



Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny
w Szczecinie

WYDZIAŁ TECHNOLOGII I INŻYNIERII CHEMICZNEJ

dr hab. Jacek Sośnicki, prof. ZUT
Katedra Chemii Organicznej i Chemii Fizycznej

1.08.2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Natalii Anny Skrzypczak opracowana na zlecenie Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu (uchwała z dnia 8 lipca 2022 r.)

Przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Natalii Anny Skrzypczak zatytułowana **"Modyfikacje rdzenia benzochinonowego naturalnego makrolaktamu – geldanamycyny oraz ich wpływ na właściwości przeciwnowotworowe"** została zrealizowana na Wydziale Chemii UAM, w Zakładzie Chemii Produktów Naturalnych pod kierunkiem prof. dr. hab. Piotra Przybylskiego.

Praca dotyczy syntetycznej modyfikacji oraz badań aktywności przeciwnowotworowej geldanamycyny – makrolidu laktamowego pochodzenia naturalnego. Mimo dużej aktywności przeciwnowotworowej geldanamycyny, która jest spowodowana hamowaniem aktywności białek szoku cieplnego (Hsp90), główną przeszkodą do wprowadzenia jej do leczenia jest jej wysoka toksyczność, niska biodostępność oraz ogólna niestabilność chemiczna. Celem pracy było pokonanie tych przeszkód poprzez chemiczną modyfikację geldanamycyny głównie przy atomie węgla C17, będącego elementem pierścienia benzochinonowego. Oprócz części chemicznej w ramach pracy przeprowadzono badania antyproliferacyjne na wielu liniach komórkowych oraz dokonano analizy relacji struktura-aktywność, z uwzględnieniem takich parametrów jak współczynnik podziału logP oraz indeks selektywności (SI). Pod względem poruszanej problematyki dysertacja mocno osadzona jest w tematyce naukowej promotora, który jest ekspertem w dziedzinie naturalnych, bioaktywnych związków makrocyclicznych.

Cel, jaki postawiła sobie Pani mgr Natalia Skrzypczak, jest bardzo ambitny, tym bardziej, że prowadzone badania wpisują się w światowy wyścig uzyskania aktywnej i bezpiecznej pochodnej geldanamycyny, o czym świadczy fakt aktualnie przeprowadzanych badań klinicznych kilku wytypowanych pochodnych. Plany badawcze dotyczące części chemicznej pokazują, że Doktorantka zawiesiła sobie poprzeczkę bardzo wysoko. W ramach modyfikacji struktury geldanamycyny zakres planowanych badań obejmował szeroko zakrojoną funkcjonalizację pierścienia chinonowego geldanamycyny w wyniku wprowadzenia podstawników aminowych o różnej strukturze i właściwościach, z których część miała być przekształcona w sole

J. S.

czwartorzędowe, celem zwiększenia rozpuszczalności. Inny planowany sposób funkcjonalizacji geldanamycyny miał polegać na wprowadzeniu ugrupowania triazolowego do ramienia C17 w wyniku zastosowania reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddycji Husegena oraz ugrupowania alkenowego z wykorzystaniem reakcji Hecka. Jedną z dróg modyfikacji geldanamycyny miało być także zbadanie możliwości otwarcia pierścienia makrolidu w celu otrzymania materiału do badań porównawczych. O bardzo ambitnych celach pracy świadczy także fakt, że w każdej grupie reakcji modyfikujących geldanamycynę Doktorantka zaplanowała otrzymać bardzo dużą grupę pochodnych, co wynikało, moim zdaniem, ze słusznego przeświadczenia, że tylko w dostatecznie dużej grupie związków można zauważyć zależności korelacyjne wiążące aktywność ze strukturą. Ilość planowanej pracy do wykonania tego projektu w laboratorium robi ogromne wrażenie, które potęgowane jest wysokim stopniem skomplikowania struktur związku wyjściowego, a także jego pochodnych, co wymaga zaangażowania metod analizy strukturalnej z najwyższej półki i zarezerwowania sobie bardzo wielu wieczorów na „rozpracowanie” uzyskanych widm.

Po zapoznaniu się z dysertacją stwierdzam z podziwem, że Pani mgr Natalia Skrzypczak zrealizowała wszystkie plany badawcze i że wspomniany bardzo ambitny cel pracy został w pełni osiągnięty i to w sposób spektakularny. Większość wyników została opublikowana w co najmniej pięciu renomowanych czasopismach o bardzo wysokich współczynnikach oddziaływania. Pewna część wyników jest przygotowywana do publikacji. Stwierdzam zatem z pełnym przekonaniem, że praca jest wyróżniająca. Podkreślone przeze mnie w dalszej części pracy znaczące elementy będą stanowić uzasadnienie do zgłoszonego na końcu wniosku o wyróżnienie.

Pod względem formalnym oceniana dysertacja ma układ klasyczny. Przedstawiona na 473 stronach (wraz z załącznikami) składa się z „Części teoretycznej” (52 strony), z „Wyników i dyskusji” (223 strony), w której zamieszczono liczne tabele, z „Części eksperymentalnej” (34 strony) „Podsumowania” (3 strony) i bibliografii, która zawiera 218 pozycji literaturowych. Początek pracy zaopatrzonej jest w spis treści, wykaz stosowanych skrótów i symboli oraz w rozdział ze sformułowanymi celami pracy. Na końcu pracy znajduje się podsumowanie (3 strony) oraz kopie widm (135 stron). Do rozprawy dołączono streszczenie w języku angielskim. Dysertacja napisana jest w sposób zwięzły, poprawnym językiem z minimalną liczbą drobnych niedociągnięć językowych. Na wyróżnienie zasługuje strona graficzna pracy, gdyż obfituje ona w wysokiej jakości kolorowe rysunki fragmentów widm, schematów reakcji czy modeli molekularnych. Rysunki są dobrze dobrane i umieszczone w odpowiednim miejscu, co znacznie ułatwia poruszanie się w trudnym materiale. W przypadku dużej liczby omawianych związków bardzo dobrym pomysłem jest dołączenie laminowanych, luźnych załączników ze strukturami otrzymanych związków, co bardzo ułatwia śledzenie prezentowanych wywodów Autorki.

W części teoretycznej w trzech głównych rozdziałach Doktorantka zawarła wiele ważnych informacji dotyczących geldanamycyny, jej pozycji w olbrzymiej rodzinie ansamycyn, struktury, biosyntezy, syntezy totalnej oraz metod modyfikacji w różnych miejscach pierścienia chinonowego oraz mostu ansa. Przedstawiła także krótko wynik kwerendy literaturowej na temat budowy chinonów i ich chemicznej modyfikacji. Moim zdaniem wybór treści jest w pełni uzasadniony, bardzo dobrze koresponduje z tematem rozprawy doktorskiej i bardzo dobrze wprowadza czytelnika w główne zagadnienia badań własnych.

Warto tu wspomnieć, że wiele zawartych w części teoretycznej informacji koresponduje z dwoma znakomitymi przeglądowymi artykułami naukowymi opublikowanymi przez autorkę rozprawy doktorskiej i jej promotora w bardzo dobrym czasopiśmie naukowym *Natural Product Reports* (2022). Przedstawiona w tych artykułach o wiele szersza wiedza dotycząca ansamycyn wskazuje na świetne przygotowanie merytoryczne Doktorantki do wykonywania badań w ramach pracy doktorskiej.

Mając na uwadze fakt, że praca dotyczy cennych związków o bardzo skomplikowanej strukturze, w ocenie badań wykonanych przez Doktorantkę i opisanych w rozdziale „Wyniki i dyskusja” oraz „Część eksperymentalna” pierwsze wrażenie jest takie, że zawarta w niej liczba syntez, eksperymentów, analiz jest nieprawdopodobnie duża, można by rzec, że pod tym względem jest to dzieło monumentalne. Doktorantka otrzymała i zanalizowała 100 związków, w tym 91 nowych pochodnych geldanamycyny. To imponujący wynik. Już samo opisanie wszystkich wyników jest potężnym wyzwaniem, a co dopiero wykonanie tej pracy w laboratorium, poprzedzonej zapewne wieloma próbami i szeroko zakrojonymi przygotowaniem.

Z opisu badań własnych wynika, że Pani Natalia Skrzypczak znakomicie radzi sobie w pracy laboratoryjnej, dobrze dobiera reagenty modyfikujące geldanamycynę i jej pochodne, świetnie kontroluje przebieg reakcji (np. metodą HPLC), co skutkuje dobrymi wydajnościami produktów oraz stwarza możliwość zauważenia anomalii, które w wyniku dokładniejszego zbadania prowadzą do nowych odkryć. To cenna cecha badacza. Przykładem takich odkryć może być otrzymanie pochodnych z otwartym łańcuchem, czy też powstawanie pochodnych benzoksazoli. Strona analityczna jest również imponująca. Wszystkie otrzymane pochodne zostały wyizolowane, a ich struktury zostały ustalone przy wykorzystaniu metod spektrometrii mas, metod spektroskopowych NMR, FT-IR oraz analizy rentgenostrukturalnej. Ważnym elementem badań strukturalnych było ustalenie konformacji nowo otrzymanych pochodnych geldanamycyny. Ustalenie struktur otrzymanych związków Doktorantka dokonała głównie przy pomocy widm jedno- i dwuwymiarowych NMR (COSY, HSQC, HMBC, NOESY). W pracy przedstawiono przykładowe, bardzo szczegółowe analizy NMR wybranych pochodnych wraz z tokiem postępowania. Opisy wraz z uzyskanymi wynikami świadczą o bardzo dużym profesjonalizmie Doktorantki również w tej dziedzinie. W tym miejscu doradzałbym Doktorantce korzystać również z prostej, szeroko stosowanej, wręcz rutynowej techniki ^{13}C DEPT NMR,

która w wersji ^{13}C DEPT-135 bardzo ułatwia analizę, gdyż pozwala w prosty sposób odróżnić sygnały w widmie ^{13}C NMR pochodzące od grup CH i CH_3 (sygnały w jednej fazie na widmie ^{13}C DEPT-135) od sygnałów CH_2 (w tym $=\text{CH}_2$) (sygnały w przeciwnej fazie na widmie ^{13}C DEPT-135), a także od sygnałów pochodzących od czwartorzędowych atomów węgla (brak sygnałów na widmie ^{13}C DEPT-135). Dodatkową zaletą tej techniki jest jej dwukrotnie większa czułość. Natomiast jeżeli chodzi o identyfikację grup z labilnymi atomami wodoru, to w celu łatwej ich identyfikacji dosyć dobre wyniki daje wymiana na deuter w wyniku reakcji z D_2O .

Wszystkie syntetyczne aspekty pracy są bardzo ciekawe i bardzo wartościowe naukowo, nie sposób jednak w szczegółach wymienić ich wszystkich. Moim zdaniem do najciekawszych należy synteza nowych pochodnych geldanamycyny, które zawierają pierścień benzo[d]oksazolowy. Po zidentyfikowaniu niespodziewanego produktu reakcji jego synteza została zoptymalizowana pod kątem użycia różnych zasad, doboru odpowiedniego medium oraz czasu reakcji. Wyniki pracochłonnych analiz optymalizacji zebrano w tabelach 2 i 3, jednak nie wskazano, w jaki sposób określano stopień przereagowania oraz wydajność reakcji. Proszę o uzupełnienie tej informacji. Interesujące są tu też badania dotyczące efektu podstawnikowego oraz badania mechanizmu reakcji. Mechanizm badano z uwzględnieniem analiz UV-VIS oraz HPLC-MS próbek pobranych z reakcji przeprowadzanej w temp. 0°C oraz w atmosferze gazu obojętnego w konkretnych ostępach czasu. Na tej podstawie zaproponowano bardzo racjonalny mechanizm. Jednakże nie rozumiem dlaczego ostatni etap tego mechanizmu pokazanego na schemacie 24, w którym następuje przyłączenie kationu wodoru, jest opisany jako ekstrakcja. Moim zdaniem warto byłoby też zastanowić się nad przeprowadzeniem w/w reakcji w próbce NMR, co może pozwolić na zaobserwowanie tworzenia się produktów pośrednich bez możliwości narażenia ich na dodatkowe czynniki zewnętrzne podczas pobierania próbki do analizy. Przydałaby się też informacja, czy opisana w dysertacji reakcja tworzenia pierścienia benzoksazolu z udziałem benzochinonu została już wcześniej opisana czy też nie.

Drugi ciekawy i duży fragment to synteza nowych pochodnych z rozbudowanym ramieniem przy C17, przeprowadzona z zastosowaniem 1,3-dipolarnej cykloaddycji z wykorzystaniem azydków oraz reakcji sprzęgania Hecka. Podoba mi się tutaj różnorodne podejście, polegające zarówno na wytworzeniu łącznika triazolowego w wyniku stosowania alkinowej, jak i azydkowej pochodnej geldanamycyny, odpowiednio **GDM-2** i **GDM-70**. Tą metodą otrzymano wiele pochodnych triazolowych oznaczonych jako: **GDM-40** – **GDM-69** oraz **GDM-71** – **GDM-74**. Wśród otrzymanych pochodnych moim zdaniem największym wyzwaniem syntetycznym i analitycznym było otrzymanie związków hybrydowych **GDM-73** i **GDM-74**, w których z jednej strony jest duży fragment geldanamycyny, a z drugiej strony również duży fragment pochodzący odpowiednio od kolchicineiny oraz izokolchicineiny. Doktorantka otrzymała te pochodne ze średnimi wydajnościami, co i tak – ze względu na konieczność przygotowania odpowiednich reagentów – jest sukcesem, i przeprowadziła udaną analizę strukturalną otrzymanych hybryd

mimo ich dużej i skomplikowanej struktury. Podobne hybrydy uzyskała już w kolejnym etapie badań, w których stosowała reakcję Hecka, spinając fragment geldanamycyny zawierającej w pozycji C17 ugrupowanie 4-jodobenzyloaminowe, oraz fragment kolchiceiny i izokolchiceiny, które zawierały ramię styrylometoksyłowe. Również i te nowe hybrydy z sukcesem zostały poddane analizie strukturalnej. Odnośnie opisu tych badań uważam, że chociaż wszyscy chemicy znają reakcję 1,3-dipolarnej cykloaddycji Huscgena oraz sprzężanie Hecka, to przydałyby się przynajmniej jedno odniesienie literaturowe dla tych reakcji. Druga uwaga dotyczy pochodnych z układem *de facto* kolchiceiny i izokolchiceiny. Tutaj przydałoby się krótkie uzasadnienie, dlaczego taki fragment został dołączony, oraz poprawne i ujednolicone posługiwanie się nomenklaturą dotyczącą tych związków. Ponadto zwracam uwagę, że w tytułach podrozdziałów 4.1 i 4.2 niefortunnie użyto określeń „linker alkinowy” i „linker azydkowy”. Niefortunność tych zwrotów polega na tym, że linkerem, czyli łącznikiem występującym w produkcie, jest tutaj pierścień triazolu.

W kolejnej części pracy Autorka przedstawia wyniki badań biologicznych oraz przeprowadziła ocenę potencjału przeciwnowotworowego. Ta część również robi ogromne wrażenie nie tylko z powodu ogromnej liczby przeprowadzonych badań biologicznych, eksperymentów, analiz i porównań, ale także jeżeli chodzi o ostateczne wyniki, gdyż za wielki sukces należy uznać, że wiele otrzymanych pochodnych wykazuje większą aktywność przeciwnowotworową w stosunku do geldanamycyny, a kilka z nich ma bardzo dobry indeks selektywności, dochodzący nawet do wartości 77. To spektakularny wynik zasługujący na wyróżnienie. Do innych wyróżniających się osiągnięć uzyskanych w tej części pracy doktorskiej można zaliczyć: 1. Wykazanie, że obniżona toksyczność pochodnych geldanamycyny związana jest z obniżeniem tendencji do kowalencyjnego wiązania się glutationem. 2. Wykazanie, że rozerwanie pierścienia makrolidowego skutkuje obniżeniem potencjału przeciwnowotworowego. 3. Stwierdzenie, że dobra aktywność soli chinuklidynowych w stosunku do komórek MCF-7 i mniejsza toksyczność w stosunku do zdrowych komórek może być związana z lepszą rozpuszczalnością w wodzie w stosunku do **GDM**. 4. Znalazienie nowych oddziaływań stabilizujących miejsca aktywne w białku Hsp90, np. oddziaływanie hydrofobowe z pochodną **GDM-34**. 5. Wykazanie, że sztywność ramienia przy C17 geldanamycyny, które zawiera grupę karbonylową, pozytywnie wpływa na aktywność biologiczną jej pochodnych.

Oprócz wspomnianych już tabel z danymi spektralnymi zamieszczonymi w części dotyczącej omawianych wyników, w części eksperymentalnej Autorka dysertacji zamieściła drugą dużą porcję danych spektralnych, a także opisy przeprowadzonych eksperymentów i procedur syntez. I ponownie tu należy docenić ilość wykonanej pracy. Mimo, że tych danych jest dużo, to zastanawiam się jednak, jaki był powód, że nie podano danych odnośnie właściwości optycznych otrzymanych związków. Z pewnością związki te są enancjomerami i powinna je charakteryzować jakaś skręcalność.

Z obowiązku recenzenta zmuszony jestem jeszcze wymienić kilka drobnych nieścisłości i pomyłek, które zauważyłem czytając pracę doktorską, przy czym muszę zaznaczyć, że ze względu na wielkość pracy ich ilość jest stosunkowo nieduża.

- W tytule schematu 14 podano, że związki powstają w reakcji addycji 1,4-Michaela. Należy zauważyć, że addycja jest pierwszym etapem, po której zachodzi eliminacja.

- Nie bardzo rozumiem sensu zdania na stronie 64. Cytuję: „W wyniku kaskadowej transformacji proton od NH(1) był odsłaniany i jego sygnał był przesunięty do wartości $\delta = 9,13$ ppm dla pochodnej np. **GDM-27**.” Nie rozumiem w wyniku jakiej kaskadowej transformacji proton od NH(1) jest odsłaniany. Chyba zdanie jest niezbyt udanie sformułowane.

- Uważam, że sformułowanie „rezonuje przy częstotliwości $\delta =$ ” w zdaniu, znajdującym się na stronie 113 „Atom węgla C(35) rezonuje przy częstotliwości $\delta = 132,6$ ppm ...” jest niepoprawne, gdyż przesunięcie chemiczne jest bezwymiarowe. Lepiej napisać, że rezonuje przy częstotliwości odpowiadającej $\delta =$.

- Wydaje mi się, że w zdaniu: „THF i ACN nie były dobrymi matrycami,...” (strona 138), poprawniej zamiast słowa „matrycami” byłoby użycie słowa „rozpuszczalnikami”.

- W tytułach tabel 8 i 9 wspomniano o stałych sprzężenia J [Hz], chociaż nie ma ich w tabelach.

Reasumując muszę jednoznacznie stwierdzić, że cel pracy doktorskiej został w pełni osiągnięty, a wszystkie oceniane i komentowane przeze mnie badania zostały wykonane na bardzo wysokim poziomie naukowym. Poczynione przeze mnie uwagi oraz postawione pytania mają charakter poznawczy, są swoistym głosem w dyskusji i nie umniejszają bardzo pozytywnej oceny merytorycznej dysertacji. Uważam, że oceniana praca doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia wszystkie wymagania zwyczajowe stawiane rozprawom doktorskim, a także wymagania formalne określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce*. Wnoszę zatem do Rady Naukowej Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie Pani mgr Natalii Skrzypczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuje także o wyróżnienie dysertacji. Poza wskazanymi w recenzji elementami pracy zasługującymi na wyróżnienie pragnę skonstatować z całym przekonaniem, że badania w ramach ocenianej dysertacji zostały wykonane na najwyższym światowym poziomie naukowym. Doktorantka otrzymała i przeanalizowała pod kątem struktury oraz potencjału przeciwnowotworowego olbrzymią liczbę bardzo skomplikowanych związków, co dowodzi dużego zaangażowania Autorki dysertacji w badania, jej ponadprzeciętnej pracowitości oraz biegłości w syntezie organicznej, jej profesjonalizmu w interpretowaniu analiz spektroskopowych, przygotowaniu teoretycznym niezbędnym w planowaniu, a także dużej samodzielności podczas realizacji eksperymentów. Uzyskane wyniki, które są absolutnie spektakularne, dowodzą, że Doktorantka przyczyniła się do znacznego rozszerzenia wiedzy w obszarze chemii funkcjonalizowania geldanamycyny oraz na polu chemii medycznej.

Janek Słomka



Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny
w Szczecinie

WYDZIAŁ TECHNOLOGII I INŻYNIERII CHEMICZNEJ

dr hab. Jacek Sośnicki, prof. ZUT
Katedra Chemii Organicznej i Chemii Fizycznej

8.08.2022 r.

Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Natalii Anny Skrzypczak zatytułowanej
**"Modyfikacje rdzenia benzochinonowego naturalnego makrolaktamu – geldanamycyny
oraz ich wpływ na właściwości przeciwnowotworowe"**

W uzasadnieniu wniosku o wyróżnienie dysertacji stwierdzam, że opisane w niej badania zostały wykonane na najwyższym światowym poziomie naukowym. Badania Pani mgr Natalii Skrzypczak wpisują się w światowy wyścig uzyskania aktywnej i bezpiecznej pochodnej geldanamycyny. Doktorantka zrealizowała bardzo ambitny cel pracy polegający na syntezie, analizie strukturalnej oraz zbadaniu potencjału przeciwnowotworowego olbrzymiej liczby bardzo skomplikowanych związków. Ilość, szczegółowość i rzetelność opisanych w pracy eksperymentów i analiz dowodzi dużego zaangażowania Autorki dysertacji w badania, jej ponadprzeciętnej pracowitości oraz biegłości w syntezie organicznej, jej profesjonalizmu w interpretowaniu analiz spektroskopowych, przygotowaniu teoretycznym niezbędnym w planowaniu, a także dużej samodzielności podczas realizacji eksperymentów.

Większość wyników została opublikowana w renomowanych czasopismach o bardzo wysokich współczynnikach oddziaływania. Autorka dysertacji udowodniła też swoje znakomite przygotowanie teoretyczne do wykonania badań. Na wyróżnienie zasługuje fakt, że jest współautorką szerszego opracowania w postaci dwóch artykułów przeglądowych opublikowanych w znakomitym czasopiśmie naukowym *Natural Product Reports* (2022). Przedstawiona w tych artykułach o wiele większa liczba informacji dotycząca całej rodziny ansamycyn wskazuje, że Doktorantka ma szeroką wiedzę także w obszarach wykraczającej poza temat pracy doktorskiej.

Pani mgr Natalia Skrzypczak otrzymała i przeanalizowała 100 związków, w tym 91 nowych pochodnych geldanamycyny. To imponujący wynik. Już samo opisanie wszystkich wyników jest potężnym wyzwaniem, a co dopiero wykonanie tej pracy w laboratorium, poprzedzonej zapewne wieloma próbami i szeroko zakrojonymi przygotowaniem. Wszystkie syntetyczne aspekty pracy są bardzo ciekawe i bardzo wartościowe. Na wyróżnianie zasługuje synteza nowych pochodnych geldanamycyny, które zawierają pierścień benzo[d]oksazolowy,

oraz duży fragment pracy dotyczący syntezy nowych pochodnych z rozbudowanym ramieniem przy C17, przeprowadzonej z zastosowaniem 1,3-dipolarnej cykloaddycji z wykorzystaniem azydków oraz reakcji sprzęgania Hecka.

Strona analityczna jest również imponująca. Wszystkie otrzymane pochodne zostały wyizolowane, a ich struktury zostały ustalone przy wykorzystaniu metod spektrometrii mas, metod spektroskopowych NMR, FT-IR oraz analizy rentgenostrukturalnej. Ważnym elementem badań strukturalnych było ustalenie konformacji nowo otrzymanych pochodnych geldanamycyny. W pracy przedstawiono przykładowe, bardzo szczegółowe analizy NMR wybranych pochodnych wraz z tokiem postępowania. Opisy wraz z uzyskanymi wynikami świadczą o bardzo dużym profesjonalizmie Doktorantki również w tej dziedzinie.

Część dotycząca badań biologicznych również robi ogromne wrażenie nie tylko z powodu ogromnej liczby przeprowadzonych badań biologicznych, eksperymentów, analiz i porównań, ale także ze względu na ostateczne wyniki, gdyż za wielki sukces należy uznać, że wiele otrzymanych pochodnych wykazuje większą aktywność przeciwnowotworową w stosunku do geldanamycyny, a kilka z nich ma bardzo dobry indeks selektywności, dochodzący nawet do wartości 77. To spektakularny wynik zasługujący na wyróżnienie. Do innych wyróżniających się osiągnięć uzyskanych w tej części pracy doktorskiej można zaliczyć:

1. Wykazanie, że obniżona toksyczność pochodnych geldanamycyny związana jest z obniżeniem tendencji do kowalencyjnego wiązania się glutationem.
2. Wykazanie, że rozerwanie pierścienia makrolidowego skutkuje obniżeniem potencjału przeciwnowotworowego.
3. Stwierdzenie, że dobra aktywność soli chinuklidynowych w stosunku do komórek MCF-7 i mniejsza toksyczność w stosunku do zdrowych komórek może być związana z lepszą rozpuszczalnością w wodzie w stosunku do geldanamycyny.
4. Znalezienie nowych oddziaływań stabilizujących miejsca aktywne w białku Hsp90, np. oddziaływanie hydrofobowe z pochodną **GDM-34**.
5. Wykazanie, że sztywność ramienia przy C17 geldanamycyny, które zawiera grupę karbonylową, pozytywnie wpływa na aktywność biologiczną jej pochodnych.

Na wyróżnienie zasługuje też strona graficzna pracy, gdyż obfituje ona w wysokiej jakości kolorowe rysunki fragmentów widm, schematów reakcji czy modeli molekularnych. Rysunki są dobrze dobrane i umieszczone w odpowiednim miejscu, co znacznie ułatwia poruszanie się w trudnym materiale.

Reasumując stwierdzam jednoznacznie, że uzyskane wyniki, które są absolutnie spektakularne, dowodzą, że Doktorantka przyczyniła się do znacznego rozszerzenia wiedzy w obszarze chemii funkcjonalizowania geldanamycyny oraz na polu chemii medycznej. Wyniki te oraz inne elementy pracy, które zostały podkreślone w powyższym uzasadnieniu, potwierdzają, że praca doktorska Pani mgr Natalii Skrzypczak zasługuje na wyróżnienie.