

Gdańsk dn. 03.06.2014 r.

Prof. dr hab. Bernard Lammek  
Katedra Chemii Organicznej  
Wydział Chemii  
Uniwersytet Gdański  
Tel. (58) 523 24 07  
Fax. (58) 523 20 43  
e-mail: [bernard@chem.univ.gda.pl](mailto:bernard@chem.univ.gda.pl)

**Recenzja rozprawy doktorskiej  
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)”.**

Bradykina (BK) jest hormonem peptydowym wywołującym szereg istotnych efektów fizjologicznych. Jest aktywowana przez dwa rodzaje receptorów B<sub>1</sub> i B<sub>2</sub>, które należą do rodzaju tzw. receptorów siedmiotransmembranowych sprzężonych z białkami G. Bradykina jest też odpowiedzialna za wiele procesów patofizjologicznych. Ze względu na znaczenie biologiczne tej kininy bardzo dużym zainteresowaniem cieszą się jej analogi o działaniu antagonistycznym, szczególnie w stosunku do receptorów B<sub>2</sub>.

Przedmiotem przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej pani mgr Dominiki Święch było określenie struktury oscylacyjnej oraz procesów absorpcji na powierzchni srebra, złota i miedzi, na styku powierzchni ciała stałego/roztwór bradykininy i jej czterech analogów będących antagonistami receptorów B<sub>2</sub>.

W pracy wykorzystano metody rozproszenia Ramana: klasyczny efekt Ramana (RS), powierzchniowo wzmocniony efekt Ramana (SERS) oraz rozproszenia Ramana wzmocnionego ostrzem (TERS). Związki zaadsorbowano na odpowiednio przygotowanych w warunkach kontrolowanych (rozmiar schropowacenia, pH, stężenie) powierzchniach

metalicznych co pozwoliło na modelowanie oddziaływania na powierzchnię styku metal/roztwór.

Dla BK zbadano proces adsorpcji na następujących powierzchniach: koloidalne srebro i złoto, szklane płytki pokryte warstwą złota, schropowana powierzchnia elektrody srebrowej oraz elektrochemiczne schropowane powierzchnie srebra, złota i miedzi (w zależności od przyłożonego potencjału). Z kolei dla antagonistów receptorów B<sub>2</sub> badania te przeprowadzono na powierzchniach koloidalnego srebra i złota, schropowanej elektrolizie srebrowej oraz elektrochemicznie schropowanych elektrodach srebrowej i miedziowej. Dodatkowo za pomocą TERS opisano proces adsorpcji dla BK, [D-Arg<sup>0</sup>, Hyp<sup>3</sup>, Thi<sup>5,8</sup>, L-Pip<sup>7</sup>]BK oraz [D-Arg<sup>0</sup>, Hyp<sup>3</sup>, Thi<sup>5</sup>, D-Phe<sup>7</sup>, L-Pip<sup>8</sup>] BK na powierzchniach srebra (koloidalny system i nanopreciki). W celu scharakteryzowania powierzchni metalicznej wykorzystano elektronowy mikroskop skaningowy (SEM) i mokroskop sił atomowych (AFM).

Wyniki badań zostały opublikowane w 4 artykułach zamieszczonych w renomowanych periodykach o cyrkulacji międzynarodowej a dwie kolejne prace są w końcowych etapach redagowania. Pani magister jest też współautorką 2 prac, których tematyka nie jest bezpośrednio związana z dysertacją. Wyniki badań Doktorantka zaprezentowała również w postaci 8 komunikatów na konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Recenzowana rozprawa doktorska to 223 stronicowe opracowanie. Taka stosunkowo szeroka prezentacja eksperymentów, uzyskanych wyników i wyciągniętych na ich podstawie wniosków usprawiedliwiona jest charakterem dysertacji, niezbędne było bowiem zamieszczenie dużej liczby tabel, widm, etc. Wspomniałem już, że duża część dokonań Doktorantki została już opublikowana. Jest to moim zdaniem ogromny walor pracy, ułatwia też jej ocenę, jako że wcześniej dokonali tego Recenzenci odpowiednich redakcji. Pierwsza część dysertacji to 25 stronicowa część referatowa. Autorka przedstawia w niej podstawowe zagadnienia związków z bradykiną i jej antagonistami by później zająć się omówieniem spektroskopowych metod stosowanych w pracy. Ta część ma niezaprzeczalny walor dydaktyczny, jest napisana jasno, a jej lektura budzi zainteresowanie. Wartość tego rozdziału podnosi fakt, że Pani magister cytuje aż 176 pozycji literatury, w tym wiele aktualnych co sprawia, że czytelnik może łatwo pogłębić swą wiedzę dotyczącą interesującego go fragmentu. Dalej Doktorantka formułuje cel pracy i przedstawia opis prowadzonych

eksperymentów. Kolejna część rozprawy to obszerna prezentacja wyników. Pracę kończy podsumowanie, streszczenie i spis literatury (294) pozycje. Fakt, że rozprawa napisana jest w języku angielskim sprawia, że może zyskać szersze grono czytelników.

Przechodząc do merytorycznej oceny rozprawy sędzę, że mgr Dominika Święch wykonała badania będące istotnym, solidnie wykonanym fragmentem większego projektu, który jest zapewne sformułowany i realizowany przez grupę, której liderami są prof. Leonard Proniewicz i prof. Edyta Proniewicz. Kierowany przez nich Zespół zyskał już światową markę i jest w Polsce niekwestionowanym liderem badań struktury metodami spektroskopowymi m.in. z wykorzystaniem metody rozproszenia Ramana. Sukcesy te osiągnięte zostały dzięki umiejętności współpracy z grupami zajmującymi się syntezą i badaniem związków biologicznie czynnych, świetnemu opanowaniu warsztatu i interdyscyplinarnemu charakterowi badań. Eksperymenty swe Doktorantka prowadziła więc w doświadczonym Zespole. Lektura pracy przekonała mnie, że z dobra tego umiała skorzystać i wniosła do wspólnej puli znaczący wkład. Sędzę, że najlepszym sposobem przedstawienia Jej osiągnięć będzie wymienienie najważniejszych moim zdaniem dokonań. Należy do nich wykazanie, że głównie aminokwasy znajdujące się w pozycjach 5 i 7/8 sekwencji peptydu (L-feniloalanina w przypadku BK, tienyloalanina lub reszta kwasu L – pipekolinowego w przypadku antagonistów) a także C-końcowa L-arginina biorą udział w adsorpcji peptydów na wykorzystanych aktywnych substratach. Doktorantka określiła też zmiany orientacji w położeniu pierścienia aromatycznego oraz alifatycznego w zależności od wykorzystanej powierzchni metalicznej i warunków eksperymentalnych. Pani magister wykazała, że na powierzchni koloidalnego złota, schropowanej elektrody srebrowej, oraz na powierzchniach wykorzystywanych w badaniach za pomocą techniki TERS, proces adsorpcji analogów przebiega selektywnie gdyż tylko opisane powyżej fragmenty zlokalizowane w C-końcowej części peptydu oddziałują z powierzchniami metalicznymi. Badania BK i jej antagonistów, immobilizowanych na odpowiednio przygotowanych powierzchniach metalicznych wykazały, że aminokwasy/podstawniki, które dominują w procesie wiązania się substratu do receptora, wykazują najwyższą aktywność w procesach adsorpcji badanych techniką SERS/TERS. Stwierdzenie to ma kapitalne znaczenie i z pewnością ułatwi projektowanie kolejnych, aktywniejszych i selektywnych antagonistów receptorów B<sub>2</sub>. Istotnym osiągnięciem jest też zaproponowanie ogólnego modelu

oddziaływania BK i jej analogów z powierzchnią metaliczną oraz zdefiniowaniem struktury oscylacyjnej tych substancji.

Podsumowując uważam, że Doktorantka uzyskała szereg wartościowych wyników poszerzających wiedzę o strukturze oscylacyjnej i procesach adsorpcji biologicznie czynnych peptydów na powierzchni wybranych metali. Co ważne potrafiła na podstawie przeprowadzonych eksperymentów wyciągnąć ważne i moim zdaniem trafne wnioski. Godnym podkreślenia raz jeszcze jest fakt, że ustalenia Doktorantki przyczynią się do usprawnienia projektowania antagonistów bradykininy. Ma to istotne znaczenie dla prac syntetycznych prowadzi bowiem do oszczędności czasu i odczynników. Nie muszę dodawać, że uzyskanie tak ważkich wyników badań było możliwe dzięki bardzo dobremu opanowaniu warsztatu laboratoryjnego.

Konkludując stwierdzam, że rezultaty badań opisane w rozprawie doktorskiej zawierają elementy nowości naukowej a mgr Dominika Święch jest badaczką, która skutecznie radzi sobie z rozwiązywaniem postawionych przed nią problemów naukowych.

Wszystkie te uwagi stanowią podstawę, która pozwala mi na stwierdzenie, że recenzowana rozprawa doktorska spełnia wymagania zwyczajowe oraz te określone w art. 13 ustawy z dn. 14 marca 2003 r. stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz.595, ze zm. w Dz.U. z 2005 r. Nr 164, poz 1365 oraz w Dz.U. z 2011 r. Nr 84, poz. 455). Zwracam się zatem do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Dominiki Święch do dalszego etapu przewodu doktorskiego.

Dodatkowo, mając na uwadze wysoki poziom naukowy i jakość pracy doktorskiej, oraz fakt, że Doktorantka jest współautorką 6 prac, które ukazały się w renomowanych periodykach o cyrkulacji międzynarodowej a 2 kolejne prace są w końcowym etapie przygotowań wnoszę o wyróżnienie recenzowanej przeze mnie pracy.

Prof. dr hab. Bernard Lammek

