pracy wydają się być sformułowane bez powodu. I to tym bardziej, że także zjawisko fototautomerii, którego zbadanie jest wymieniane jako jeden z podstawowych celów pracy, omawia się dopiero w następnym rozdziale.

Do podobnych niekonsekwencji w rozmieszczeniu materiału, ale o mniejszym znaczeniu, zaliczam także dokonanie wstawki ze szczegółowymi wynikami obliczeń w trakcie prezentacji podstaw metody DFT czy też rozbiecie dyskusji o związkach tautomerii z aromatycznością na dwa rozdziały.

Do najlepszych punktów pracy zaliczam prezentację i dyskusję otrzymanych wyników. Poświęcony temu rozdział 5 otwiera paragraf z omówieniem spektroskopowych metod wyznaczenia stałej równowagi tautomerycznej i parametrów termodynamicznych, charakteryzujących tę równowagę. W następnych paragrafach w sposób bardzo uporządkowany przedstawione są wyniki uzyskane dla układów z pojedynczym pierścieniem heterocyklicznym, a następnie dla układów dwupierścieniowych, z których jeden jest pierścieniem heterocyklicznym, a drugi benzenowym i wreszcie dla układów dwupierścieniowych, z których jeden jest sześciocząłowym pierścieniem heterocyklicznym, a drugi pięciocząłowym. Na zakończenie przedstawia się skomplikowaną dyskusję wyników uzyskane dla N-tlenku 2-tiopyridyny.

W tych paragrafach można znaleźć dla każdej z badanych cząsteczek widma IR w postaci graficznej wraz z odpowiednią dyskusją oraz tabele zbiorcze dla każdej z grup cząsteczek. W tych tabelach zestawia się wielkości wyznaczone doświadczalnie: stosunek stężeń form tautomerycznych oraz różnicę energii między tymi formami z wynikami odpowiednich obliczeń teoretycznych.

Prezentacja otrzymanych wyników jest przeprowadzona w elegancki i przejrzysty sposób, ułatwiający zrozumienie problemu. Na przykład, dla każdej z cząsteczek widma IR pokazane są parametry, w których jedno widmo uzyskane jest przed naświetleniem próbki, a drugie po naświetleniu. Ponadto widma te podzielone są na fragmenty, obejmujące różne zakresy częstości – osobno pokazuje się obszar częstości obejmujący drgania OH i NH, osobno obszar drgań C=O i wreszcie obszar drgań niższej częstości.

Do najważniejszych wyników otrzymanych przez panią mgr G. Geregę należy zaliczyć:

- zinterpretowanie widm IR różnych form tautomerycznych badanych cząsteczek;
- wyznaczenie różnic energii między tautomerami badanych cząsteczek;
- wykazanie, że zjawisko fototautomerii okso/hidroksy zachodzi nie tylko w przypadku cząsteczek z pojedynczym pierścieniem heterocyklicznym, ale także w układach dwucyklicznych;
- przedstawienie dowodów, że dołączenie pierścienia benzenowego do cząsteczki z pojedynczym pierścieniem heterocyklicznym prowadzi do stabilizacji formy okso, jeżeli miejscem dołączenia jest wiązanie podwójne i stabilizację formy hydroksy, jeżeli miejscem podstawienia jest wiązanie pojedyncze;
- zidentyfikowanie najbardziej stabilnych (w warunkach izolacji w matrycy) struktur cząsteczek allopurinolu i hypoksantyn;
- pokazanie, że naświetlanie N-tlenku 2-tiopirydyny prowadzi do wytworzenia nowego związku, tio-nadtlenku pirydyny

Jak już wspomniałam, te wyniki uzyskane przez mgr G.Geregę są istotnym wkładem do wiedzy o fotochemii cząsteczek o znaczeniu biologicznym. Jednym z powodów takiej wysokiej oceny jest ilościowy charakter uzyskanych wyników, a ich wartość podnosi fakt, że otrzymano je w eksperymentach o dobrze zdefiniowanych i kontrolowanych warunkach.

Kilka moich uwag i pytań dotyczy następujących spraw:

1. W pracy rozważa się fototautomerię w kategoriach skutków jakie wywołuje w stanie podstawowym bliżej nierozpoznany proces biegnący w stanie wzbudzonym. Punktem startu tej reakcji jest absorpcja promieniowania UV. Jako osobie zajmującej się przejściami elektronowymi zabrakło mi w rozprawie bardziej szczegółowych informacji o widmach absorpcji naświetlanych cząsteczek. Wprawdzie można znaleźć pewne dane w postaci szczytkowej pod koniec paragrafu poświęconego kwestii odwracalności reakcji tautomerii (str.143), ale na ich podstawie nie można ustalić jakie są energie wzbudzenia badanych cząsteczek do wyższych stanów elektronowych  $S_2$ ,  $S_3$ , .... Odpowiedź na to pytanie jest ważna w kontekście sformułowanej w pracy tezy o odwracalności reakcji fototautomerii. Można bowiem zastanawiać się, czy w przypadku naświetlania  $\lambda > 230$  nm nie jest możliwe, że obok wzbudzania stanu  $S_1$  formy hydroksy wzbudzany jest także wyższy stan elektronowy formy okso?
2. Kontynuując problem odwracalności procesu fototautomerii mam wątpliwości czy wzbudzenie formy hydroksy rzeczywiście indukuje taką reakcję hydroksy  $\rightarrow$  okso, która

biegnie tą samą ścieżką, co pierwotna reakcja okso  $\rightarrow$  hydroksy, po wzbudzeniu formy oksy. Wszystko bowiem wskazuje na to, że reakcja okso  $\rightarrow$  hydroksy przebiega z udziałem „ciemnego” stanu (być może stanu  $\pi\sigma^*$ , o czym wspomina Autorka pracy), który w przypadku formy hydroksy ma mniejszą energię niż jej pierwszy „jasny” stan wzbudzony. Tymczasem wzbudzenie  $\lambda > 230$  nm przeprowadza formę hydroksy właśnie do tego jasnego stanu, nie uczestniczącego w procesie okso  $\rightarrow$  hydroksy. Tak więc, wydaje mi się, że zamiast o odwracalności bezpieczniej byłoby mówić o zależności reakcji fototautomerii od energii wzbudzenia i rodzaju wzbudzonej formy oraz o możliwości kontrolowania w ten sposób równowagi tautomerycznej.

3. W rozprawie wspomina się o publikacjach, w których zajmowano się widmami fluorescencji niektórych z badanych cząsteczek. Czy istnieją dane o wydajności tej fluorescencji i czasach życia w stanie wzbudzonym? Takie dane powinny być pomocne przy ocenie szybkości reakcji fototautomeryzacji.
4. Z rozprawy można także dowiedzieć się, że przynajmniej w przypadku niektórych z badanych cząsteczek znana jest ich struktura wyznaczona w badaniach rentgenowskich. W jakich relacjach pozostają takie struktury z geometriami teoretycznie zoptymalizowanych cząsteczek i czy takie dane nie mogłyby być pomocne w dyskusji tautomeria vs. aromatyczność?

Powyższe uwagi i pytania w żaden sposób nie podważają wartości merytorycznej rozprawy mgr G.Geregi, a są po prostu wyrazem zaciekawienia recenzenta.

Rozprawa doktorska mgr G.Geregi jest dobrą i ciekawą i pracą. Poza wspomnianymi wyżej dwoma zastrzeżeniami co do rozmieszczenia materiału w pracy nie mam innych uwag. Rozprawa zawiera wartościowe naukowe wyniki, a potwierdza to fakt, że zostały opublikowane w czterech artykułach w dobrych czasopismach naukowych. Rozprawa jest elegancko wydana, z bardzo starannie opracowanymi rysunkami i tabelami. Nie widzę sensu w wytykaniu Autorce zauważonych drobnych usterek, takich jak nieliczne literówki, czy brak numeracji na kilkunastu ostatnich stronach rozprawy. Tych usterek jest niewiele i nie mają wpływu na wartość rozprawy.

Reasumując, stwierdzam, że rozprawa doktorska przedstawiona przez panią mgr Gannę Gerega spełnia wszystkie ustawowe i zwyczajowe wymagania stawiane pracom doktorskim. Wnoszę więc o przyjęcie rozprawy przez Radę Naukową Instytutu Fizyki PAN i dopuszczenie mgr Ganny Geregi do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

J. Depcański