

Dr hab. Halina Krawiec, prof. nadzw. AGH
Katedra Chemii i Korozji Metali
Wydział Odlewnictwa
Akademia Górniczo-Hutnicza im. St. Staszica w Krakowie
email: krawiec@agh.edu.pl

Kraków 02.07.2014

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Dominiki Święch

pt. „ Investigation of the adsorption processes of bradykinin and its specifically mutated analogues immobilized onto silver, gold and copper surfaces using surface – enhanced Raman Spectroscopy (SERS)

(stosownie do zlecenia Pani Dziekan Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego- Prof. dr hab. Grażyny Stochel z dnia 16.06.2014)

Bradykinina (BK) jest hormonem peptydowym złożony z 9 aminokwasów, który swoją aktywność biologiczną przejawia wiążąc się z dwoma receptorami oznaczanymi jako B1 i B2. Receptor B2 obecny w błonie komórkowej jest swoisty dla BK, a jego pobudzenie warunkuje większość reakcji fizjologicznych przypisywanych kininom. Bezpośredni efekt działania kinin zachodzi poprzez stymulację receptorów B1 i B2, a pośredni przez uwolnienie prostanoidów i tlenku azotu z leukocytów komórek śródbłonkowych. Bradykinina jest mediatorem zapalenia, powoduje ona rozluźnienie połączeń międzykomórkowych endotelium, przez co zwiększa przepuszczalność naczyń, działa również na zakończenia nerwów czuciowych obniżając próg bólowy. Wielorakie działanie kinin ma istotne znaczenie w fizjologii i patologii przewodu pokarmowego. Wyniki badań ostatnich lat wskazują na rolę kinin w zapaleniach nieswoistych jelit: w chorobie Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego. Bradykinina wywołuje też zwiększone wydzielanie jonów chlorkowych, a także jonów sodu oraz skurcz mięśni gładkich jelita. Patologiczna aktywność tej kininy powoduje wzrost zainteresowania badaniami nad związkami blokującymi aktywność receptorów bradykininy.

Celem pracy doktorskiej Pani mgr Dominiki Święch było określenie struktury oscylacyjnej oraz sposobu adsorpcji na powierzchni srebra, złota i miedzi, bradykininy i jej analogów będących antagonistami receptora B2. Osiągnięcie tego celu było możliwe dzięki zastosowaniu metod rozproszenia Ramana takich jak: klasyczny efekt Ramana (RS),

powierzchniowo wzmocniony efekt Ramana (SERS) i rozproszenie Ramana wzmocnione ostrzem (TERS). W pracy wykorzystano również inne metody spektroskopowe takie jak spektroskopię w podczerwieni (metoda osłabionego całkowitego odbicia, ATR), spektroskopię w zakresie nadfioletu i promieniowania widzialnego (UV-vis). Z kolei badania spektroelektrochemiczne umożliwiły, określenie sposobu wiązania BK i jej analogów na powierzchni metali, a także wykazano wpływ potencjału elektrody na oddziaływanie BK z powierzchnią metalu.

Praca zawiera 223 strony jest napisana przejrzysto, starannie, ale zawiera drobne błędy literowe (str. 32, 69, 84, 99, 147), które nie obniżają jej wysokiej wartości merytorycznej. W tak obszernej pracy trudno było uniknąć drobnych błędów. Układ pracy, spis treści, słownik pojęć fizycznych i chemicznych nie budzą moich wątpliwości. Stronę graficzną i redakcyjną pracy oceniam bardzo dobrze. W pracy znajduje się 5 rozdziałów, liczne tabele, ilustracje, streszczenie i spis literatury zawierający 294 pozycje.

W rozdziale I doktorantka dokonuje szczegółowego przeglądu literatury przedmiotu cytując 176 pozycji literaturowych, z uwzględnieniem licznych oryginalnych prac wykonanych w ostatnich latach między innymi przez zespół, w którym praca była realizowana (grupa kierowana przez prof. L. Proniewicza i promotora tej pracy Panią prof. Edytę Proniewicz). W rozdziale tym autorka przedstawia strukturę i właściwości bradykininy, a następnie omawia metody spektroskopowe stosowane w pracy. Rozdział ten jest krótki (zawiera 25 stron), ale jest napisany jasno i bardzo dobrze wprowadza czytelnika w zagadnienia poruszane w następnych rozdziałach. W kolejnym rozdziale Doktorantka przedstawia cele pracy, podaje opis syntezy BK i jej analogów. Następnie omawia preparatykę roztworów peptydów i sposób przygotowania powierzchni metalicznych do badań SERS. Morfologia i topografia powierzchni metalicznych modyfikowanych elektrochemicznie była badana przy użyciu Skaningowego Mikroskopu Elektronowego (SEM) i Mikroskopu Sił Atomowych (AFM).

W rozdziale III Doktorantka opisuje modyfikacje powierzchni metalicznych na drodze elektrochemicznej poprzez wykonanie cyklicznej woltamperometrii w określonym zakresie potencjałów. Tak zmodyfikowane powierzchnie metaliczne były następnie używane jako substraty do badań SERS. Szkoda, że w tym rozdziale Doktorantka nie przedstawia krzywych cyklicznej woltamperometrii (CV), ponieważ ułatwiło by to czytelnikowi zrozumienie dlaczego wybrano taki zakres potencjałów. Czy na krzywych CV były piki anodowego

utleniania i katodowej redukcji, i przy jakich wartościach potencjałów one występowały? Ponadto krzywe woltamperometryczne były prowadzone z różną szybkością skanowania potencjału (5, 100, 500 i 1200 mV/s). Czy miało to wpływ na morfologię i topografię powierzchni metalicznych (chropowatość)?

Obszerny rozdział IV obejmuje wyniki badań i ich dyskusję. Prezentowane są tu liczne wartościowe wyniki badań spektroskopowych na podstawie których, Pani mgr Świech określa strukturę oscylacyjną bradykininy i jej czterech analogów będących antagonistami receptora B2. Badane peptydy adsorbowano na powierzchniach koloidalnych roztworów srebra, złota, a także na powierzchni elektrod modyfikowanych elektrochemicznie. Badania spektroelektrochemiczne prowadzone w zakresie potencjałów od -1.0 V do 0.2 V pozwoliły na określenie sposobu adsorbowania BK i jej analogów na powierzchni srebra, złota i miedzi. Wykazano różnice w oddziaływaniu BK z poszczególnymi powierzchniami metalicznymi, a także wykazano wpływ potencjału elektrody na oddziaływanie metalu z podstawnikami BK i ich orientacją. Roztwór BK używany do badań spektroelektrochemicznych zawierał siarczan VI sodu. W badanym zakresie potencjałów (-1.0 V do 0.2 V) jony SO_4^{2-} mogą ulegać redukcji do jonów zawierających siarkę na niższych stopniach utlenienia, które wykazują bardzo duże powinowactwo głównie do srebra i złota. W związku z tym nasuwa się pytanie czy adsorpcja siarki może modyfikować sposób adsorpcji BK na powierzchniach metalicznych? Ostatni rozdział pracy („Summary and Conclusions”) jest bardzo cenny ponieważ w nim Doktorantka w sposób syntetyczny przedstawia to co w pracy jest najważniejsze. Graficznie przedstawia sposób wiązania bradykininy i jej analogów z powierzchniami metalicznymi.

Rozprawa doktorska Pani mgr Dominiki Świech jest przykładem pracy o wysokiej wartości naukowej. Do najważniejszych osiągnięć tej pracy należy zaliczyć:

- Zdefiniowanie struktury oscylacyjnej BK i jej analogów przy użyciu technik spektroskopowych
- Określenie różnic w procesie adsorpcji BK i jej analogów w zależności od zastosowanego substratu metalicznego i określonej modyfikacji peptydu. Wykazano, że głównie aminokwasy/podstawniki znajdujące się w pozycji 5 i 7/8 sekwencji aminokwasowej peptydu (L-fenylalanina (Phe) w przypadku BK; tienylalanina (Thi) lub reszta kwasu pipekolinowego (Pip) w przypadku analogów BK) i C-terminalna L-arginina (Arg^9) biorą udział w adsorpcji peptydów na wykorzystanych aktywnych substratach SERS.

- Określenie zmiany orientacji w położeniu pierścienia aromatycznego (fenyłowy, tiofenu) oraz alifatycznego (piperydyny) w zależności od wykorzystanej powierzchni metalicznej i warunków eksperymentalnych
- Wykazano, że na powierzchniach metalicznych wykorzystywanych w badaniach za pomocą techniki TERS, proces adsorpcji analogów BK jest selektywny, w którym główną rolę odgrywają fragmenty peptydów zlokalizowane w jego C-końcowym fragmencie
- Na podstawie przeprowadzonych badań zaproponowano ogólny model adsorpcji bradykininy i jej analogów na powierzchniach metalicznych.

Podsumowując stwierdzam, że wyniki badań przedstawione w pracy doktorskiej Pani mgr Dominiki Święch są oryginalne i mają dużą wartość naukową. Większość tych badań została już opublikowana w bardzo dobrych czasopismach. Ponadto Doktorantka wykazała, że jest bardzo dobrą eksperymentatorką i doskonale radzi sobie z rozwiązaniem postawionych przed nią problemów naukowych. Potrafi poprawnie interpretować wyniki badań i wyciągać z nich trafne wnioski. Uważam, że analiza i opis wyników jest bardzo mocną stroną tej pracy.

Biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy recenzowanej pracy doktorskiej stwierdzam, że spełnia ona wymagania ustawowe i zwyczajowe stawiane pracom doktorskim. W związku z tym, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenia Pani mgr Dominiki Święch do dalszego etapu przewodu doktorskiego.

Mając na uwadze jakość rozprawy doktorskiej i dotychczasowy dorobek naukowy Pani mgr Dominiki Święch, 4 publikacje związane z rozprawą dokorską o sumarycznym IF 10.7, a kolejne dwie publikacje są w przygotowaniu, wnoszę o wyróżnienie recenzowanej przeze mnie pracy.

dr hab. Halina Krawiec, prof. nadzw. AGH

