

**Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Matěje Pavelky:
„Theoretical Studies of Ligand Fields Influence on Physico-Chemical Behavior of Copper
Cations Cu(I)/Cu(II)“.**

Školitel: Doc. RNDr. Ing. Jaroslav Burda, CSc.

Konsultant: Ing. Stanislav Záliš, CSc.

Posudek vypracoval: Mgr. Lubomír Rulišek, CSc.

Zmíněná disertační práce představuje soubor prací pojednávajících o koordinaci kationtů mědi v menších komplexech, z nichž některé slouží jako modely biologicky relevantních systémů, tj. vazebných míst mědi v proteinech či DNA/RNA. Práce začíná důkladným studiem hydratace jedno- a dvojmocných kationtů mědi; jedná se o „density functional theory“ (DFT) výpočty prováděné ve vakuu, tedy bez přítomnosti modelu kondenzované fáze či okolní části biomolekuly (práce je publikovaná v *Journal of Molecular Structure (THEOCHEM)*). Přístup, který se pak opakuje v dalších přiložených pracích by se dal shrnout následujícími schématem:

„Strukturní analýza → Stabilizační (komplexační) energie → Vazebné energie ligandů → Populační analýza → Analýza molekulových orbitalů → Ionizační potenciály“

V následující dvou pracích (publikovaných v *Chemical Physics* a *Journal of Physical Chemistry A*) se sada ligandů rozšiřuje o molekuly NH₃ a H₂S a jejich kombinace odpovídající koordinacním číslům 4, 6. Dá se říci, že třetí práce je jistým sjednocením (zobecněním) prací 1, 2 a svou kvalitou je předstihuje. Jisté vyvrcholení disertační práce má představovat rukopis, v němž se pojednává o komplexu [Cu(I/II)(Im)₂(SH)X]^{0/1+}, kde X je buď Met nebo Gln, jako modelovém systému aktivního místa v tzv. „blue-copper“ proteinech. Poté následují tři rukopisy (jeden z nich již publikovaný, *Journal of Molecular Modeling*), které ne zcela souvisí s hlavní linií disertační práce: interakce hydratovaných Cu²⁺ iontů s guaninem, interakce cis- a trans-platiny s DNA bázemi, a teoretické výpočty EPR spekter komplexů 2-methyl-*ortho*-chinonu.

Trochu mě zklamala úvodní část, kde doktorand pouze velice stručně shrnul učebnicové poznatky. Uvítal bych, kdyby se zmínil o nejmodernějších trendech a přístupech v teoretické bioanorganické chemii.

Jinak zvolená metodika (DFT) je adekvátní, a doktorand zcela jistě prokazuje její dostatečnou znalost a zručnost v jejím používání. Na druhou stranu, její implementace ve většině kvantově-chemických programů je na takové úrovni, že dnes představuje nástroj dostupný nejen teoretickým fyzikům či chemikům, ale i celé řadě např. experimentálních chemiků.

Disertace je psána v anglickém jazyce, který je na dostačující úrovni. Text je srozumitelný, i když nikoliv vynikající. Pro informaci doktoranda zmiňuji v příloze 2 seznam několika chyb či překlepů, kterých jsem si povšimnul.

Lze říci, že bylo nepochybně uděláno značné množství práce a provedena možná více než tisícovka kvantově-chemických výpočtů, což je dostatečné pro to, abych práci doporučil k dalšímu řízení. **Disertační práce prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé práci.**

V další části oponentského posudku se budu snažit být záměrně kritický, což věřím dobře poslouží jako podklad k diskusi při obhajobě disertační práce, případně jako podnět k další práci doktoranda. Nejprve následují zásadnější otázky a připomínky. Poté (v příloze 1) přidávám seznam drobných připomínek, korekcí či návrhů, sloužících pro informaci doktoranda.

Zásadnější připomínky

Byť práce prezentuje rozsáhlý soubor studovaných systémů, nejsem zcela přesvědčen o její biologické relevanci. Chybí mi v ní jasně vytyčený cíl, ke kterému výpočetní úsilí směřuje, či zásadní a průlomová myšlenka, která by skutečně znamenala (byť) mírný pokrok v našem chápání zákonitostí světa bioanorganické chemie. První tři práce chápu jako jakousi přípravu ke studiu aktivních míst „blue-copper“ proteinů a ve své podstatě jsou pouhým rozšířením již mnoha publikovaných prací ostatních autorů (řádně citovaných) o interakci kationů (mj. $\text{Cu}^{1+/2+}$) s jednoduchými funkčními skupinami typu H_2O , H_2S , NH_3 . Opakující se diskuse o různých aspektech struktury včetně stabilizačních energií jsou dle mého názoru neúměrně dlouhé a mohou čtenáře odradit od prostudování a pochopení těchto prací. Jejich přednost snad může spočívat v jisté systematičnosti a šíři, s jakou se problém pojí. Podobné poznámky bych mohl vznést i k pracím 5-7, snad s výjimkou výpočtů EPR spekter komplexů Cu s chinony, které poskytují jisté poznatky pro jejich lepší interpretaci. Vyvreholení disertační práce, tedy DFT výpočty modelování aktivního místa „blue-copper“ proteinů, mě osobně nepřineslo mnoho nových poznatků, které by se nedaly najít v pracích Rydeho, Roose, Solomona, Warshela, Olssona. Navíc zmínění autoři většinou zahrnovali do svých prostředí vliv proteinu, případně

používali lepší metody, umožňující mj. predikci spektrálních vlastností těchto systémů (např. metody CASPT2).

Pokračuji náměty k diskusi (pořadí neodpovídá pořadí v jakém se vyskytují v disertační práci):

- Práce 4 (rukopis) začíná dlouhou částí úvodu, která neobsahuje jedinou citaci, byť je zde uváděno mnoho tvrzení. Doporučuji, aby tento nedostatek byl odstraněn, konkrétně bych se chtěl optat na zdroj tvrzení „Nearly half of entries in PDB contain metal cofactor“.
- V úvodu se objevuje tvrzení, že „Within *all* QM approaches, it is necessary to choose a basis set for a construction of wave function“, které je nepravdivé. Mohl by doktorand uvést příklad, který nepravdivost demonstruje?
- Obzvláště v práci 4 se argumentuje pojmem „strain energy“. Mohl by jí doktorand definovat, a polemizovat s mým tvrzením, že „in vacuo“ optimalizace nám neumožňují říci příliš mnoho o její hodnotě. Rovněž je zde prezentováno tvrzení (které se opakuje v kapitole 3.4) „Earlier paper suggested that there were no constraints on copper site geometry. However, such proposals had to be revised“, které je nepochopením prací Ulfa Rydeho.
- Mohl by se doktorand krátce zmínit o principu experimentálních technik (ne nutně všech, výběr ponechávám na doktorandovi), které se používají ke studiu bioanorganických systémů (některé z nich jsou uvedené v úvodu): EPR, XANES, EXAFS, CD, MCD, ENDOR, NMR, Mössbauerova spektroskopie?
- Platina patří k prvkům třetí řady přechodných kovů. Mohl by doktorand zmínit úskalí při studiu těchto systémů?
- Shodu v předpovězených a experimentálních redox potenciálech považuji za náhodnou (ΔE^0 mezi typem A a typem B), zvláště, když jejich hodnoty E^0 nesusouhlasí. Kde přesně se vzala hodnota 0.2 V? Mohl by doktorand prezentovat teoreticky přesnou cestu vedoucí k predikci redox potenciálu?
- Jak by doktorand vysvětlil fakt, že vypočtené koordinační energie v řádu stovek kcal.mol⁻¹ mají, alespoň přibližně, korelovat s experimentálními konstantami stability v řádu 10⁵-10⁴⁰, tedy v desítkách kcal.mol⁻¹ v energetické stupnici?
- V příložených pracích se často opakuje tvrzení typu „we obtain a deeper insight“, většinou ve vztahu k NPA analýze či vykreslení molekulových orbitalů. Přiznám se, že jsem žádný „deeper insight“ přečtením zmíněných argumentů nezískal, a proto bych poprosil doktoranda, aby mi na nějakém modelovém systému ukázal, v čem nám mohou MO a NPA analýza posloužit ke získání hlubšího porozumění.

Příloha 1 (drobné připomínky pro informaci doktoranda).

- **Kap. 1.2.** „Cu ions exhibit interesting spectral properties“, spíše bych doporučil jednotné číslo, poněvadž Cu(I) žádné zajímavé spektrální vlastnosti nevykazuje.
- Místy se opakuje „in peptide environment“, ve většině případů bych doporučil „protein environment“.
- **Kap. 1.3.** Nevím, co je „helix rollout“, možná by stálo za to tento termín ve 2-3 větách vysvětlit.
- Na několika místech se vyskytuje „suggested order of copper-N7 (base) bonding strength“, ale není zmíněná reference, odkud se informace bere.
- **Kap. 2.1.** QM výpočty rozhodně nezlepšují rozlišení X-ray či NMR experimentů, to je dáno pouze a jen experimentálním uspořádáním.
- Věta „MD computations are quite common in MM approximation“ zní velice divně.
- V rovnici 2.2. by mělo být $i \neq j$, jinak je Hamiltonian nekonečný.
- Rovnice 2.6: poslední index i je zde navíc a chybně, též bych doporučil značit sumační index a meze.
- **Kap. 2.2.2** Nejsem si jist, že optimalizovaných basis sets jsou stovky, desítky (nebo pouze mnoho) by se mi zamlouvalo víc.
- Spíše „per orbital“ než „per electron“.
- Nepoužíval bych výraz auxiliary ve spojení s polarizačními funkcemi, auxiliary b.f. se dnes spíše rozumí báze používaná pro „density fitting“ v RI-J metodách.
- **Kap. 2.2.4.** B3 není výměnný funkcionál, rovněž LYP není jediný korelační funkcionál v B3LYP
- EPR parametry: „ g_{\parallel} “ místo „ $g_{=}$ “?
- Co se týká vlastností kovů v proteinu a orientace první koordinační sféry, ty jsou ovlivněné nejen „protein backbone“, jak je na mnoha místech uváděné, ale též ostatními částmi proteinu, např. přítomností nabitých zbytků v blízkosti aktivního místa.
- Číslování kapitol 3.6. a 3.7. je prohozené.
- Mělo by být někde vysvětleno proč se vybraly studovaná koordinační čísla (2, 4, 6).
- **Práce 4:** C=O se podle mě nedá aproximovat H₂O, tak je ve snaze porovnat výsledky s předešlými pracemi uvedeno.
- Měď může mít zajímavé spektrální vlastnosti i v anorganických komplexech, nejen v „blue-copper“ proteinech.
- Nechybí v obr. 3.19.b metylová skupina?

Příloha 2 (drobné jazykové korekce, pro informaci doktoranda).

	<i>Uvedeno</i>	<i>Návrh</i>
s. 4:	movement	mobility
	a intense blue	an intense blue
s. 5:	heam	haem
?	nucleo base	nucleobase
?	serched	searched
?	various-coordinated	zní divně
vícekrát	regardless	regardless of
s.24, ř.1	was	were
?	located	localized
s. 29	founding	finding
vícekrát	following	subsequent or follow-up
práce 1	flattered tetraeder	flattened tetrahedron (flatter je <i>lichotit</i>)



