

Warszawa, 22.06.2017

Instytut Chemii Organicznej  
Polskiej Akademii Nauk  
01-224 Warszawa  
ul. Kasprzaka 44/52  
Prof. dr hab. Jarosław Jaźwiński

Recenzja rozprawy doktorskiej

**"Rozwój i implementacja metod spektroskopii NMR w ciele stałym z wykorzystaniem bardzo szybkiego wirowania próbek pod kątem magicznym"**

Praca wykonana przez mgr Piotra Palucha w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk pod kierunkiem prof. dr hab. Marka Potrzebowskiego

Pomiary magnetycznego rezonansu jądrowego w ciele stałym są jedną z najbardziej dynamicznie rozwijających się dziedzin spektroskopii NMR. Coraz bardziej zaawansowana technicznie aparatura oraz nowe precyzyjne sekwencje impulsów pozwalają na wykonywanie badań, które jeszcze kilkanaście lat temu wydawały się niemożliwe. Są to badania bardzo trudne technicznie; eksperymenty wymagają żmudnej optymalizacji i znajomości różnych eksperymentalnych "tricków". Jest to jednocześnie bardzo "gorąca" tematyka - firmy produkujące spektrometry bardzo intensywnie konkurują ze sobą aby skonstruować aparaturę o coraz lepszych parametrach technicznych, a ośrodki naukowe pracują nad nowymi technikami pomiarowymi. Praca doktorska mgr Piotra Palucha jest wpisuje się w nurt tych badań.

Rozprawa doktorska została przygotowana według nowego dopuszczalnego od kilku lat schematu, polegającego na prezentacji serii publikacji oraz odpowiedniego komentarza. W skład dysertacji wchodzi sześć artykułów opublikowanych w latach 2013 - 2017 w dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, wliczając w to Angewandte Chemie i Physical Chemistry Chemical Physics (sumaryczny IF tych prac to ok. 25, średni IF 4.2). Prace te są dziełami zbiorowymi, wymagane ustawowo oświadczenia współautorów (14 oświadczeń) jak i oświadczenie doktoranta o swoim udziale w opublikowanych pracach są załączone.

Rozprawa doktorska zaczyna się od paragrafów "Streszczenie i cel pracy w języku polskim" oraz "Streszczenie i cel pracy w języku angielskim" (po 1.5 strony każdy) w których doktorant prezentuje nie tyle cel pracy, co wymienia obszary w których działał. [Wydaje się, że ten drugi tytuł powinien być po angielsku?]. Wspólnym mianownikiem prac, jak zaznacza sam doktorant, jest wykorzystanie techniki szybkiego wirowania pod kątem magicznym (UF-MAS) w badaniach strukturalnych. Te

obszary to: (i) implementacja techniki odwrotnej detekcji w ciele stałym, (ii) zastosowanie techniki UF-MAS w badaniach dynamicznych w ciele stałym, oraz (iii) zastosowanie techniki UF-MAS do badań jąder kwadropolowych.

Następna część dysertacji nosi tytuł "Rozwój technik NMR w ciele stałym z wykorzystaniem wirowania pod kątem magicznym", treść tego rozdziału odpowiada dokładnie tytułowi. Na 11 stronach (21 odnośników literaturowych) doktorant omawia w przejrzysty sposób trudności związane z pierwszymi pomiarami NMR w ciele stałym i próbę przezwyciężenia tych trudności poprzez zastosowanie wirowania próbki pod kątem magicznym o coraz większej częstotliwości, od 40 do 111 kHz, a także porusza zagadnienia związane polaryzacją skrośną i technikami alternatywnymi. [Można polemizować ze zdaniem doktoranta wyrażonym w tym rozdziale, że przełomem w spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego w cieczech było wynalezienie technik wielowymiarowych; ja bym raczej postawił na technikę impulsową]. Rozdział ten stanowi bardzo dobre i przejrzyste wprowadzenie w problematykę poruszaną przez doktoranta, i może być czytany z dużym pożytkiem przez czytelnika chcącego dowiedzieć się czegoś o tej dziedzinie wiedzy.

Następne 29 stron dysertacji zajmują krótkie opisy wykonanych prac i jednocześnie komentarze do załączonych publikacji; rozdział rozpoczyna się listą publikacji.

Pierwszy z opisanych obszarów badań dotyczy badań kompleksu gość-gospodarz jednego z koroli. Związek ten z pewnych przyczyn eksperymentalnych nie mógł być zbadany metodami NMR w cieczy; nie udało się też otrzymać kryształu do analizy rentgenograficznej. Doktorant zastosował dwuwymiarowe techniki NMR w ciele stałym, takie jak  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$  INEPT-HETCOR,  $^1\text{H}, ^{15}\text{N}$  CP-HETCOR, jak również  $^1\text{H}, ^1\text{H}$  NOESY, zidentyfikował sygnały związku, zbadał oddziaływania międzycząsteczkowe w kryształach i zaproponował strukturę kompleksu. W swoich badaniach doktorant zastosował wirowanie próbki z szybkością 65 kHz (pomiar w Polsce) oraz 111 kHz (pomiar wykonany w Japonii).

Druga część opisu dotyczy badań efektów dynamicznych w ciele stałym. Po krótkim przeglądzie dostępnych metod NMR (4 strony) doktorant przedstawił własną, ulepszoną propozycję sekwencji impulsów o nazwie 2D CP-VC (**C**ross-**P**olarization with **V**ariable **C**ontact time), pozwalająca na badanie dynamiki molekularnej ciał stałych w warunkach UF-MAS. Sekwencja została przetestowana na dwóch związkach modelowych, chlorowodorku tyrozyny i tripeptydu Tyr(D)AlaPhe. Użyteczność i dokładność techniki została sprawdzona na znakowanej  $^{13}\text{C}$  i  $^{15}\text{N}$  histydynie. W tym ostatnim przypadku udało się zaobserwować efekty wynikające z różnic pomiędzy dwoma wiązaniami  $^1\text{H}-^{15}\text{N}$ , o długościach 1.08 i 1.03 Å. Ponieważ w środowisku naukowym pojawiły się głosy kwestionujące wyniki działania sekwencji, doktorant wykonał wszechstronną analizę teoretyczną wpływu różnych parametrów na wyniki pomiarów. W następnym etapie pracy doktorant podjął próbę zmodyfikowania powyższej sekwencji, czego owocem była technika 3D CP-VC, łącząca dwa eksperymenty, korelację 2D  $^{13}\text{C}-^{13}\text{C}$  i sekwencję 2D CP-VC, umożliwiającą rejestrację widm trójwymiarowych. Testy wykonane zarówno na prostych związkach, jak i na białkach BG-1 i LC-8 wykazały skuteczność tej

techniki nawet w przypadku skomplikowanych układów. Opisana technika pozwoliła jako pierwsza na analizę dynamiki w skomplikowanych układach, bez konieczności selektywnego znakowania izotopowego. Dalsza modyfikacja sekwencji 2D CP-VC miała na celu możliwość wykonywania pomiarów z detekcją odwrotną. Doktorant uzyskał w ten sposób zwiększenie czułości pomiaru, choć mniejsze niż oczekiwał. Stosując tę technikę doktorant podjął próbę pomiaru sprzężeń dipolowych pomiędzy jądrami  $^1\text{H}$  i  $^{15}\text{N}$  przy naturalnej zawartości izotopu  $^{15}\text{N}$ .

Ostatni obszar działalności doktoranta dotyczył badań jąder kwadrupolowych, a konkretnie jądra  $^{27}\text{Al}$ . Na pierwszych stronach tej części pracy doktorant opisuje trudności w rejestracji widm jąder kwadrupolowych w ciele stałym. Jako jedną z metod pokonania trudności, doktorant zaproponował użycie niskich pól RF dla jądra glinu w celu spełnienia warunku Hartmana-Hahna. Po dość skomplikowanej optymalizacji pomiaru doktorant wykonał badania wybranych materiałów typu glinki, bemitu, tlenku glinu i katalizatorów metalicznych. W dyskusji wyników, doktorant wykazał, że jego metoda badania jąder glinu daje unikalną informację o powierzchni materiałów, tj. o atomach w sąsiedztwie jąder wodoru.

Kopie publikacji (6 sztuk, w sumie 50 stron) zamieszczone są w następnej części pracy; dalej doktorant umieścił wzmiankowane na wstępie oświadczenia autorów. Dysertację kończy spis osiągnięć naukowych doktoranta oraz spis literatury liczący 61 pozycji; przy czym cytowane są również tytuły prac.

Zwraca uwagę imponujący dorobek naukowy doktoranta liczący 28 publikacji i jedną monografię (sześć z tych publikacji wchodzi w skład pracy doktorskiej). Lista stypendiów i nagród liczy 13 pozycji, od sukcesów w Olimpiadach Chemicznych (po raz pierwszy w 2004 roku) po Stypendium Prezesa PAN dla wybitnych młodych doktorantów (2017 rok). Doktorant w latach 2005 - 2016 odbył cztery staże zagraniczne i cztery w ośrodkach polskich. Informacje te nie powinny mieć wpływu na ocenę osiągnięcia naukowego zamieszczonego w dysertacji, ale na pewno świadczą pozytywnie o sylwetce naukowej doktoranta.

Dorobek naukowy mgr Piotra Palucha oceniam bardzo wysoko. Doktorant wybrał bardzo trudną technicznie dziedzinę badań, i osiągnął bardzo interesujące i wartościowe wyniki. Opracowane przez niego nowe techniki pomiarów mogą być z powodzeniem i dużym pożytkiem zastosowane przez innych badaczy do rozwiązywania bardzo trudnych problemów strukturalnych, przykładowo do analizy struktury nierozpuszczalnych białek i badania ich dynamiki w ciele stałym. Skuteczność opracowanych metod doktorant zademonstrował na przykładach. Osiągnięcia mgr Piotra Palucha stanowią istotny wkład w technikę pomiarów NMR w ciele stałym, i poszerzają jej możliwości. Dorobek naukowy doktoranta jednoznacznie pokazuje, że jest on badaczem o dużych kwalifikacjach. O jakości wyników świadczy ranga czasopism, w których opublikowano wyniki. Pozytywnie świadczy też o doktorancie lista współautorów prac – doktorant współpracował z uznanymi w światowym środowisku naukowym specjalistami.

Na uwagę zasługuje też styl samej dysertacji. Praca napisana jest bardzo starannie; w tekście znalazłem trzy literówki (str. 26 kat zamiast ką, między zamiast między; str. 40 chyba powinno być tlenku glinu a nie tlenku gliny ?). Tekst jest bardzo przejrzysty, logiczny i przyjemny w czytaniu; dysertacja może być śmiało polecana jako podręcznik dla studentów i doktorantów pracujących w dziedzinie NMR, a także innych osób pragnących się czegoś o tej technice dowiedzieć.

Podsumowując, doktorant wybrał tematykę bardzo aktualną, o potencjalnie dużym znaczeniu praktycznym, i będącą przedmiotem zainteresowania wiodących ośrodków w świecie. W trakcie realizacji pracy wykazał się dużą biegłością i pomysłowością. Praca ta jest ważnym wkładem w dziedzinę spektroskopii NMR w ciele stałym, i spełnia wszystkie wymogi formalne i merytoryczne stawiane tego typu opracowaniom. Z całym przekonaniem wnioskuję o dopuszczenie mgr Piotra Palucha do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc po uwagę oryginalność i aktualność tematyki badań, skuteczność w rozwiązywaniu trudności technicznych, ważność badanej techniki i jakość opisu wyników wnioskuję, o ile inne warunki formalne na to pozwolą, również o wyróżnienie pracy.

*M. J. Wiśniewski*