

dr hab. inż. Sebastian Demkowicz, prof. Uczelni  
80-233 Gdańsk, ul. Gabriela Narutowicza 11/12

☎: 58 347 16 00

✉: sebastian.demkowicz@pg.edu.pl

Gdańsk, 17.05.2024 r.

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgra Josepha Daniela Gbubele

pt.: „*Asymmetric synthesis of  $\alpha$ -substituted phosphonates and phosphonic acids via hydrophosphonylation of substrates containing carbon-heteroatom bond with TADDOL-derived H-phosphonate*” wykonanej na Wydziale Chemii Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem dra hab. inż. Tomasza Krzysztofa Olszewskiego, prof. pwr

Synteza asymetryczna prowadząca do otrzymywania związków chiralnych o ściśle zdefiniowanej konfiguracji jest kluczowym i niezwykle ważnym obszarem badań w dziedzinie chemii organicznej, stanowiącym fundament dla wielu innowacji w przemyśle farmaceutycznym i chemii materiałów. W przypadku wielu związków biologicznie czynnych, w tym leków, tylko jeden z enancjomerów jest biologicznie aktywny lub ma pożądane właściwości terapeutyczne, podczas gdy drugi może być mniej aktywny, nieaktywny lub wręcz toksyczny. W literaturze chemicznej można wskazać szereg przykładów, które obrazują jak ważne jest enancjoselektywne czy też diastereoselektywne otrzymywanie substancji biologicznie czynnych (API) stosowanych w terapii wielu chorób. W przypadku projektowania i syntezy leków chiralność jest kluczowa ze względu na selektywność i specyficzność interakcji w organizmach żywych. Niewiedza i zaniedbania w tym zakresie prowadzą często do bardzo poważnych konsekwencji dla zdrowia i życia pacjentów.

Jednym z istotnych narzędzi wykorzystywanych w syntezie asymetrycznej są chiralne środki pomocnicze, takie jak TADDOL ( $\alpha,\alpha,\alpha',\alpha'$ -tetraarylo-2,2-dipodstawiony 1,3-dioksolano-4,5-dimetanol) znane ze swojej zdolności do kontrolowania stereochemii w syntezie wielu pochodnych w tym związków fosforoorganicznych, alkoholi, ketonów i innych. Działają one jako tymczasowe elementy strukturalne związku indukujące powstawanie asymetrycznego centrum o ściśle określonej konfiguracji. W odróżnieniu od chiralnych katalizatorów, które pozostają niezmiennie i działają katalitycznie, środki pomocnicze są związane chemicznie z

reagentami i często usuwane po zakończeniu syntezy. Wprowadzenie chiralnych środków pomocniczych do syntezy organicznej otworzyło nowe możliwości w projektowaniu leków i tworzeniu związków o określonych właściwościach.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgra Josepha Daniela Gbubele została zrealizowana na Wydziale Chemii Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem prof. Tomasza Krzysztofa Olszewskiego i świetnie wpisuje się w zakres badań podstawowych, skutecznie realizowanych już od wielu lat przez zespół naukowy promotora. Manuskrypt zawierający 275 stron maszynopisu, jest napisany w języku angielskim i posiada układ typowy dla prac z zakresu chemii. Jest podzielony na trzy główne rozdziały tj. *Wprowadzenie*, *Badania własne* (opisane w 4 rozdziałach zakończonych krótkim podsumowaniem), *Część eksperymentalna*, które są poprzedzone *Przedmową* oraz zwięzłym i merytorycznie przedstawionym *Celem rozprawy*. Pracę kończy spis cytowanej literatury obejmujący 315 pozycji. Materiał doświadczalny przedstawiony w dysertacji został opublikowany w formie oryginalnego artykułu oraz w pracy przeglądowej (w których doktorant jest pierwszym autorem) w czasopiśmie z tzw. listy filadelfijskiej o wysokim współczynniku oddziaływania tj. *Organic & Biomolecular Chemistry* (IF= 3.2). Wyniki prac doświadczalnych zostały również zaprezentowane na 6 konferencjach naukowych organizowanych w kraju jak i zagranicą. Poza tym doktorant jest współautorem przyznanego patentu krajowego i jednego zgłoszenia w Urzędzie Patentowym RP.

Na wstępie doktorant przedstawił główne założenia swojej rozprawy i zadania jakie zostały mu powierzone w ramach realizacji pracy doktorskiej, które dotyczyły głównie zbadania możliwości zastosowania chiralnych środków pomocniczych w asymetrycznej syntezie  $\alpha$ -podstawionych fosfonianów i kwasów fosfonowych, ze szczególnym uwzględnieniem reakcji addycji *H*-fosfonianowych pochodnych TADDOL-u do wiązania wielokrotnego węgiel-heteroatom. Należy zaznaczyć, że tematyka pracy doktorskiej jak również postawione cele są niezwykle ciekawe i ambitne. Powszechnie wiadomo, iż opracowanie wydajnych metod syntez asymetrycznych prowadzących do otrzymania produktów reakcji charakteryzujących się wysokim stopniem czystości optycznej jest niezwykle trudne, czasochłonne, wymagające sporego doświadczenia oraz solidnego warsztatu i umiejętności eksperymentatora.

Doktorant we *Wstępie* swojej dysertacji przedstawił merytoryczny przegląd literaturowy dotyczący otrzymywania oraz aktywności biologicznej podstawionych pochodnych fosfonianów i kwasów fosfonowych. Szczególną uwagę poświęcił otrzymywaniu w/w pochodnych w sposób asymetryczny, z naciskiem na zastosowanie chiralnych środków pomocniczych tj. optycznie czystych pochodnych *H*-fosfonianów, fosfinianów czy tlenków fosfin otrzymywanych z odpowiednich chiralnych alkoholi do wytwarzania szerokiej gamy,

strukturalnie zróżnicowanych chiralnych produktów. Tę część dysertacji, w której doktorant z dużą precyzją wprowadza czytelnika w temat swojej rozprawy, oceniam jako bardzo wartościową. Stanowi ona obszerne źródło informacji na temat prowadzonych badań, jest napisana w bardzo przystępny sposób, w świetnym stylu, co sprawia, że czyta się ją z przyjemnością i z dużym zainteresowaniem. Warto podkreślić, że autor prezentując informacje dostępne w literaturze chemicznej nie poprzestaje jedynie na ich prostym przedstawieniu i opisie, ale dokonuje wnikliwej i (co najważniejsze) krytycznej oceny prezentowanych treści. Świadczy to nie tylko o solidnej wiedzy doktoranta w obszarze omawianego tematu, ale także o jego wysokim stopniu dojrzałości naukowej. Ta część dysertacji została również bardzo dobrze przygotowana pod względem edytorskim, zawiera starannie przygotowane schematy reakcji i rysunki. We fragmencie tekstu opisującym właściwości biologiczne pochodnych fosfonianów i kwasów fosfonowych zabrakło mi jednak choćby krótkiej informacji dotyczącej zastosowania hydroksybisfosfonianów- bardzo ważnych, czynnych biologicznie związków fosforoorganicznych, wykorzystywanych w leczeniu osteoporozy, których technologie wytwarzania (opracowane przez polskich naukowców) przyczyniły się do znacznego umocnienia pozycji polskiego przemysłu farmaceutycznego na rynkach światowych. Niemniej jednak, biorąc pod uwagę fakt, iż autor pracy skoncentrował się głównie na pochodnych zawierających centra asymetryczne, brak tych informacji nie można traktować jako uchybienie. W tym miejscu należy również zaznaczyć, iż tropienie błędów w tej części rozprawy było niezwykle trudne, co świadczy o dobrym przygotowaniu tekstu i starannym uporządkowaniu prezentowanych treści. Korzystając z przywileju recenzenta, chciałbym jednak zwrócić uwagę na kilka drobnych niedociągnięć: Rysunek 2- ogólna struktura fosforowego analogu aminokwasu **3** nie odzwierciedla pochodnych fosfonowych/fosfinowych/tlenku fosforyny **3**, które autor przypisał w tekście; strona 4, Rysunek 3- błąd w strukturze inhibitora proteazy serynowej; strona 37, schemat 26a- brakuje podstawnika R<sup>3</sup> w strukturze produktu **91** (R<sup>3</sup>=H?).

W kolejnych czterech rozdziałach, doktorant opisał badania własne, będące realizacją celów rozprawy w tym: asymetryczne reakcje hydrofosfonylowania  $\alpha$ -*N*-acyloaminoalkilosulfonów, imin, związków karbonylowych, oraz hydrazonów, z wykorzystaniem *H*-fosfonianowej pochodnej TADDOL-u. Każdy z rozdziałów zawiera krótki wstęp teoretyczny będący przeglądem literatury z zakresu omawianego tematu. Jest to dość niestandardowe rozwiązanie, niemniej jednak uważam, że świetnie wprowadza czytelnika w tematykę przeprowadzonych badań i uzasadnia ich kierunek.

W pierwszym rozdziale, doktorant opisał badania nad opracowaniem wydajnej, i co najważniejsze, diastereoselektywnej metody hydrofosfonylowania  $\alpha$ -*N*-acyloaminoalkilosulfonów w celu otrzymania optycznie czystych  $\alpha$ -aminoalkilofosfonianów i kwasów  $\alpha$ -aminoalkilofosfonowych. W początkowym etapie, doktorant zoptymalizował

warunki reakcji hydrofosfonylowania  $\alpha$ -*N*-acyloaminoalkilosulfonów z niechiralnymi *H*-fosfonianami w celu zapewnienia maksymalnego stopnia konwersji substratów. Opracowany protokół „one pot” zakładający otrzymywanie *in situ* odpowiedniej pochodnej iminy, posłużył w kolejnych etapach do opracowania wydajnej, wysoce diastereoselektywnej, katalizowanej zasadą metody otrzymywania  $\alpha$ -aminoalkilofosfonianów przy użyciu *H*-fosfonianowej pochodnej TADDOL-u jako chiralnego środka pomocniczego. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż opracowany przez doktoranta protokół pozwolił na kontrolę stereochemiczną otrzymywanych produktów, która została uzyskana dzięki indukcji asymetrycznej wynikającej z obecności chiralnego *H*-fosfonianu (*R,R* lub *S,S*) w strukturze substratu. Późniejsze rozszczepienie chiralnego środka pomocniczego doprowadziło do otrzymania enancjomerycznie czystych kwasów  $\alpha$ -aminoalkilosfonowych.

Zachęcony bardzo obiecującymi wynikami przeprowadzonych eksperymentów, doktorant w kolejnym etapie postanowił wykorzystać *H*-fosfonianową pochodną TADDOL-u w opracowaniu prostej, diastereoselektywnej metody hydrofosfonylowania *N*-podstawionych imin. Doktorant wykorzystał niechiralne pochodne iminowe zawierające w swojej konstytucji podstawniki na atomie azotu o różnej wielkości, w celu zbadania wpływu efektów sterycznych na diastereoselektywność reakcji otrzymywania  $\alpha$ -aminoalkilofosfonianów. Niestety, pomimo wielu prób, nie udało się uzyskać satysfakcjonujących wyników zaplanowanych eksperymentów. Niemniej jednak w trójskładnikowych reakcjach polegających na bezpośredniej kondensacji odpowiednich aldehydów, benzhydryloaminy i *H*-fosfonianowej pochodnej TADDOL-u, doktorant zaobserwował powstawanie produktu ubocznego w postaci hydroksyfosfonianu, będącego produktem addycji *H*-fosfonianowej pochodnej TADDOL-u do wiązania C=O. Co ciekawe, diastereoselektywność zaobserwowanej reakcji okazała się bardzo obiecująca i eksperymenty (choć nieudane) stały się podstawą do opracowania nowej, diastereoselektywnej metody hydrofosfonylowania związków karbonylowych. Na bazie tych eksperymentów, doktorant opracował dwie wydajne i proste metody syntezy optycznie czystych  $\alpha$ -hydroksyalkilofosfonianów. Pierwsza z metod obejmowała katalizowaną zasadą, diastereoselektywną hydrofosfonylację aldehydów w wyniku traktowania *H*-fosfonianową pochodną TADDOL-u w niskiej temperaturze, druga zaś, opierała się na katalizowanej pochodną chininy reakcji prowadzonej w temperaturze pokojowej. Obydwie metody charakteryzowały się bardzo wysoką wydajnością oraz diastereoselektywnością. Nieco niższą efektywność procesu zaobserwowano w przypadku hydrofosfonylacji ketonów.

W czwartym rozdziale rozprawy, doktorant opisał badania obejmujące reakcje redukcyjnego sprzęgania *N*-tosylohydrasonów oraz *H*-fosfonianowej pochodnej TADDOL-u w obecności jonów miedzi, prowadzące do powstania produktów zawierających wiązania P-C(sp<sup>3</sup>). Doktorantowi udało się zoptymalizować metodę otrzymywania odpowiednich

alkilofosfonianów pod względem wydajności reakcji, jednak próby otrzymywania produktów w sposób diastereoselektywny zakończyły się niepowodzeniem. Niemniej jednak hydrofosfonylowanie *N*-acylohydrazonów przy użyciu *H*-fosfonianowej pochodnej TADDOL-u (z konfiguracją *R,R*) pozwoliło na otrzymanie hydrazynoalkilofosfonianów z przyzwoitą wydajnością i w sposób wysoce diastereoselektywny.

Ogólnie, w tej części pracy nie znalazłem znaczących błędów i uchybień. Cel i zadania jakie zostały powierzone doktorantowi zostały całkowicie zrealizowane. W mojej ocenie ta część pracy została bardzo dobrze zaplanowana, opis prowadzonych eksperymentów jest logiczny i przejrzysty. W tym miejscu należy docenić nie tylko ogromny wkład pracy doświadczalnej, ale również wysoki poziom umiejętności analizowania i trafnego wyciągania wniosków z dużej ilości danych zaprezentowany przez autora pracy, co niewątpliwie miało znaczący wpływ na sukces i powodzenie zaplanowanych eksperymentów. W mojej opinii, zaprezentowane badania mają dużą wartość poznawczą i mogą stanowić dobry punkt wyjścia do rozwoju dalszych badań nad wykorzystaniem *H*-fosfonianowej pochodnej TADDOL-u w syntezie asymetrycznej.

Ostatni rozdział dysertacji, zatytułowany „Część *eksperymentalna*” zawiera spis wykorzystanych materiałów i odczynników, opracowanych procedur eksperymentalnych, jak również wymaganą charakterystykę spektralną otrzymywanych związków w tym analizę widm Magnetycznego Rezonansu Jądrowego <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, <sup>31</sup>P NMR, oraz HRMS. W mojej opinii ta część pracy została wykonana z należytą starannością, doktorant zastosował odpowiednie metody i narzędzia w celu analizy struktur związków chemicznych jak również monitorowania postępu prowadzonych reakcji. Nazewnictwo związków oraz terminologia nie budzą zastrzeżeń.

## Uwagi dyskusyjne i pytania

- 1) Strona 26, na Schemacie 13 autor pracy prezentuje reakcję pochodnej (*R,R*)-**29** z pochodną azanorboranu **52** prowadzącą do otrzymania  $\alpha$ -hydroksyalkilofosfonianu **53**. Reakcja ta pomimo wysokiego stopnia diastereoselektywności charakteryzowała się niskim poziomem konwersji wynoszącym ok 50% ze względu na niestabilność termiczną pochodnej (*R,R*)-**29**. Czy zdaniem autora stosowanie tego odczynnika w nadmiarze mogłoby wpłynąć na poprawę wydajności reakcji?
- 2) W części doświadczalnej doktorant optymalizował metody otrzymywania chiralnych produktów powstałych w reakcjach addycji *H*-fosfonianowej pochodnej TADDOL-u do wiązań wielokrotnych węgiel-heteroatom. W ramach tych eksperymentów testowano wpływ rozpuszczalników zarówno na stopień konwersji jak i stereoselektywność

reakcji. Czy doktorant podczas planowania eksperymentów rozważał również wykorzystanie bezrozpuszczalnikowych metod syntezy np. technik mechanochemicznych (w tym mielenia substratów w młynie kulowym)? Jak zdaniem doktoranta, przeprowadzenie reakcji w ten sposób mogłoby wpłynąć na efektywność prowadzonych syntez?

- 3) Rozdział 2.3. Autor dysertacji stwierdził, iż reakcje  $\alpha$ -*N*-acyloaminoalkilosulfonów z niechiralnymi *H*-fosfonianami zachodziły efektywnie dla szerokiej gamy substratów zawierających zarówno podstawniki o właściwościach elektronodonorowych oraz elektronoakceptorowych (Cl, F, CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, *i*Pr itd.). To stwierdzenie może błędnie wskazywać na wysoką tolerancję substratową ze względu na fakt, iż testowane grupy funkcyjne nie wykazują silnych efektów elektronowych. Czy w związku z tym były prowadzone eksperymenty z wykorzystaniem grup o charakterze silnie elektronodonorowym/elektronoakceptorowym (np. NO<sub>2</sub>, OCH<sub>3</sub> itp.)? Czy istnieje racjonalne wytłumaczenie spadku wydajności reakcji prowadzonych z wykorzystaniem alifatycznych  $\alpha$ -*N*-acyloaminoalkilosulfonów?
- 4) W rozdziale 2.4.3 doktorant opisał szereg eksperymentów udowadniających szerokie zastosowanie *H*-fosfonianowej pochodnej TADDOL-u jako skutecznego odczynnika do otrzymywania  $\alpha$ -*N*-acyloaminoalkilofosfonianów w reakcjach z odpowiednią pochodną sulfonową. Opracowana metoda okazała się wysoce diastereoselektywna w przypadku zastosowania różnorodnych podstawionych związków aromatycznych z wyjątkiem pochodnych heteroaromatycznych. Czy istnieje racjonalne wytłumaczenie tego zjawiska? Czy zastosowanie (S,S)-**29** również prowadziło do otrzymania produktu z niską diastereoselektywnością? W jaki sposób (technicznie) doktorant utrzymywał temperaturę mieszaniny reakcyjnej równą -78°C przez 4 dni?
- 5) Strona 160, Tabela 13. Jak jest uzasadnienie braku reaktywności w przypadku stosowania NEt<sub>3</sub> oraz chininy jako zasady (przykład 5 i 8) podczas syntezy alkilofosfonianów **247**? Zaskakującym jest również fakt, iż porównując przykłady 4 oraz 18 w Tabeli 13, reakcja zachodzi bardzo wydajnie w temperaturze 80°C a w 60°C nie zachodzi wcale.
- 6) Kilka drobnych błędów: strona 111 rozdział 2, drugi akapit- zdanie powinno być przeredagowane; strona 117 błąd oznaczenia „ $\alpha$ -aminophosphonate **207**”- powinno być **206**; Schemat 91- błąd w oznaczeniu struktury, powinno być **221f** zamiast **2217f**; Tabela 11 przykład 16 powinno być dr= 90:10 zamiast 9:10;

## Konkluzja

Reasumując, nie ulega wątpliwości, iż recenzowana rozprawa doktorska charakteryzuje się wysokim poziomem merytorycznym a przedstawione prace eksperymentalne wnoszą istotny wkład w rozwój badań podstawowych w obszarze syntez asymetrycznych. Tematyka recenzowanej pracy doktorskiej mgra Josepha Daniela Gbubele jest bardzo interesująca i ważna ze względu na bardzo wysokie zapotrzebowanie na skuteczne i nowoczesne metody syntez chiralnych cząsteczek w szczególności tych wykazujących aktywność biologiczną i mających potencjalne zastosowanie terapeutyczne. W mojej ocenie, część doświadczalna pracy oraz zakres przeprowadzonych badań zostały właściwie zaplanowane oraz wykonane, co doprowadziło do zrealizowania zakładanych celów rozprawy. Biorąc pod uwagę powyższe stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa spełnia ustawowe i zwyczajowe kryteria stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 187 ust. 1-2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2023 r poz. 742 z późn. zm.). W związku z tym, wnioskuję do Rady Dyscypliny Naukowej Nauk Chemicznych Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgra Josepha Daniela Gbubele do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

Ponadto, mając na względzie znaczący wkład uzyskanych przez doktoranta wyników na rozwój badań podstawowych w obszarze syntezy asymetrycznej, ogrom pracy eksperymentalnej wykonanej przez doktoranta jak również sposób jej opisanie i prezentacji, zwracam się także do Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy.

