



Dr hab. Magdalena Pecul-Kudelska, prof UW
Pracownia Oddziaływań Międzymolekularnych
Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego
Warszawa

Warszawa, 23.06.2014

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Natalii Piergies

pt. „Analysis of the molecular structure of boron analogues of amino acids, potential kinase inhibitors, by vibrational spectroscopy methods”

Dr hab. Edyta Proniewicz, profesor AGH, od lat zajmuje się analizą konformacyjną molekuł zaadsorbowanych na powierzchni metali grupy IB lub oddziałujących z agregatami metalicznymi zdyspergowanymi w roztworze wodnym. Metale te podtrzymują rezonans plazmonowy w zakresie światła widzialnego, przez co wzmacniają (między innymi) oscylacyjne widma Ramana molekuł znajdujących się w ich sąsiedztwie. Powoduje to, iż technika spektroskopowa SERS (ang. *surface-enhanced Raman scattering*) jest szczególnie czułą metodą badawczą, dostarczającą wielu informacji o orientacji molekuł względem powierzchni metalu oraz jej konformacji wewnętrznej. Wykonana pod kierunkiem prof. Proniewicz praca doktorska mgr Natalii Piergies, w której przedstawia ona wyniki pomiarów SERS wybranych organicznych pochodnych boranowych kwasu ortofosforowego na różnorodnych podłożach metalicznych grupy IB, wpisuje się w nurt tych badań.

Przed szczegółowym omówieniem przedstawionej pracy doktorskiej, chciałabym podkreślić, że jej niewątpliwie mocną stroną jest bardzo szeroki zakres wykonanych badań SERS. Przedstawione są widma na powierzchni schropowanej elektrody srebrnej, złotej i miedzianej (szczególnie pomiary na tej ostatniej są niestandardowe), oraz na zolach: srebrnym i złotym. W przypadku pomiarów SERS na elektrodach zbadano zmienność widm w zależności od potencjału elektrody, a w przypadku pomiarów na zolach od pH roztworu wodnego i po części od stężenia adsorbatu w roztworze. Wyniki pomiarów SERS na zolach uzupełnione są przez zdjęcia SEM i TEM i pomiary widm absorpcyjnych w zakresie UV/VIS, pozwalające ocenić rozmiary i topologię zastosowanych do pomiarów agregatów metalicznych. Bogactwo zastosowanych metod badawczych ma odzwierciedlenie w stosunkowo znacznej (pięć prac) liczbie publikacji w bardzo dobrych czasopismach fizykochemicznych, na których oparta jest przedstawiona rozprawa doktorska. Poza nimi, mgr Piergies jest autorką dwóch prac oryginalnych (również w wysoko notowanych czasopismach) nie wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, oraz licznych publikacji w czasopismach spoza listy filadelfijskiej. Jest to wyróżniający się dorobek na tym etapie kariery naukowej. Przez ten wstęp chcę podkreślić, że mimo iż moja recenzja jest miejscami dość krytyczna, pracę uważam za wartościowy wkład w wiedzę o strukturach, jakie tworzą wielofunkcyjne związki zaadsorbowane na powierzchniach metalicznych.

Praca ma tradycyjną formę rozprawy i jest dość obszerna (268 stron łącznie z bibliografią i dodatkami). Przed omówieniem wyników własnych, autorka zamieściła zwięzły (36 stron)

wstęp teoretyczny. Zaczyna się on od opisu budowy kinaz i ich roli w procesach metabolicznych fosforylacji i defosforylacji białek, po czym następuje podrozdział dotyczący inhibitorów kinaz. Rozumiem, że miało to służyć przedstawieniu badanych związków jako potencjalnych inhibitorów kinaz, ale wyznam, że przy pierwszej lekturze trudno mi było dopatrzeć się związku początkowych rozdziałów z głównym tematem rozprawy. Chciałabym się też już w tym miejscu odnieść do przedstawionej na stronie 30 motywacji pracy, jakoby "mechanism of interaction of the molecule with the metal substrate in the SERS conditions may reflect the way of a substrate-receptor interaction". Koncepcja, że oddziaływanie molekuly z powierzchnią schropowanego metalu (którego metalu zresztą i przy jakim potencjale elektrody, skoro oddziaływanie z różnymi metalami przebiega w dość odmienny sposób?) lub agregatami metalicznymi (znowu, którymi i w jakich warunkach?) miałyby przypominać oddziaływanie z jakimkolwiek białkiem jest tak zaskakująca, że wymagałaby bardzo starannego uzasadnienia, którego nie przedstawiono. Może jednak chodziło o to, że powierzchnię metalu można trwale zmodyfikować odpowiednimi molekułami i badać oddziaływanie „ligand-receptor” wykorzystując taki modelowy układ, zaś badania wykonywane na niemodyfikowanych metalach są tylko pierwszym etapem tego projektu badawczego?

Po wstępie następuje część teoretyczna, zawierająca ogólną prezentację spektroskopii oscylacyjnej (w tym spektroskopii Ramana), SERS, teorii funkcjonału gęstości, oraz elektronowej mikroskopii skaningowej i transmisyjnej. Rozdział dotyczący spektroskopii oscylacyjnej zawiera zasadniczo wiedzę z zakresu podstawowego kursu spektroskopii. Szkoda, że autorka nie przedstawiła w tej części (ani innej) jakiegokolwiek opisu koncepcji map korelacyjnych (ang. *correlation maps*), narzędzia, które stosuje do analizy zależności widm SERS na stałych elektrodach od potencjału elektrody. Jest to technika niestandardowa, brak ten jest zatem dość dotkliwy.

Znalazło się tam też kilka błędów, prawdopodobnie wynikłych z braku starannej korekty tekstu, bo nie posądzam Autorki o niewiedzę w tej dziedzinie. Na stronie 23 znajduje się stwierdzenie: "Vibrations of molecule can be achieved through two mechanisms, which are: absorption of of light quanta and the scattering of photons." Mechanizmów takich jest zdecydowanie więcej niż dwa. Warto by było wspomnieć też o generacji sumy częstości SFG (ang. *sum frequency generation*) czy EELS (ang. *electron energy loss spectroscopy*), tym bardziej, że są to metody istotne dla badania oscylacji cząsteczek na granicach faz, czyli specjalności naukowej Autorki. Zdanie na stronie 25, w którym opisuje podstawy zjawiska rozproszenia nieelastycznego ("energy of the incoming photons and the inelastic scattered photons which contribute to the RS spectrum match to the difference of the aforementioned energy levels") jest niezrozumiałe (przypuszczalnie zabrakło w pierwszej części zdania słów "difference of"). Warunek aktywności drgania w widmie Ramana (strona 26): "Condition of the presence of bands in the RS spectrum is change in the polarizability caused by the vibrations of the molecule" jest sformułowany nieściśle: każde drganie w każdej molekułe wywołuje zmiany polaryzowalności, a o aktywności w widmie Ramana decyduje niezerowanie się pochodnych odpowiednich niezmienników tensora polaryzowalności po współrzędnej normalnej drgania w położeniu równowagi. Tej ostatniej informacji zabrakło też w umieszczonym poniżej wzorze 63.

Następny rozdział (4.3) zawiera skrócony opis teorii funkcjonału gęstości, którą mgr Piergies stosowała do przypisania pasm badanych związków. Jest on ogólnie dobrze napisany. Brakuje

w nim nieco opisu założeń metody Kohna-Shama, którą mgr Piergies stosowała w swoich obliczeniach (opisane jest jedynie ogólnie założenia DFT). Mogłyby również znaleźć się fragmenty dotyczące specyficznie obliczeń widm oscylacyjnych. Jednakże, jako że obliczenia kwantowochemiczne miały wyłącznie charakter pomocniczy wobec zasadniczo eksperymentalnego charakteru pracy, nie są to poważne zastrzeżenia, a opis metody DFT i zastosowanej bazy funkcyjnej jest prawidłowy. Ponadto, zarówno funkcjonal korelacyjno-wymierny, jak i baza orbitali atomowych zostały dobrane odpowiednio do problemu naukowego. Funkcjonał B3LYP z bazą 6-31G(d,p) to rozsądny standard w półilościowych obliczeniach widm oscylacyjnych i trudno by było Autorce doradzić coś bezspornie lepszego. Nieco niezręczne jest natomiast objaśnienie skóru STO-3G jako "Slater-type orbital (STO) coupled with three Gaussian-type orbitals", co brzmi tak, jakby baza ta zawierała funkcję typu Slatera oraz trzy funkcje typu Gaussa, nie zaś trzy funkcje typu Gaussa zastępujące jedną funkcję typu Slatera.

Po tym rozdziale następuje opis metod SEM i TEM, również dość skrótowy, ale wystarczający. Dość szczegółowo opisana jest synteza badanych związków i podłoży SERS (odpowiednio rozdziały 5.1 i 5.2), co uzasadnione jest charakterem pracy. Zwraca też uwagę staranny opis procedur i warunków pomiarów różnorodnych eksperymentów SERS opisanych w pracy (rozdział 5.6). Pomiar TEM, SEM i UV/VIS (rozdziały 5.7-5.9) zostały potraktowane bardziej pobieżnie, ale ich opis ciągle wydaje się być wystarczający do ewentualnego powtórzenia eksperymentu, zatem spełnia standardy prac naukowych.

Symulowane na podstawie wyników obliczeń DFT widma IR i Ramana są starannie opisane (rozdział 6), a metodologia zastosowana w przypisaniu pasm do poszczególnych drgań jest odpowiednia. Nieco pytań budzi natomiast metodologia badania przestrzeni konformacyjnej. Co to jest "stabilization of energy" (strona 50)? Jeśli jest to po prostu energia oddziaływania, jak opis zdaje się sugerować, po co w tym miejscu cytowanie rozprawy doktorskiej P. Dziekońskiego? Jeśli jest to mniej standardowy parametr (terminem *stabilization energy* określa się jeden z indeksów kowalencyjności, patrz F. Weinhold and C. R. Landis, *Discovering Chemistry With Natural Bond Orbitals*, John Wiley & Sons, Inc., 2012, p. 96.), czemu brak jest wzoru? Czy uwzględniono w podawanych liczbach energię relaksacji monomerów i błąd superpozycji bazy? Nie jest też jasne, jak przebiegał dobór wstępnych struktur do optymalizacji geometrii i czy uwzględnienie obecności rozpuszczalnika nie zmieniłoby znacząco względnej stabilności poszczególnych form. Jak już jednak wspomniałam, obliczenia kwantowomechaniczne stanowią stosunkowo skromną część rozprawy doktorskiej mgr Piergies, a przypisanie pasm nie powinno ulec znaczącym zmianom pod wpływem zmian konformacyjnych. Użycie zatem drgań przypisanych na podstawie obliczeń częstości dla dimeru po analizie widm molekuł zaadsorbowanych na powierzchni metalu (strona 63), choć kontrowersyjne (zaadsorbowane są raczej monomery), nie powinno wprowadzić znaczących błędów.

Po rozdziale poświęconym wynikom DFT następuje główna część rozprawy, czyli opis widm SERS kwasów orto, meta i para-benzyloamino(boranofenylo)metyloortofosforowych zaadsorbowanych na różnorodnych podłożach metalicznych i wyciągniętych z nich wniosków odnośnie ich orientacji na tych podłożach. Jest bardzo obszerna (może zbyt obszerna - część obserwacji dałoby się chyba ująć w sposób bardziej syntetyczny) i, o ile mogę ocenić nie będąc specjalistką w tej dziedzinie, zawiera wiele danych i wartościowych obserwacji. Moim głównym (choć dotyczącym raczej sposobu prezentacji, nie zawartości merytorycznej)

zastrzeżeniem wobec tej części jest brak (wspomniany już w komentarzu do części wstępnej) wprowadzenia do koncepcji map korelacyjnych, użytych do analizy zależności widm SERS na elektrodach od potencjału. Brak jest też informacji, czy mapy korelacyjne zostały wykonane z tych samych widm, które zostały przedstawione poprzednio. Chciałabym również, by Autorka wyjaśniła, jaka jest przewaga tej techniki nad analizą zmian intensywności poszczególnych pasm w "surowych" widmach wykonanych przy różnych potencjałach (które również są zamieszczone i omówione w jej rozprawie doktorskiej).

Najciekawszą obserwacją w pracy jest moim zdaniem stwierdzenie różnej adsorpcji enancjomerów kwasu meta i para-benzyloamino(boranofenylo)metyloortofosforowego na metalicznych podłożach. Czy przyczyną takiego zachowania może być lokalna chiralność podłoża? Czy zjawisko to występuje również w przypadku inaczej przygotowanych podłoży? Czy jest szansa, by wystąpiło na powierzchni monokryształu metalu? Dość znacznie różnią się wyniki dla podłoża stałego i zoli, co wydaje się sugerować, iż adsorpcja tych molekuł są szczególnie czuła na typ podłoża.

Na zakończenie, parę słów o stronie językowej i edytorskiej pracy. Budzą one niestety pewne zastrzeżenia, niepotrzebnie zakłócając ogólnie pozytywny odbiór całości. Szanuję dokonany przez Autorkę wybór języka angielskiego jako języka pracy doktorskiej, ale w pracy rzuca się w oczy brak korekty. Średnio w co drugim zdaniu można zauważyć błędy gramatyczne, zwłaszcza niezgodność liczby orzeczenia i podmiotu, typu "The very strong intensity band appear...", "The intensity... are slightly stronger", użycie nieprawidłowej formy wyrazu, np. przymiotnika zamiast przysłówka ("fragment strong interact") i składniowe ("occur also bands", "it can be observed asymmetric shape". (Wszystkie przykłady pochodzą z losowo wybranej strony 173.) W znacznej części pracy używana jest nieprawidłowa forma "metha" w znaczeniu "meta". Licznie występują też niewłaściwie użyte synonimy, na przykład "meaningful" w znaczeniu "significant" ("meaningful band") czy "accept" w znaczeniu "assume, adopt" ("rings accept tilted orientation") i błędy typograficzne (nawet w tytułach rozdziałów). Nie upośledza to na ogół zrozumienia tekstu przez czytelnika (zwłaszcza czytelnika polskojęzycznego), ale stwarza wrażenie braku staranności i sprawia, że pracę czyta się ciężko. Nie przekreśla to oczywiście wartości merytorycznej pracy.

Podsumowując, uważam, że otrzymana do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki ustawowe i świadczy o bardzo dobrym opanowaniu technik stosowanych w spektroskopii oscylacyjnej, ze szczególnym uwzględnieniem spektroskopii SERS. Stanowi wartościowy wkład w wiedzę o mechanizmach adsorpcji interesującej klasy molekuł na różnorodnych podłożach metalicznych i świadczy o wysokich umiejętnościach mgr Piergies w stawianiu i rozwiązywaniu problemów badawczych. Wnoszę zatem o dopuszczenie pani magister Piergies do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Magdalena Pecul-Kudelska

