



POLITECHNIKA ŁÓDZKA
INSTYTUT CHEMII
OGÓLNEJ I EKOLOGICZNEJ

Żeromskiego 116, 90-924 Łódź,
Tel: 42-631-31-51,

prof. dr hab. inż. Zbigniew J. Kamiński,
e-mail: zbigniew.kaminski@p.lodz.pl

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Aleksandry Matkowskiej

Przedmiotem recenzji jest rozprawa doktorska zatytułowana „4-*N*-podstawione pochodne 5-azacytozyny – synteza, struktura i właściwości chemiczne” wykonana w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu przez mgr inż. Aleksandrę Matkowską. Promotorem rozprawy jest prof. dr hab. Wojciech T. Markiewicz a promotorem pomocniczym: dr Bartosz Marciniak.

Praca jest w pełni zgodna z klasycznymi wymaganiami. Obejmuje 187 stron i składa się z wykazu skrótów, wstępu i celu pracy, 44 stronicowej części literaturowej, 56 stronicowego opisu badań własnych, 60 stronicowej części eksperymentalnej, streszczenia w jęz. angielskim i wreszcie zbioru przypisów literaturowych zawierającego 212 odsyłaczy. Przedstawione opracowanie posiada poprawną i przejrzystą strukturę co pozwala na jego formalną i merytoryczną ocenę.

Rozprawa poświęcona jest poszukiwaniu nowych inhibitorów procesu metylacji kwasów nukleinowych wśród pochodnych 5-azacytozyny i stanowi integralną część szerszego projektu badawczego EPICELL podjętego dla potrzeb medycyny regeneracyjnej, poświęconego niskcząsteczkowym modulatorom epigenetycznym jako aktywatorom pluripotencji komórek, realizowanego w ICHB PAN przez zespoły prof. Wojciecha Markiewicza, prof. Jana Barciszewskiego i prof. Macieja Stobieckiego. U podstaw uzasadniających podjęcie tej tematyki leżą obserwacje poczynione w grupie badawczej profesora Jana Barciszewskiego, które wykazały, że 4-*N*-furfurylocytozyna hamuje ekspresję metylotransferazy DNMT1, co pozwala na zastosowanie jej jako obiecującego inhibitora tego enzymu.

Część literaturowa pracy składa się z dwóch części; pierwszej, poświęconej problematyce metylacji DNA oraz drugiej omawiającej syntezę cytozyny i jej analogów jako modulatorów wymienionego powyżej procesu metylacji. Taki wybór referowanej tematyki oceniam jako racjonalny i w pełni uzasadniony.

Doktorantka przedstawiła dwa wzorce mechanizmu metylacji DNA i mechanizm nieprawidłowej hipermetylacji prowadzący do zmian nowotworowych. Omówiła typy i role metylotransferaz DNA oraz mechanizm hemimetylacji prowadzący do zachowania wzorca metylacji u komórek potomnych. Udokumentowała rolę sekwencji CpG i enzymów metylujących w procesie zachowania wzorca metylacji i w procesach epigenetycznych. Przedstawiła różnice w funkcjach i w budowie 5 ludzkich metylotransferaz DNA ze szczególnym rozróżnieniem ich roli w procesie proliferacji i różnicowania komórek.

W drugim fragmencie części literaturowej, po krótkiej prezentacji zróżnicowanych strukturalnie niskcząsteczkowych inhibitorów DNA metylotransferaz, przedstawione zostały metodyki syntezy cytozyny i jej analogów (zwłaszcza modyfikowanych w pozycji 5) jako najbardziej obiecujących struktur wiodących spośród omówionych inhibitorów. Szczególnie

wyczerpująco opisane zostały 5-aza analogi i to zarówno otrzymywane metodą *de novo* syntezy pierścienia 1,3,5-triazynowego jak i poprzez modyfikacje reaktywnych pochodnych 1.3.5-triazyny. Część literaturową rozprawy zamknęła analiza tautomerii aminopirymidyn i aminotriazyn.

Taka struktura części literaturowej, w której zamiast jednego wąskiego i ściśle ograniczonego tematu, występuje wiele zazębiających się wątków, jest szczególnie trudna do zrealizowania. Największym problemem jest tu utrzymanie poprawnych relacji pomiędzy kolejnymi fragmentami opracowania. W moim przekonaniu, decyzja o wyborze opisanej powyżej wielowątkowej struktury opracowania była uzasadniona i co równie ważne, została zrealizowana przez Doktorantkę w sposób zasługujący na uznanie. Zamiar ten, stanowiący dobre, merytoryczne wprowadzenie do badań własnych udało się zrealizować z pełnym powodzeniem.

Uchybienia edytorskie w tym fragmencie (jak i w pozostałych częściach rozprawy) zdarzają się ale są nieliczne.

Nieadekwatny jest podpis pod Schematem 20. Zamiast „Synteza 5-alkilocytozyn przez rozerwanie wiązania N-glikozydowego nukleozydu” uwaga powinna być zwrócona na operację N-alkiloaminowania pozycji 4.

Brak jest prób wyjaśnienia przyczyn tak wysoce regioselektywnej modyfikacji pozycji 5 cytozyny przedstawionej na Schemacie 22.

Brak jest jasności czy Schemat 23 opisujący otrzymywanie 5-azacytozyny (**59**) to wynik badań własnych czy opisane są dane literaturowe. Najbliższy odsyłacz do literatury nie jest jednoznacznie przypisany do wymienionego Schematu 23.

Błędny jest wzór formy iminowej (B) pochodnych aminopirymidyny przedstawiony na Rysunku 6 na str. 45.

Na Schemacie 32, prawy, górny rotamer 2-metyloamino-1,3,5-triazyny jest identyczny ze strukturą wyjściową, a ponadto legenda do omawianego schematu zapowiadająca: „Struktury rezonansowe dla aminopodstawionych triazyn (A)”, jest nieadekwatna do jego treści.

Wielowątkowy charakter części literaturowej daje możliwość arbitralnego wyboru referowanych pozycji literaturowych. Niemniej jednak, w moim przekonaniu, pominięcie pracy M. List i wsp. zatytułowanej „N-Methylmelamines: Synthesis, Characterization, and Physical Properties”, *J. Org. Chem.* **81**(10), 4066-4075 (2016); opisującej właściwości wszystkich analogów melaminy otrzymanych poprzez kombinacje metylowania jej grup aminowych, i to przy zastosowaniu jednolitej metodyki badawczej, umniejszyło siłę argumentacji Doktorantki, choć, co należy podkreślić, nie miało wpływu na kształt finalnego podsumowania.

W trakcie lektury pracy napotkałem również w kilku jej fragmentach na stwierdzenia wprowadzające mnie w konfuzję. Chodzi o dwa problemy:

Pierwszym z nich jest, co prawda sporadycznie spotykany, niejednolity system nazewnictwa związków chemicznych. Jeśli w jednym paragrafie (str. 39) „mrówczan guanylomocznika (**70**) powstaje w wyniku reakcji *kwasy mrówkowego* z guanylomocznikiem”, to czemu tym samym paragrafie „*kwasy metanowy* natomiast, tworzy się w reakcji mrówczanu etylu i wody”? Albo w innym miejscu (str. 43): „Próba otrzymania N-metylo-N'-*guanylo*mocznika również była nieudana”, ale „łatwo otrzymano odpowiednio N-metylo-N'-metylo*guanilo*mocznik (**83**) i N-metylo-N'-(N,N-dimetylo*guanilo*)mocznik (**84**). Ja takiego bogactwa terminologii chemicznej nie pochwalam. Lepiej unikać komplikacji spowodowanych nomenklaturowymi mieszaneściami.

Drugi z problemów wynika z faktu używania identycznych akronimów dla całkowicie odmiennych związków. Nie obwiniam za to w żaden sposób Doktorantki, bo wprowadzając obfity i wyczerpujący wykaz skrótów i akronimów dołożyła należytych starań celem

zminimalizowania nieporozumień. Niemniej jednak problem pozostaje nierozwiązany i może prowadzić do przykrych błędów.

BSA - to nie tylko dla „peptydowca” *Bovine Serum Albumin*, a nie „*N,O*-bis(trimetylosililo)acetamid”.

DMAP – to dla wielu chemików 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydyna a nie „DNA methyltransferase associated protein”

Bnz – to dla wielu **benzoil** a nie „benzyl”, oznaczany zwykle przez „peptydowców” jako Bn.

Pisząc o tym daję raczej wyraz swojej bezradności i sygnalizuję potrzebę podjęcia działań naprawczych zapobiegających bądź redukujących skutki takich potencjalnych nieporozumień i ponownie podkreślam, w żadnym przypadku nie obwiniam za ten stan rzeczy nikogo osobiście, a zwłaszcza Pani Doktorantki.

Badania własne opisane w rozdziale zatytułowanym „Wyniki i dyskusja” zawierają również dwa elementy składowe. Pierwszy z nich poświęcony jest pracom syntetycznym, które doprowadziły do otrzymania reprezentatywnego zbioru pochodnych i analogów 5-azacytozyny. Drugi zawiera wyniki badań strukturalnych otrzymanych związków ze szczególnym uwzględnieniem swobody ich zmian konformacyjnych.

Systematycznie zrealizowany fragment syntetyczny zawiera trzy podejścia do syntezy pochodnych 5-azacytozyny, w których materiałami wyjściowymi są kolejno 2-chloro-4,6-dimetoksy-1,3,5-triazyna, 2,4-dichloro-6-metoksy-1,3,5-triazyna i 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazyna.

Pierwszy z wymienionych poddany dehydrohalogenacji został przeprowadzony w 2,4-dimetoksy-1,3,5-triazynę, która w reakcji podstawienia grupy metoksylowej działaniem metyloaminy, dimetyloaminy, furfuryloaminy i/lub benzyloaminy dała odpowiednie 2-metoksy-4-alkiloamino-1,3,5-triazyny. Ich hydroliza kwasowa prowadzona w trzech wariantach preparatywnych dała oczekiwane 4-alkiloamino-5-azacytozyny.

Przytoczona wzmianka dotycząca konieczności unikania zbyt drastycznych warunków prowadzenie opisanych powyżej transformacji celem uniknięcia niechcianego O->N transferu grupy metylowej jest zgodna z naszymi obserwacjami poczynionymi w podobnych reakcjach.

Produkty syntezy zostały w pełni scharakteryzowane i wykorzystane do syntezy dziewięciu analogów 5-azacytozyny podstawionych grupami alkilowymi w pozycji 1 zawierającymi w pozycji 4 grupę furfuryloaminową bądź aminową. Zostały one wykorzystane jako modele w badaniach szybkości hydrolitycznego otwarcia pierścienia triazynowego w środowisku wody amoniakalnej. Metodyka tych badań oparta o wykorzystanie spektrometrii masowej do oznaczeń ilościowych w pierwszej chwili wydawała się nie do zaakceptowania. Ostatecznie jednak ostrożnie wyciągnięte wnioski należy uznać za poprawne, ze świadomością faktu, że precyzja oznaczenia szybkości otarcia pierścienia nie była zbyt wysoka; niemniej jednak ostateczna konkluzja pozostaje godna zaufania. Zestawienie czasów półtrwania podstawionych w pozycji 1 azacytozyn zawarte w Tabeli 5 na str. 72 jednoznacznie wskazuje, że pochodne z podstawnikiem alkoksymetylowym (a więc pochodne mimikujące azacytydyny) należą do szczególnie podatnych na hydrolizę. Nie do końca przekonuje mnie jednak wyjaśnienie, że przyczyną obniżonej trwałości tych związków jest efekt indukcyjny elektroujemnego atomu tlenu. Wszystkie mało-stabilne pochodne zawierają fragment aza-acetalowy (hemiaminalowy) N-C-O. Wiem, amoniakalne środowisko reakcji gwarantuje odczyn zasadowy, ale czy sole amoniowe nie mogą spełniać w tym przypadku roli kwasowego katalizatora? Będę wdzięczny za dyskusję w tej sprawie w trakcie obrony.

Bardzo interesujących wyników dostarczył systematycznie przeprowadzony skринing podatności metoksylowych pochodnych związków o pierścieniu sześcioczłonowym zawierających od 3 do 0 atomów azotu na hydrolizę pod działaniem chlorotrimetylosilanu. Za

uzasadnione uznaję zastosowanie techniki preparatywnego TLC do rozdziału nowych, słabo scharakteryzowanych pochodnych 1-podstawionych azacytozyn. W mojej praktyce przekonałem się wielokrotnie, że ta prosta technika posiada przewagę nad preparatywnym HPLC zwłaszcza we wszystkich przypadkach zaskakującego przebiegu reakcji triazyn prowadzących do produktów silnie polarnych.

Drugi z materiałów wyjściowych, zawierający dwa reaktywne atomy chloru w pierścieniu triazynowym, z wysokimi wydajnościami pozwolił uzyskać liczny zbiór mono- i dipodstawionych grupami alkiloaminowymi 6-metoksy-1,3,5-triazyn. W trakcie prób wyjaśnienia przyczyn różnicowania reaktywności zależnego od struktury amin Doktorantka wielokrotnie wspomina o ich nukleofilowości i zasadowości. Nie mam wątpliwości, że odróżnia od siebie oba pojęcia, ale brak mi tu wyraźnego podkreślenia faktu, że dla amin o identycznej rzędowości i o podobnym schemacie budowy, szeregi nukleofilowości i zasadowości są do siebie zbliżone (Jencks, W.P. & Gilchrist, M. (1968) *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 2622-2637).

Jak poprzednio, wszystkie otrzymane związki zostały starannie scharakteryzowane i następnie poddane próbom transformacji do analogów 5-azacytozyny poprzez rozszczepienie grupy metoksylowej działaniem kwasu lub pochodnych trimetylosilanu. W żadnym eksperymencie nie udało się zhydrolizować podstawnika metoksylowego. Postęp uzyskany został dopiero w warunkach hydrolizy w środowisku zasadowym, w obecności KOH. Moje pytanie brzmi: „Jakie były wyniki hydrolizy w obecności NaOH?” Nie daję wiary, że takich prób nie było i domyślam się, że wyniki hydrolizy działaniem NaOH nie były zachęcające.

Ukoronowaniem prac syntetycznych są badania struktury azacytozyn, jej analogów i produktów pośrednich w syntezie. Wykorzystane zostały w tym celu badania NMR-owe, metody krystalograficzne i obliczeniowe. Starannie przygotowane kopie widm i insertów pozwalają czytelnikowi na dokonanie niezależnych interpretacji wszystkich przedstawionych wyników tych badań. Korzystnie na klarowość interpretacji złożonych relacji przestrzennych omawianych związków wpłynął również fakt starannego różnicowania i przestrzegania przez Doktorantkę pojęć: zmian konformacyjnych, ograniczenia swobody tych zmian definiowanego jako Rotameria i wreszcie pojęcia atropoizomerii.

Badania takie są szczególnie istotne w przypadku cząsteczek o spodziewanej aktywności biologicznej, ponieważ dostępny zakres modyfikacji struktury przestrzennej w wyniku oddziaływań słabych zwykle determinuje ich funkcje. Wysoce interesujący opis badań konformacyjnych osłabia nazbyt skąpy opis wprowadzenia do rozdziału „Rotameria”. Zawiera on Rys. 26 (str. 85) prezentujący dwie struktury rezonansowe wiązania amidowego CO-NH₂. Szkoda, że nie zaprezentowano wszystkich trzech struktur amidu CO-NHR, podstawionego na atomie azotu, poprawnie ilustrując izomerię s-cis i s-trans wiązania amidowego, kluczowego „bohatera” całego rozdziału. Niezależnie od powyższego, warto było również wspomnieć o możliwości tautomerii wiązania amidowego lub wiązania NH-triazyna, przywoływanej w późniejszych fragmentach dysertacji. Również kolejny Rysunek 27 pomija kwestię izomerii s-cis i s-trans podstawnika wywodzącego się z kwasu p-aminobenzoowego, wywołanej sprzężeniem pary elektronowej azotu z pierścieniem triazynowym. Dopiero złożenie obu efektów ograniczenia swobody rotacji wiązania C-N daje racjonalne uzasadnienie do wyjaśnienia złożonej struktury multipletowej widma ¹H-NMR podstawnika N,N-dietylaminowego. W dalszych fragmentach wywodu skoncentrowanych na omówieniu widm brak jest miejsca do takich rozważań, a prezentowanie struktury jednego tylko rotameru nie ułatwia czytelnikowi śledzenia toku wywodu. Usprawiedliwieniem skrótowości wprowadzenia jest tylko fakt obszernego omówienia tautomerii melamin i aminopirymidyn w części literaturowej dysertacji na str. 44-49.

Analiza reprezentatywnej grupy 2-metoksy-4-alkiloamino-1,3,5-triazyn jednoznacznie dokumentuje pełną swobodę konformacyjną metoksyłu. Pozwala to skoncentrować uwagę na

ograniczeniach swobody rotacji powodowane przez podstawnikach alkiloaminowe. Tu rodzi się pytanie o przyczyny stosunkowo niewielkiego zróżnicowania przesunięć chemicznych sygnałów grupy 2-metoksyowej i protonu H-6 w obecności w pozycji 4 podstawnika metyloaminowego (związek **104**) wobec znacząco większego zróżnicowania ich przesunięć chemicznych w związkach **105** i **106**. Ponadto, czy porównanie tych przesunięć z wartościami uzyskanymi dla 2-metoksy-4(dimetyloamino)-1,3,5-triazyny (**96**) nie jest wystarczające do podjęcia prób identyfikacji struktury rotamerów związków **104-106**. Próba dyskusji wyników przedstawiona na Rysunku 32, oparta o „formalizm kreskowy struktur granicznych” (jedna kreska-pojedyncze wiązanie, dwie kreski wiązanie podwójne) zasługuje na uznanie, ale zgodnie z moim doświadczeniem zebranych w trakcie badań pochodnych 1,3,5-triazyny, jest trudnym zadaniem. Co gorsze, formalizm ten utrudnia interpretacje wyników. Przykładowo, obliczenia wielkości bariery energetycznej przejścia pomiędzy rotamerami na poziomie 25-26 kcal/ml (str. 89) nie budzą mojej wątpliwości jednak nie zgadzam się z przedstawioną ich interpretacją. Tak wysokie bariery są dostateczne dla wyodrębnienia stabilnych atropoizomerów, ale dalsze prace wskazują, że po niewielkim ogrzaniu zróżnicowanie rotamerów w widmach NMR zanika. Jeszcze raz podkreślę, że nie podważam wyników obliczeń, a jedynie chcę wskazać na możliwość rozważenia innego mechanizmu transformacji jednego rotameru w drugi. Mianowicie, czy po stosunkowo niewielkim obrocie wokół egzocyklicznego wiązania *N*-triazyna i częściowej „piramidalizacji” atomu azotu może nastąpić jego „flipping” i inwersja struktury prowadząca do drugiego rotameru bez konieczności dalszego obrotu wiązania o 90°? Pozostaję bardzo zaciekawiony dyskusją na ten temat.

Zastanawiający dla mnie jest również brak sprzężenia protonu amidowego przy HN-1 z protonem H-6 w otrzymanych 5-azacytozynach **90** i **87**. Czy takie obserwacje mają potwierdzenie w innych przypadkach?

Nie przekonuje mnie próba wyjaśnienia opisanego na str. 92-93 zróżnicowania stałych sprzężenia protonów grupy arylometyloaminowej-4 (związki **99** i **107**) poprzez zaproponowaną chimere struktury granicznej i tautomeru powstającego poprzez migracje [1.3] protonu. To, że taka migracja jest niedozwolona z uwagi na symetrię orbitali jest mniej istotne, bo migrację protonu [1.3] mogą katalizować kwasy lub aminy, których obecności nie można wykluczyć w opisanych warunkach eksperymentu. Ale, czy dla wyjaśnienia tego zróżnicowania nie można zastosować wykresu Karplusa, który dla kąta dwuściennego protonów wycinalnych H-C-C-H wynoszącego ok. 80° przewiduje $J=0$ dla sprzężenia jednego z protonów grupy metylenowej? Za taką interpretacją przemawia również Rysunek 33. prezentujący fragmenty widma ¹H-NMR 5-aza-4-*N*-metylocytozyny (**90**) ze zróżnicowanymi stałymi sprzężenia obu dubletów grupy metylenowej.

Kontynuując, zastanawia mnie również brak sprzężenia pomiędzy geminalnymi protonami grupy metylenowej. Na żadnym z widm nie można się dopatrzeć nawet śladów układu AB. Czy to może oznaczać, że otoczenie obu protonów grupy metylenowej dla każdego z rotamerów uśrednia się w jakimś szybkim procesie np. rotacyjnym lub oscylacyjnym?

Równie zaskakujący jest fakt, że w stanie krystalicznym (X-ray) wiązania amidowe CO(1)-N(6) w 5-azacytozynach jest znacząco wydłużone (1.407 i 1.405Å) w porównaniu do pozostałych wiązań pierścienia triazynowego (od 1.291 do 1.350 i 1.289 do 1.352Å). Natomiast egzocykliczne wiązanie *N*-triazyna jest silnie sprzężone a jego długość jest takiego samego rzędu wielkości jak typowe wiązania w pierścieniu triazynowym. Jeśli to możliwe, proszę o komentarz w tej sprawie.

Nie mogę się zgodzić z interpretacją wyników obliczeń trwałości konformerów 1A przedstawionych na Rysunkach 40 i 41. Wyliczona **większa energia swobodna** obu

konformerów 1A wskazuje na ich **mniejszą trwałość**, co prowadzi do „czeskiego błędu” w przypisaniu struktury stabilniejszym rotamerom.

Nieprecyzyjne są również sformułowania użyte w dyskusji na str. 97. To nie rotamer 1 jest obracany o 180° lecz tylko podstawnik furfuryloaminowy.

Bardzo dobre dysertacje nie tylko rozwiązują postawiony problem ale i otwierają nowe obszary badawcze. Tak jest i w tym przypadku. Nasuwa się bowiem pytanie dlaczego mając tak reprezentatywny i tak dobrze udokumentowany zbiór struktur pochodnych 5-azacytozyny (triazyny) i ich widm $^1\text{H-NMR}$ -owych, z tak starannymi przypisaniami poszczególnych sygnałów, nie zostały podjęte próby wykorzystania tego narzędzia do przypisania usytuowania podstawnika-4 w rotamerach. Widoczne na rysunkach 30, 37, 46, silne zróżnicowanie sygnałów protonów orto- i meta- wskazuje na ograniczoną swobodę obrotu fenylu wokół wiązania CH_2 -aromat. Analogiczne obserwacje dotyczą podstawnika furfurylowego (rysunek 29, 36, 45). Przyczyną takiego ograniczenia swobody rotacji podstawnika aryloвого może być jego zdolność do oddziaływań typu *stacking* lub *face to edge* dwóch pierścieni aromatycznych, stabilizujących usytuowanie grupy benzylowej i/lub furfurylowej w konformacji, w której bogaty w elektrony atom azotu 3 lub azotu 5 ulokowany jest w pobliżu środka aromatycznego pierścienia podstawnika arylo-metyloaminowego-4. Taka konformacja powinna być stabilna, ale po podgrzaniu słaby efekt stabilizacji powinien być wyeliminowany (jak tego dowiedziono eksperymentalnie w dysertacji). Powodować ona powinna przesłanianie H-6 jeśli aromat tworzy kompleks z N-5 triazyny lub przesłanianie grupy metoksylowej-2 jeśli w kompleksie uczestniczy N-3 triazyny. Podobny efekt mógłby posłużyć do wyjaśnienia trzech lub nawet czterech grup sygnałów 4,6-diarylo-metyloamino-1,3,5-triazyn.

Liczę na dalszą dyskusję w tej sprawie w trakcie obrony.

Podsumowując, moja formalna i merytoryczna ocena pracy jest wysoce pozytywna. Tekst rozprawy jest starannie zredagowany dobrą polszczyzną. Używane sformułowania nawet w bardzo specjalistycznych fragmentach pracy są precyzyjne i jednoznaczne. Liczne rysunki, widma i schematy są estetyczne i czytelne. Błędy i uchybienia natury edytorskiej są bardzo nieliczne i nie utrudniają lektury pracy. Można ocenić, że redakcja tekstu rozprawy znajduje się na poziomie znacząco powyżej progu wymagań standardowych. Przytoczone powyżej w recenzji uwagi mają charakter dyskusyjny, nie podważają jej warstwy merytorycznej i w żadnej mierze nie wpływają na moją wysoką ocenę dysertacji.

Wysoko oceniam wybór ambitnego tematu badań. Poszukiwania narzędzi do świadomego wpływania na przebieg procesów epigenetycznych stanowi prawdziwe wyzwanie intelektualne. Wybór inhibitorów reakcji metylowania cytozyny w pozycji 5 jako celu pracy jest dobrze uzasadniony. Jego realizacja wymagała zastosowania zróżnicowanych i nowoczesnych metod badawczych oraz opanowania trudnego i w zasadzie interdyscyplinarnego charakteru wykonanych prac niezbędnych dla zrealizowania kolejnych zadań badawczych. Na uznanie zasługuje sprawne utrzymanie równowagi pomiędzy pracami syntetycznymi i badaniami strukturalnymi oraz powściągliwość w wysnuwaniu przedwczesnych wniosków. We wszystkich przypadkach wnioskowanie jest dobrze poparte materiałem eksperymentalnym. Umiejętności te wystawiają najlepsze świadectwo gruntownej wiedzy oraz dojrzałości naukowej Doktorantki.

Z pełnym przekonaniem uznaję, że dysertacja przedstawiona do oceny spełnia wymagania określone w ustawie o Stopniach Naukowych i wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu o dopuszczenie mgr inż. Aleksandry Matkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz wyróżnienie dysertacji.

Zbigniew J. Kamiński

Łódź 18 sierpnia 2020