

**Uniwersytet Humanistyczno – Przyrodniczy im.  
Jana Długosza w Częstochowie**  
**Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych**



mgr inż. Diana Rogacz

**Synteza i wstępna ocena ekotoksykologiczna wybranych  
C-tienylowych pochodnych fosfonoglicyny oraz C-arylowych  
pochodnych N-fosfonometylo-glicyny**

Synthesis and preliminary ecotoxicological assessment of selected *C*-thienyl  
phosphonoglycine derivatives and *C*-aryl derivatives of *N*-phosphonomethyl  
glycine

Rozprawa doktorska przygotowana w Katedrze Biochemii,  
Biotechnologii i Ekotoksykologii, Uniwersytetu  
Humanistyczno-Przyrodniczego im. Jana Długosza  
w Częstochowie

Promotor: **dr hab. Piotr Rychter prof. UJD**

Promotor pomocniczy: **dr Zbigniew Malinowski**

Częstochowa 2023

**Praca częściowo finansowana ze środków Narodowego Centrum  
Nauki w wyniku realizacji projektu badawczego PRELUDIUM 14,  
o nr 2017/27/N/NZ9/02221, w latach 2018-2022  
„Synteza niektórych pochodnych *N*-fosfonometyloglicyny oraz  
badanie ich ekotoksyczności”**

# PODZIĘKOWANIA

*Składam najserdeczniejsze podziękowania wszystkim osobom, które przyczyniły się do powstania tej pracy, a także wyrażam ogromną wdzięczność za okazaną pomoc w trakcie jej realizacji, a w szczególności:*

- *mojemu promotorowi **dr hab. Piotrowi Rychterowi prof. UJD**, za wieloletnią współpracę, opiekę naukową, czas, cenne uwagi w trakcie realizacji niniejszej pracy doktorskiej, a przede wszystkim cierpliwość,*
- *mojemu promotorowi pomocniczemu, **dr Zbigniewowi Malinowskiemu** (Wydział Chemii, Uniwersytet Łódzki), za niezastąpioną pomoc podczas realizacji badań naukowych i pisanie rozprawy doktorskiej oraz motywację do jej ukończenia,*
- ***prof. Józefowi Drabowiczowi** (Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych UJD w Częstochowie), za wiarę w powstanie tej pracy, zaoferowaną pomoc, cenne wskazówki i życzliwość,*
- ***Koleżankom i Kolegom:** z Wydziału Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych UJD, z Wydziału Nauk o Zdrowiu UJD oraz Wydziału Chemii UŁ, za pomoc, miłą i życzliwą atmosferę,*
- *moim **Najbliższym**, za nieustającą wiarę i wsparcie, okazaną cierpliwość i wyrozumiałość,*

*...a także, specjalne podziękowania dla **Ś. P. Prof. Jarosława Lewkowskiego**, za współpracę i całą udzieloną mi pomoc podczas tworzenia tematyki mojej pracy doktorskiej, a przede wszystkim za wspólnie spędzony czas, którego było za mało...*

# SPIS TREŚCI

<b>STRESZCZENIE</b> .....	<b>7</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>9</b>
<b>WPROWADZENIE</b> .....	<b>11</b>
<b>CZEŚĆ LITERATUROWA</b> .....	<b>16</b>
1.1. Substancje aminofosfonowe .....	<b>17</b>
1.2. Wybrane metody otrzymywania aminofosfonianów .....	<b>19</b>
1.2.1. Reakcja Kabachnika – Fieldsa .....	<b>19</b>
1.2.2. Reakcja aza – Pudovika .....	<b>21</b>
1.2.3. Procesy katalityczne, jako podejście ekologiczne .....	<b>21</b>
1.2.3.1. Reakcje Pudovika w obecności katalizatorów i rozpuszczalników .....	<b>22</b>
1.2.3.2. Reakcje Kabachnika - Fieldsa w obecności katalizatorów i rozpuszczalników .....	<b>23</b>
1.2.3.3. Reakcje Kabachnika - Fieldsa w obecności katalizatorów w warunkach bezrozpuszczalnikowych .....	<b>24</b>
1.2.4. Ultrasonifikacja, jako metoda ekologiczna .....	<b>28</b>
1.2.4.1. Wpływ ultradźwięków na przebieg reakcji Pudovika .....	<b>29</b>
1.2.4.2. Reakcje Kabachnika - Fieldsa a wpływ ultradźwięków .....	<b>30</b>
1.2.5. Synteza aminofosfonianów wspomagana promieniowaniem mikrofalowym ....	<b>32</b>
1.2.5.1. Reakcje Pudovika a wpływ promieniowania mikrofalowego .....	<b>33</b>
1.2.5.2. Reakcje Kabachnika-Fieldsa pod wpływem promieniowania mikrofalowego .....	<b>34</b>
1.2.6. Wykorzystanie młyna kulowego .....	<b>38</b>
1.2.7. Reakcja Hirao, jako efektywna strategia syntezy pochodnych kwasów fosfonowych .....	<b>39</b>
1.3. Właściwości biologiczne aminofosfonianów .....	<b>42</b>
1.4. Środki ochrony roślin .....	<b>47</b>
1.4.1. Herbicydy i sposoby ich klasyfikacji .....	<b>48</b>
1.4.2. Herbicydy aminofosfonowe – glifosat .....	<b>55</b>
1.4.3. Herbicydy siarkowe .....	<b>61</b>
<b>CEL I ZAKRES PRACY</b> .....	<b>66</b>
2.1. Cel i tezy pracy .....	<b>67</b>

2.2. Zakres pracy .....	68
<b>CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA .....</b>	<b>69</b>
3.1. Materiały wykorzystywane w pracy.....	70
3.1.1. Materiały dotyczące części chemicznej .....	70
3.1.2. Materiały wykorzystane w części biologicznej .....	71
3.2. Metody wykorzystywane w pracy.....	75
3.2.1. Część chemiczna.....	75
3.2.1.1. Metody fizykochemiczne wykorzystywane do charakterystyki aminofosfonianów .....	75
3.2.2. Część biologiczna .....	78
<b>OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja .....</b>	<b>85</b>
4.1. Synteza aminofosfonianów, pochodnych tiofeno- 2- karboaldehydu 5-7 .....	86
4.2. Badania fitotoksyczności aminofosfonianów 5-7, 16, 17.....	104
4.2.1. Wpływ aminofosfonianów na wysokość pędu, długość korzeni i świeżą masę badanych roślin z uwzględnieniem wartości EC <sub>50</sub> , jako wskaźnika stopnia oddziaływania aminofosfonianów na rośliny .....	104
4.2.1.1. Aminofosfoniany dimetylowe 5 a-i .....	106
4.2.1.2. Aminofosfoniany difenyłowe 6 a-f i aminofosfonian dibenzylowy 7 .....	114
4.2.1.3. <i>N</i> -fosfonometylo pochodne glicyny 16 a-g, 17.....	119
4.2.2. Wpływ aminofosfonianów na zmiany wartości NOEC i LOEC .....	121
4.2.2.1. Aminofosfoniany dimetylowe 5 a-i .....	122
4.2.2.2. Aminofosfoniany difenyłowe 6 a-f i aminofosfonian dibenzylowy 7 .....	123
4.2.2.3. <i>N</i> -fosfonometylo pochodne glicyny 16 a-g, 17 .....	124
4.2.3. Wpływ aminofosfonianów na zawartość suchej masy.....	125
4.2.4. Wpływ aminofosfonianów na kiełkowanie roślin.....	127
4.2.5. Wpływ aminofosfonianów na barwniki asymilacyjne .....	128
4.2.5.1. Aminofosfoniany dimetylowe 5 a-i .....	129
4.2.5.2. Aminofosfoniany difenyłowe 6 a-f i aminofosfonian dibenzylowy 7 .....	131
4.2.5.3. <i>N</i> -fosfonometylo pochodne glicyny 16 a-g, 17 .....	133
4.3. Ocena właściwości herbicydowych aminofosfonianów 5 a-i, 6 a-f, 7,16 a-h,17 .....	135
4.3.1. Ocena aktywności chwastobójczej w oparciu o skalę EWRC.....	135
4.3.1.1. Aminofosfoniany dimetylowe 5 a-i .....	136
4.3.1.2. Aminofosfoniany difenyłowe 6 a-f i aminofosfonian dibenzylowy 7 .....	139
4.3.1.3. <i>N</i> -fosfonometylo pochodne glicyny 16 a-g, 17 .....	142
4.4. Ocena ekotoksyczności aminofosfonianów z wykorzystaniem biotestów .....	145
4.4.1. Oznaczanie toksyczności ostrej – Microtox .....	145

4.4.1.1. Aminofosfoniany dimetylowe 5 a-i .....	146
4.4.1.2. Aminofosfoniany difenylowe 6 a-f i aminofosfonian dibenzylowy 7 .....	149
4.4.1.3. <i>N</i> -fosfonometylo pochodne glicyny 16 a-g, 17 .....	151
4.4.2. Oznaczanie toksyczności chronicznej – Ostracodotxkit F .....	153
4.4.2.1. Aminofosfoniany dimetylowe 5 a-i .....	153
4.4.2.2. Aminofosfoniany difenylowe 6 a-f i aminofosfonian dibenzylowy 7 .....	155
4.4.2.3. <i>N</i> -fosfonometylo pochodne glicyny 16 a-g, 17 .....	157
<b>PODSUMOWANIE I WNIOSKI .....</b>	<b>161</b>
<b>SPIS SCHEMATÓW, TABEL I RYSUNKÓW .....</b>	<b>168</b>
<b>DOROBEK NAUKOWY .....</b>	<b>176</b>
<b>LITERATURA CYTOWANA .....</b>	<b>188</b>

# STRESZCZENIE

Wzrost populacji światowej, zmieniające się preferencje żywieniowe i potrzeba zwiększenia wydajności produkcji rolnej stawiają przed rolnictwem wyzwania zaspokojenia popytu na wysokiej jakości żywność. Stosowanie agrochemikaliów do osiągnięcia tego celu, ma swoje korzyści, jednak wiąże się również z pewnymi wyzwaniami i negatywnymi skutkami.

Powszechnie wiadomo, że pochodne aminofosfonowe wykazują silne działanie herbicydowe względem roślin wyższych. Fosfonowe analogi fenyloglicyny wykazują interesującą aktywność chwastobójczą i są stosowane, jako regulatory wzrostu roślin lub fungicydy, w związku z czym, metody ich produkcji są nadal intensywnie rozwijane. Również herbicydy, mające w swojej strukturze atom siarki, stanowią skuteczne narzędzie do walki z popularnymi chwastami. Dlatego celem niniejszej rozprawy doktorskiej była synteza *C*-tienylo podstawionych pochodnych fosfonglicyny oraz wybranych *C*-arylowych pochodnych *N*-fosfonometyloglicyny (glifosatu), a także estrów dialkylowych i diarylowych, pochodnych kwasów aminofosfonowych, które zawierają w swojej strukturze heteroaromatyczny układ tiofenu oraz wstępna ocena ekotoksykologiczna wszystkich otrzymanych związków.

Kierując się tym założeniem, zsyntezowano na drodze reakcji aza-Pudovika grupę dimetylowych i difenylowych pochodnych tiofeno-2-karboaldehydu zawierających podstawniki *N*-(metylofenylowe) lub *N*-(metoksyfenylowe), w których grupy metylowe i metoksylowe były położone w pozycjach *orto*-, *meta*- lub *para*- pierścienia benzenowego; grupę dimetylowych pochodnych tiofeno-2-karboaldehydu, podstawionych grupami: benzylową, *tert*-butylową i benzhydrylową (difenylo-metylową), a także dibenzylową pochodną z podstawnikiem furfurylowym. Następnie sprawdzono wpływ tych pochodnych wraz zsyntezowanymi już wcześniej pochodnymi *N*-fosfonometyloglicynowymi, na organizmy, stanowiące poszczególne szczeble drabiny troficznej.

W literaturowej części rozprawy przedstawiono istotę substancji aminofosfonowych, wybrane metody otrzymywania aminofosfonianów, a także możliwości ich wykorzystania, jako środków ochrony roślin, ze szczególnym uwzględnieniem glifosatu. Opisano również herbicydy siarkowe, jako skuteczne narzędzie do walki z chwastami. Natomiast część doświadczalna zawiera cel i koncepcję rozprawy doktorskiej, zestawienie wszystkich

materiałów zastosowanych w pracy badawczej, technik oraz metod stosowanych w trakcie charakterystyki otrzymanych związków. Część ta, zawiera również opis procesów syntezy poszczególnych grup aminofosfonianów oraz ich charakterystykę, wyniki badań, opisujące wpływ pochodnych aminofosfonowych na rośliny uprawne w badaniach fitotoksyczności, ocenę ich właściwości herbicydowych wobec popularnych chwastów oraz ocenę ekotoksykologiczną z użyciem biotestów na organizmach wodnych, z różnych poziomów troficznych - bakterii *Allivibrio fischeri* (Microtox Test), jako przedstawiciela wód morskich, oraz skorupiaków *Heterocypris incongruens* (Ostarcodtoxkit Test), jako reprezentanta wód słodkich.

Na podstawie wyników badań własnych stwierdzono, że część spośród zsyntezowanych pochodnych aminofosfonowych charakteryzuje się niską fitotoksycznością wobec roślin uprawnych (badane w ramach pracy: rzodkiewka i owies), posiadając jednocześnie właściwości chwastobójcze, co wskazuje je, jako potencjalne substancje czynne w preparatach herbicydowych. Ich selektywne działanie, daje potencjalne możliwości zastosowań tego rodzaju związków, jako herbicydów przy uprawie roślin jednoliściennych. Spośród przebadanych aminofosfonianów, wybrane związki wykazały niską szkodliwość wobec testowanych organizmów wodnych, co przy braku ich fitotoksyczności i skuteczności działania chwastobójczego, stwarza potencjalne możliwości aplikacyjne w obszarze agrochemii.



# SUMMARY

The growth of the world's population, changing food preferences and the need to increase agricultural productivity are challenging agriculture to meet the demand for quality food. While the use of agrochemicals to achieve this goal, has its benefits, it also comes with some challenges and negative impacts.

It is well known that aminophosphonic derivatives exhibit strong herbicidal activity against higher plants. Phosphonate analogues of phenylglycine show interesting herbicidal activity and are used, either as plant growth regulators or fungicides, and therefore, methods for their production are still being intensively developed. Also herbicides, which have a sulphur atom in their structure, are an effective tool against common weeds. Therefore, the aim of this dissertation was to synthesise *C*-thienyl substituted derivatives of phosphonoglycine and selected *C*-aryl derivatives of *N*-phosphonomethylglycine (glyphosate), as well as dialkyl and diaryl esters, derivatives of aminophosphonic acids, which contain in their structure a heteroaromatic thiophene system, and a preliminary ecotoxicological assessment of all compounds obtained.

Following this approach, a group of dimethyl and diphenyl thiophene-2-carbaldehyde derivatives containing various *N*-methyl or methoxyphenyl substituents, in which the methyl and methoxy groups were substituted to the benzene ring in the *ortho*-, *meta*- or *para*- position. Group of dimethyl thiophene-2-carbaldehyde derivatives substituted with: benzyl, *tert*-butyl and benzhydryl (diphenylmethyl), as well as a dibenzyl derivative with a furfuryl substituent. Their ecotoxicological impact and already synthesised *N*-phosphonomethylglycine aminofosfonates on organisms from various levels of trophic chain was evaluated.

The literature part of the dissertation demonstrated the most important biology and environmental aspects the essence of aminophosphonic substances, methods of their synthesis, application possibilities, as plant protection agents. Sulphur based herbicides are also described as an effective substances for weed control.

Experimental part, contains the aim, scope and concept of the dissertation, as well as description of all materials and chemicals used in the research work, methods of synthesis and techniques used for the characterisation of the obtained compounds.

Further experimental part describes effects of aminophosphonate derivatives on crop plants using phytotoxicity tests, an evaluation of their herbicidal properties against common

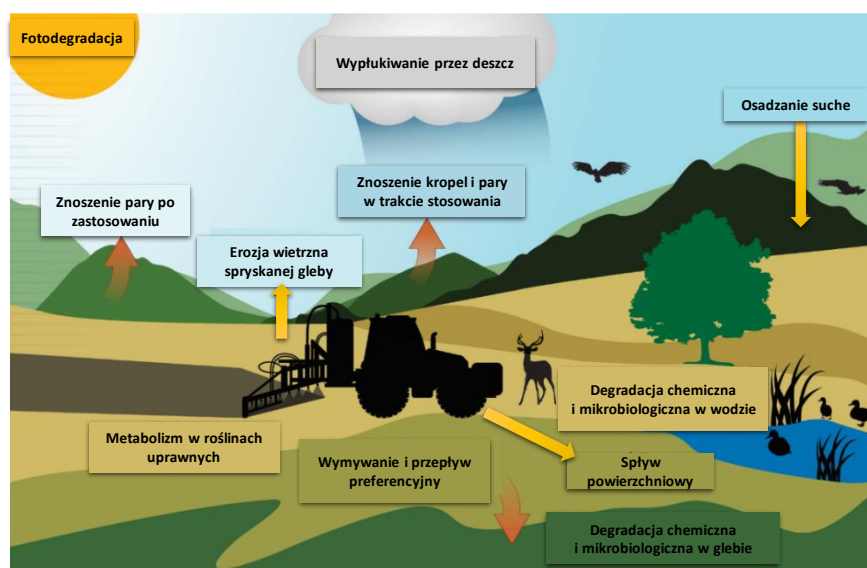
weeds, and an ecotoxicological assessment on aquatic organisms from different trophic levels using bioassays test. The bacterium *Allivibrio fischeri* was choosed representative of marine waters, and the crustacean *Heterocypris incongruens*, as a representative of fresh waters.

On the basis of obtained, it was found that some of the synthesised aminophosponium derivatives demonstrate low phytotoxicity against crop plants (radish and oat), with simultaneously effective herbicidal properties, pointing out them as potential active agents in herbicidal formulations. Their selective activity, gives potential for the use of such compounds as herbicides in the cultivation of monocotyledonous crops. Among the tested aminophosponates, some of them demonstrated low harmfulness on aquatic organisms and plants, keeping at the same time relatively high efficiency, create them for the potential application possibilities in the field of agrochemistry.

# **WPROWADZENIE**

Współczesna agrochemia, to dziedzina nauki zajmująca się „stosowaniem chemii w rolnictwie”. Obejmuje ona zastosowanie chemicznych środków ochrony roślin, nawozów i innych produktów chemicznych w celu zwiększenia wydajności i jakości produkcji rolnej, koncentrując się na opracowywaniu bezpiecznych i skutecznych produktów, które minimalizują negatywny wpływ na środowisko i zdrowie ludzi. Wykorzystując wyniki zaawansowanych badań z dziedziny chemii i biotechnologii, oferuje szeroką gamę nowoczesnych i efektywnych rozwiązań dla rolnictwa [1].

Aktualnie stosowane, chemiczne środki ochrony roślin to produkty chemiczne, używane w celu ochrony upraw przed chorobami, szkodnikami i innymi czynnikami negatywnie wpływającymi na ich plony. Środki te, dostępne są w różnych formach, takich jak np. opryski, granulki i proszki, obejmując szeroką gamę substancji aktywnych, takich jak insektycydy, fungicydy czy herbicydy. Niewłaściwe stosowanie tych substancji, polegające np. na ich nadmiernej aplikacji, może prowadzić do wystąpienia poważnych konsekwencji. Jedną z nich jest spływ z pól uprawnych do wód powierzchniowych poprzez erozję gleby lub wodę opadową, powodując zakwit sinic, utratę różnorodności biologicznej, poprzez toksyczność wobec organizmów wodnych, wpływ na ich procesy fizjologiczne, wzrost, rozmnażanie i przeżycie (Rys. 1).



**Rysunek 1.** Wpływ środków ochrony roślin na środowisko [2].

Stosowanie herbicydów, w sposób nieodpowiedni, może prowadzić do nieselektywnego wyniszczania roślin, a nadużywanie lub stosowanie tych samych herbicydów bez rotacji, może prowadzić do rozwoju oporności u chwastów, co utrudni ich kontrolę w przyszłości. Również niewłaściwie przechowywanie i stosowanie herbicydów

może mieć potencjalne skutki zdrowotne dla ludzi, na skutek bezpośredniego kontaktu z herbicydami lub spożycie żywności nimi zanieczyszczonej. Ich stosowanie wymaga zatem, starannego planowania i kontroli, aby zapewnić skuteczną ochronę upraw i jednocześnie ograniczyć negatywny wpływ na środowisko i zdrowie. Wciąż popularne i zarejestrowane przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, są środki chwastobójcze, oparte o aminofosfoniany np. glifosat, oraz substancje, które zawierają w swoim składzie atom siarki np. Metribuzin. *N*-fosfonometyloglicyna (glifosat), należąca do grupy aminofosfonianów jest jedną z najbardziej kontrowersyjnych substancji aktywnych, która z uwagi na swoje toksyczne oddziaływanie budzi zastrzeżenia wielu organizacji ekologicznych na całym świecie. Od czasu wprowadzenia glifosatu na rynek w latach 70-tych ubiegłego wieku, znalazł on szerokie zastosowanie, zwłaszcza do ochrony roślin genetycznie zmodyfikowanych, odpornych na jego działanie. Chociaż jest uważany za skuteczny i bezpieczny w stosowaniu, w ciągu ostatnich lat pojawiły się doniesienia i badania sugerujące jego potencjalną toksyczność. Niektóre z nich, sugerują potencjalne związki między glifosatem a różnymi schorzeniami, takimi jak rak, problemy hormonalne, uszkodzenia wątroby, zaburzenia rozwoju i problemy zdrowotne u pszczoł i innych organizmów. Jednak wyniki tych badań są często sprzeczne, a interpretacja danych jest trudna z powodu złożoności i różnorodności metod badawczych. Ostatecznie, debata na temat wpływu glifosatu na środowisko i zdrowie ludzi wciąż trwa i jednoznaczna ocena jego wpływu wymaga dalszych badań. W związku z doniesieniami o toksyczności glifosatu, niektóre kraje wprowadziły ograniczenia lub zakazy jego stosowania. Na przykład, w niektórych państwach członkowskich Unii Europejskiej wprowadzono zakaz stosowania glifosatu w rolnictwie. Inne kraje, takie jak Kanada, Australia i Stany Zjednoczone, utrzymują nadal dopuszczalność stosowania glifosatu, ale mogą wprowadzać dodatkowe regulacje i ograniczenia. W związku z tymi doniesieniami, istnieje pilna potrzeba wprowadzania nowych herbicydów, mających różne mechanizmy działania. Może to pomóc w zwalczaniu odporności chwastów i utrzymaniu skuteczności kontrolnej, jak i umożliwić bardziej precyzyjne działanie na konkretne gatunki chwastów lub etapy ich rozwoju. Poszukiwanie i wprowadzanie nowych substancji aktywnych, może ograniczyć skutki uboczne dla upraw i innych organizmów, a także minimalizować ryzyko toksyczności dla ludzi, zwierząt i środowiska naturalnego. Jest to możliwe dzięki nowym metodom syntezy, bądź modyfikacji już opublikowanych procedur, dalszym badaniom naukowym oraz postępowi technologicznemu, syntezując bardziej selektywne i bezpieczne substancje chemiczne. Tego wielowymiarowe działanie, jest wyjściem naprzeciw rosnącemu

zainteresowaniu nowoczesnym, prowadzonym zgodnie z zasadami ochrony środowiska rolnictwem. Nowe substancje aktywne, o działaniu herbicydowym są również odpowiedzią na zmieniające się warunki uprawy, takie jak pojawienie się nowych gatunków chwastów, zmiany w praktykach rolniczych, rozwój nowych odmian uprawnych itp. Przy wprowadzaniu nowych herbicydów istotne jest przeprowadzanie badań dotyczących ich skuteczności, bezpieczeństwa i wpływu na środowisko przed ich użyciem w praktyce. Regulacje i procedury oceny ryzyka pomagają zapewnić, że wprowadzane herbicydy są skuteczne i bezpieczne dla użytkowników, środowiska i konsumentów [3].

Aminofosfoniany są grupą związków chemicznych, które wykazują różne właściwości. Są z powodzeniem wykorzystywane, jako środki ochrony roślin, wykazują również silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe, cytotoksyczne, przeciwgrzybicze, a nawet przeciwwirusowe [4, 5]. Z uwagi na ich biologiczną aktywność i znaczenie, w ramach pracy podjęto próby syntezy nowych pochodnych aminofosfonowych, zawierających w swoim składzie atom siarki, w postaci pierścienia tiofenowego. Mając na uwadze zrównoważony rozwój środowiska naturalnego, planując syntezę nowych pochodnych aminofosfonianowych skoncentrowano się na stosunkowo łatwej i efektywnej drodze ich otrzymywania z minimalizowaniem ilości etapów, ograniczając tym samym kosztocłonność wydzielenia poszczególnych produktów. Istotne było również uzyskanie odpowiednio dużych ilości tych związków, w celu przeprowadzenia planowanych badań biologicznych. Główną tezą pracy było również zsyntezowanie takich pochodnych aminofosfonowych, które wykazywać się będą niższą fitotoksycznością wobec roślin uprawnych, w porównaniu do klasycznych środków ochrony roślin, przy zachowaniu efektywnego działania chwastobójczego tj. selektywnością wobec roślin dwuliściennych i możliwie jak najniższą fitotoksycznością wobec roślin jednościennych. W związku z tym, że nie znano możliwego, ekotoksycznego wpływu tych pochodnych na środowisko, dokonano ich oceny, stosując żywe organizmy, jako bioindykatory należące do różnych grup taksonomicznych, reprezentujących wszystkie grupy troficzne: producenci, konsumenci, reducenty, co pozwoliło na kompleksową ocenę wpływu pochodnych aminofosfonowych na środowisko i porównanie ich do skuteczności, jako potencjalnego środka chwastobójczego. W związku z tym, badania ekotoksykologiczne w ramach pracy, przeprowadzono na roślinach, bakteriach słonowodnych *A. fischeri* i skorupiakach słodkowodnych *H. incongruens*.

Aminofosfoniany, uzyskane w toku badań własnych zsyntezowano na drodze reakcji aza-Pudovika, wykazują określone właściwości herbicydowe, co ma istotne znaczenie

w kontekście ochrony upraw i środowiska naturalnego. Niektóre z nich wykazują selektywną fitotoksyczność, co oznacza, że skutecznie zwalczają chwasty dwuliścienne, bez znaczącego wpływu na rośliny uprawne. Taka selektywność jest istotna, ponieważ pozwala na skuteczne usuwanie konkurencyjnych chwastów, jednocześnie minimalizując negatywne skutki dla upraw rolnych. Z kolei niska fitotoksyczność wobec roślin jednoliściennych, takich jak zboża (np. owies), oznacza, że stosowanie tych herbicydów nie powoduje znaczących szkód dla tych roślin, co jest istotne z punktu widzenia produkcji rolnej. Niska ekotoksyczność wobec środowiska naturalnego, którą cechują się nowo syntezowane aminofosfoniany jest w tym przypadku zgodna z obecnymi dążeniami do rozwoju i stosowania zrównoważonych metod ochrony roślin, które minimalizują negatywny wpływ na środowisko naturalne. Niemniej jednak, w przypadku konkretnych pochodnych aminofosfonowych, konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań, weryfikacja i ocena ich skuteczności, bezpieczeństwa oraz wpływu na różne aspekty środowiska naturalnego przed pełnieniem ich zakładanej funkcji.

# **CZĘŚĆ LITERATUROWA**



## 1.1. Substancje aminofosfonowe

W ostatnim dziesięcioleciu związki fosforoorganiczne i ich pochodne cieszą się dużym zainteresowaniem ze względu na ich właściwości biologiczne i farmakologiczne, możliwość zastosowania w chemii rolnej i medycznej, a dodatkowo także przydatność, jako półproduktów syntetycznych [6, 7].

Są wśród nich niektóre  $\alpha$ -aminofosfoniany i odpowiadające im kwasy  $\alpha$ -aminofosfonowe, wykazujące szereg aktywności farmakologicznych, pozwalających na ich wykorzystanie, jako antybiotyki, środki przeciwnowotworowe, inhibitory enzymów, mimetyki peptydowe, przeciwutleniacze, środki przeciwwirusowe, przeciwzakrzepowe oraz przeciwzapalne. Istnieje również wiele doniesień literaturowych, mówiących o wykorzystaniu aminofosfonianów w agrochemii. Badania toksyczności związków, będących pochodnymi kwasu  $\alpha$ -aminofosfonowego, wykazały ich aktywność chwastobójczą. Przykładem najpopularniejszego herbicydu aminofosfonowego, służącego do zwalczania praktycznie wszystkich uciążliwych chwastów jest glifosat (*N*-fosfonometyloglicyna). Wykazał również dla układów tego typu działanie przeciwgrzybicze m.in. wobec grzybów *Aspergillus Niger*, a także przeciwbakteryjne np. wobec *Escherichia coli*, czy *Staphylococcus aureus*. [8, 9].

Substancje aminofosfonowe stosowane są również, jako ligandy w katalizie metalami przejściowymi i organokatalizie. Mają zdolność do tworzenia kompleksów z jonami metali, co jest szczególnie przydatne w procesach usuwania metali ciężkich z wód ściekowych oraz w przemyśle chemicznym. Ze względu na swoje właściwości chelatujące i inhibicyjne, aminofosfoniany znajdują szerokie zastosowanie w przemyśle chemicznym, petrochemicznym, energetycznym i w przemyśle wodnym. Mogą być stosowane, jako składniki środków antykorozyjnych, substancji do uzdatniania wody, środków pomocniczych w produkcji nawozów i spulchniających w produkcji tworzyw sztucznych. Ponieważ substancje aminofosfonowe stanowią ważną klasę związków biologicznie czynnych, ich synteza jest przedmiotem zainteresowania w syntetycznej chemii organicznej, w chemii medycznej i agrochemii [10].

Aminofosfoniany posiadają charakterystyczne ugrupowanie C-H-P, co daje im wiele możliwości strukturalnych modyfikacji. Chociaż struktury kwasu fosfonowego

i karboksylowego różnią się znacznie pod względem kształtu, wielkości i kwasowości, to kwasy aminofosfonowe uważa się za strukturalne analogi odpowiednich aminokwasów, w budowie, których, grupę karboksylową zastąpiono resztą kwasu fosfonowego. Zastąpienie grupy  $-\text{COOH}$ , funkcją  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$  ma szereg konsekwencji, wpływających na właściwości substancji. Jedną z nich jest występowanie w cząsteczce dodatkowej grupy podstawnikowej (grupa hydroksylowa). Ważną cechą jest również różnica w kształcie pomiędzy tetraedryczną grupą  $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$  a grupą karboksylową z atomem węgla o hybrydyzacji  $\text{sp}^2$ . Istnieją także znaczące różnice w kwasowości i zajmowanej objętości w przestrzeni [11]. Z uwagi na sposób działania - jako antagonistów aminokwasów, wpływają hamująco na aktywności takich enzymów jak: reniny, syntazy, proteazy HIV czy białkowej fosfatazy tyrozynowej, w efekcie oddziałując na fizjologiczną aktywność komórki [12, 13].

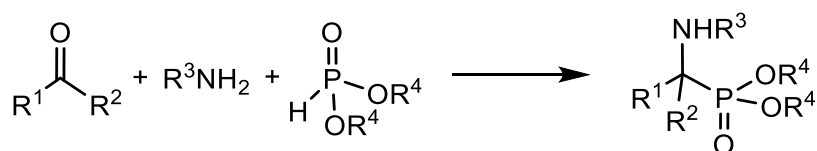
Aminofosfoniany stanowią więc ważną klasę związków fosforoorganicznych, również ze względu na niską toksyczność tych związków dla ssaków. Sprawia to, że znajdują one szerokie zastosowanie w rolnictwie i medycynie. Substancje te, posiadają działanie przeciwgrzybicze, pestycydowe, regulujące wzrost roślin, a także chwastobójcze, co jest szczególnie istotne z punktu widzenia agrochemii- najczęściej stosowanym aminofosfonianem jest glifosat.

## 1.2. Wybrane metody otrzymywania aminofosfonianów

Synteza kwasów aminofosfonowych i ich pochodnych, jest ciągle aktywnym obszarem badań. Otrzymywanie nowych aminofosfonianów pozwala na badanie ich struktury i właściwości chemicznych. Poprzez wprowadzanie różnych grup funkcyjnych do struktury aminofosfonianów, można badać wpływ tych modyfikacji na ich właściwości, takie jak rozpuszczalność, stabilność czy zdolność do tworzenia kompleksów. Umożliwia to lepsze zrozumienie zależności pomiędzy strukturą a aktywnością związków i może prowadzić do odkrywania nowych zastosowań tych związków. Również poprzez modyfikację struktury aminofosfonianów, można dążyć do uzyskania substancji o lepszych właściwościach np. biologicznych. Może to prowadzić do opracowywania nowych leków czy innych materiałów o specjalnych właściwościach. Warto zauważyć, że wybór metody otrzymywania aminofosfonianów zależy od konkretnego związku oraz od dostępności substratów oraz warunków reakcji. Większość opisanych w literaturze procedur syntezy aminofosfonianów opiera się na reakcjach: Michaelisa-Arbuzova i Michaelisa-Beckera, Kabachnika-Fieldsa i Pudovika, reakcji Biruma [14, 15].

### 1.2.1. Reakcja Kabachnika – Fieldsa

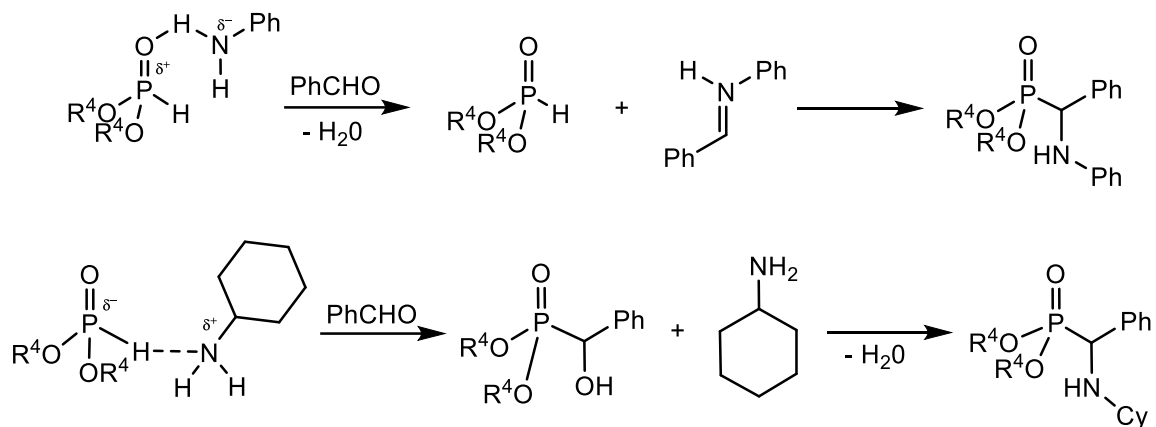
Jedną z głównych metod otrzymania estrów kwasów aminofosfonowych to trójskładnikowa reakcja Kabachnika–Fieldsa [16]. Synteza polega na reakcji odpowiedniego aldehydu, aminy oraz *H*-fosfonianu dialkylowego. Reakcja generalnie cechuje się wysoką wydajnością (Schemat 1a) [17].



**Schemat 1a.** Ogólny schemat reakcji Kabachnika–Fieldsa [17].

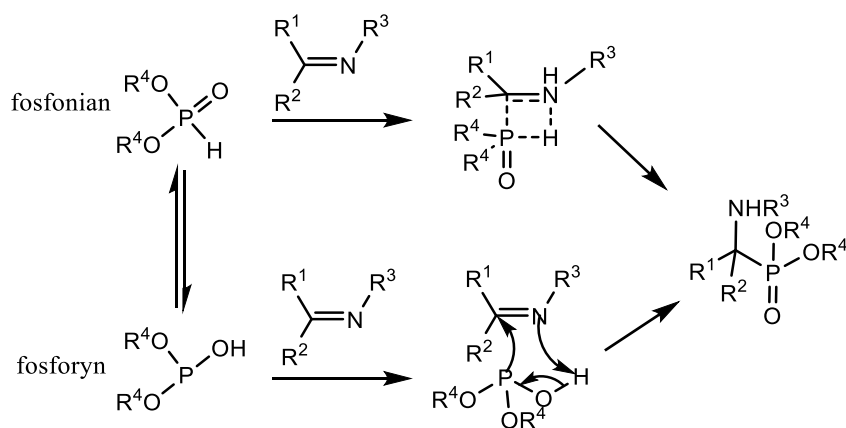
Natomiast jej mechanizm, zależy przede wszystkim od użytych reagentów. Poszerzone badania reakcji Kabachnika–Fieldsa, pozwoliły na jej prowadzenie nawet z wymagającymi

sterycznie materiałami wyjściowymi. Zaproponowano dwa podstawowe mechanizmy tej przemiany, zgodnie, z którymi amina i *H*-fosfonian tworzą kompleks, w którym każdy z substratów może reagować ze związkiem karbonylowym. Często zasadowość aminy decyduje o przebiegu reakcji. Słabo zasadowe aminy jak np. aniliny, mogą działać jako donory protonów, sprzyjając tworzeniu iminy, natomiast alkiloaminy jak np. cykloheksyloaminy, nie tworzą imin (Schemat 1b).



**Schemat 1b.** Reakcja Kabachnika-Fieldsa – możliwe mechanizmy [17].

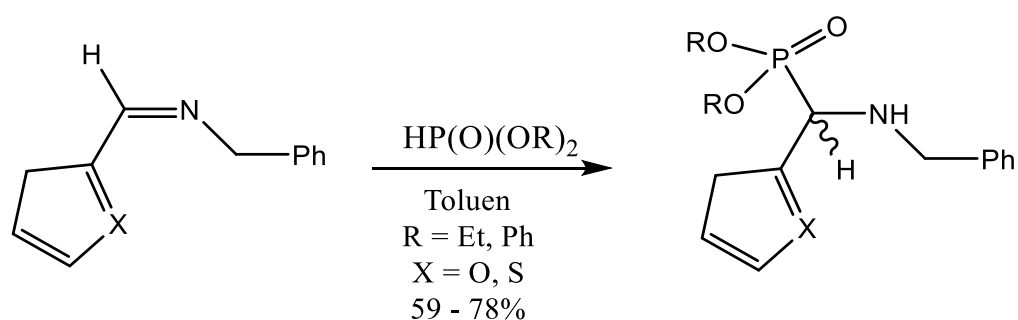
W przypadku zastosowania dodatkowych katalizatorów, zarówno kwasy jak i zasady mogą mieć pozytywny wpływ na szybkość reakcji. Niekiedy wydajność tworzenia  $\alpha$ -amino fosfonianów jest wyższa z zastosowaniem wcześniej przygotowanych imin. W tym przypadku, ze względu na tautomerię *H*-fosfonian  $\rightleftharpoons$  fosforyn, addycja do iminy może zachodzić przez cztero- lub pięcioczłonowy stan przejściowy (Schemat 1c).



**Schemat 1c.** Modyfikacja reakcji Kabachnika-Fieldsa [17].

### 1.2.2. Reakcja aza – Pudovika

Reakcja aza - Pudovika jest w pewnym stopniu modyfikacją reakcji Kabachnika-Fieldsa, biorąc pod uwagę najbardziej prawdopodobny mechanizm przebiegu tej reakcji. Powstające *in situ* zasady Schiffa poddaje się reakcji z odpowiednim *H*-fosfonianem. Na przykład reakcja pomiędzy iminą otrzymaną z benzyloaminy (Schemat 2), a *H*-fosfonianem dietylu przebiega z zadowalającymi rezultatami w toluenie, w temperaturze 110°C [18]. Zmiana fosfonianu na difenyłowy, umożliwi przebieg reakcji nawet w temperaturze pokojowej. Produktem są estry difenyłowe, a reakcja zachodzi z dużą wydajnością [10].



**Schemat 2.** Reakcja aza – Pudovika [18].

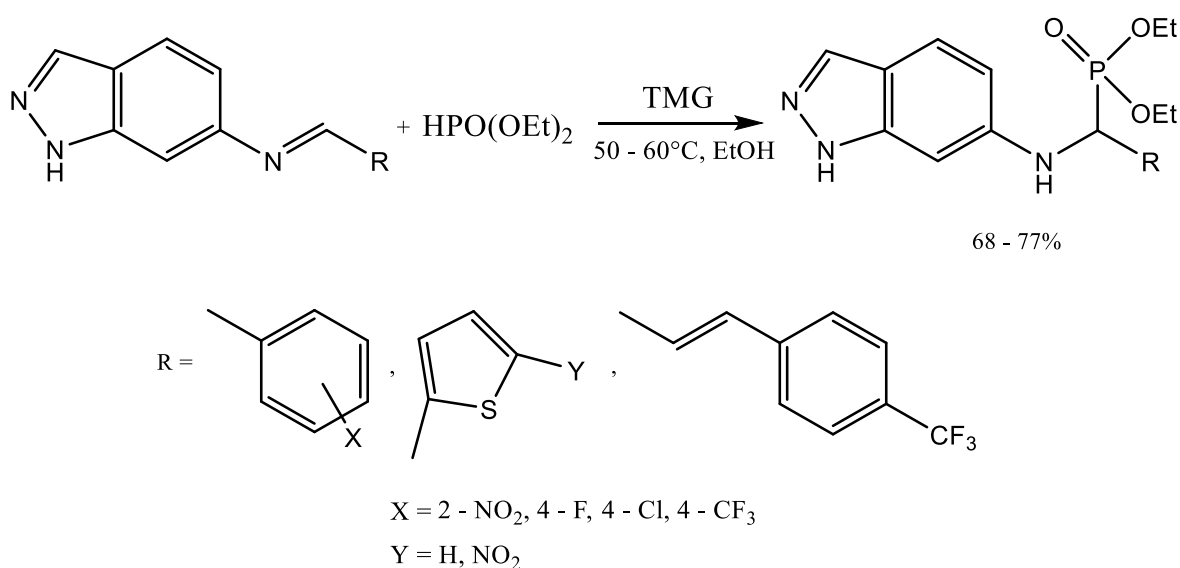
Zarówno reakcje Kabachnika-Fieldsa, jak i reakcje aza-Pudovika można prowadzić w obecności różnych katalizatorów, dodatku odpowiedniego rozpuszczalnika, a także z wykorzystaniem promieniowania mikrofalowego, ultradźwięków lub ogrzewania [20].

### 1.2.3. Procesy katalityczne, jako podejście ekologiczne

Zastosowanie katalizatorów jest jednym z filarów zielonej chemii i ma ogromny wkład w syntezę organiczną. Optymalizacja metod syntetycznych w obecności katalizatorów, w przeciwieństwie do metod konwencjonalnych, może zmaksymalizować tworzenie pożądaných produktów i zminimalizować powstawanie produktów ubocznych. Ponadto, pozwala na zwiększenie wydajności reakcji chemicznych, zmniejszenie kosztów produkcji i ograniczenie odpadów. Dodatkowo, kataliza może prowadzić do selektywnego otrzymywania pożądaných produktów chemicznych [21].

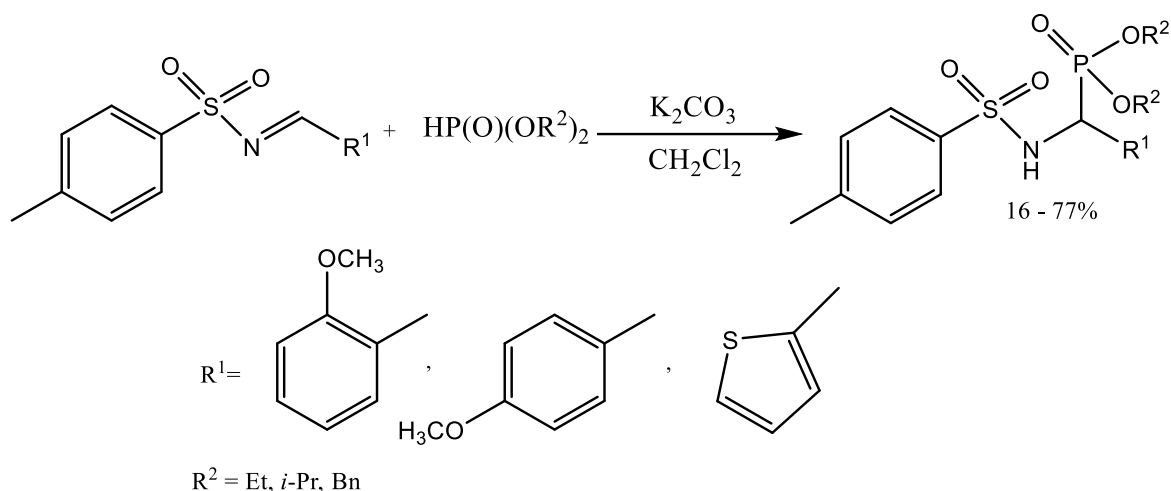
### 1.2.3.1. Reakcje Pudovika w obecności katalizatorów i rozpuszczalników

W 2016 roku, Subramanyam i inni, przeprowadzili prostą syntezę  $\alpha$ -aminofosfonianów na drodze reakcji Pudovika, używając, jako katalizatora tetrametyloguaninidyny (TMG). Reakcja iminy z fosfonianem dietylu w etanolu, była prowadzona w temperaturze 50-60°C, przez 3 godziny (Schemat 3). Otrzymano szereg różnie podstawionych produktów, które charakteryzowały się aktywnością przeciwbakteryjną, przeciwgrzybiczą i przeciwutleniającą. Warto dodać, że katalizator został łatwo usunięty przez proste wymywanie wodą [22].



**Schemat 3.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów przy użyciu TMG w EtOH [22].

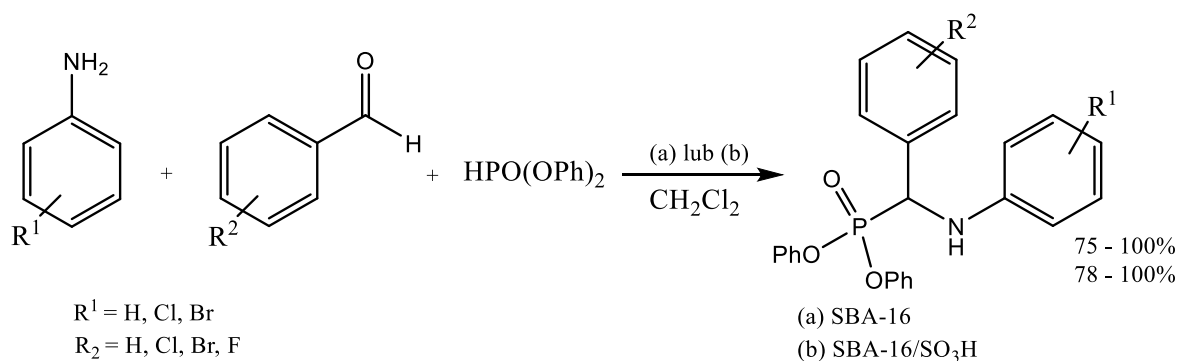
W 2018 roku, Karpowicz i inni, wykorzystali reakcję Pudovika do syntezy *N*-(*p*-toluenosulfonyl)-aminofosfonianów. Kluczowym etapem była addycja wybranych *H*-fosfonianów dialkylowych do wybranych sulfonianów (Schemat 4). Reakcję prowadzono w dichlorometanie (DCM) w obecności K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, w temperaturze pokojowej przez 7 dni. Wyjściowe sulfonoiminy otrzymane zostały na drodze kondensacji aromatycznych aldehydów z *p*-toluenosulfonoamidem, katalizowanej przez Ti(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>. Produkty reakcji zbadano w warunkach *in vitro*, pod kątem cytotoksyczności i ekotoksyczności w stosunku do nowotworowych i prawidłowych linii komórkowych [23].



**Schemat 4.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów przy użyciu  $\text{K}_2\text{CO}_3$  w DCM [23].

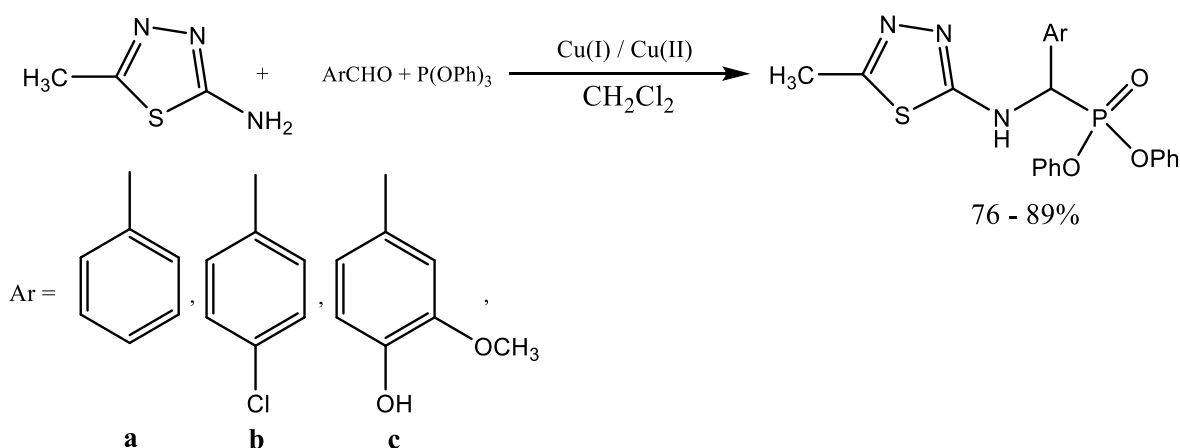
#### 1.2.3.2. Reakcje Kabachnika - Fieldsa w obecności katalizatorów i rozpuszczalników

Boza i in. (2016), badali wpływ mezoporowatej krzemionki SBA-16 lub SBA-16/ $\text{SO}_3\text{H}$ , otrzymanej z popiołu uzyskanego z trzciny cukrowej, jako heterogenicznych katalizatorów do syntezy  $\alpha$ -aminofosfonianów. W celu zbadania efektywności katalizatorów przeprowadzono modelową reakcję pomiędzy aniliną, benzaldehydem i fosfonianem (Schemat 5). Proces przeprowadzono z dobrą wydajnością. Z drugiej strony, katalizator SBA-16/ $\text{SO}_3\text{H}$  dawał lepszą wydajność w porównaniu z SBA-16, ze względu na jego większą kwasowość, przypisywaną grupom kwasu sulfonowego [24].



**Schemat 5.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów przy użyciu SBA - 16 [24].

Zastąpienie *H*-fosfonianu difenyłowego fosforem trifenylowym doprowadziło Azaama i in. (2018), w reakcji 2-amino-5-metylo-1,3,4-tiadiazolu z wybranymi aldehydami w obecności soli Cu(I) i Cu(II) do  $\alpha$ -aminofosfonianów, zawierających ugrupowania tiadiazolowe, z równie dobrymi rezultatami (Schemat 6). Reakcje prowadzone były w temperaturze pokojowej, w ciągu 6-13 h, z użyciem DCM, jako rozpuszczalnika. Pożądane związki zostały uzyskane z wydajnością 76-89%, a ponadto wykazały obiecujące właściwości przeciwutleniające i przeciwnowotworowe w warunkach *in vitro* [25].

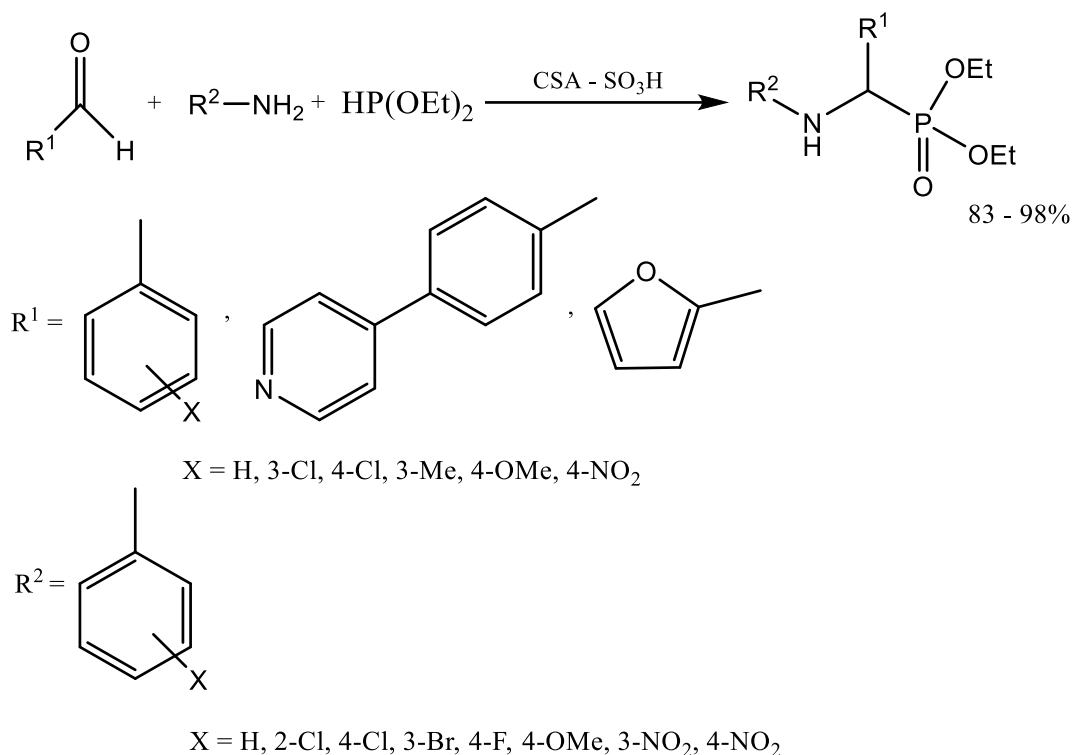


**Schemat 6.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów przy użyciu Cu(I)/Cu(II) w DCM [16].

### 1.2.3.3. Reakcje Kabachnika - Fieldsa w obecności katalizatorów w warunkach bezrozpuszczalnikowych

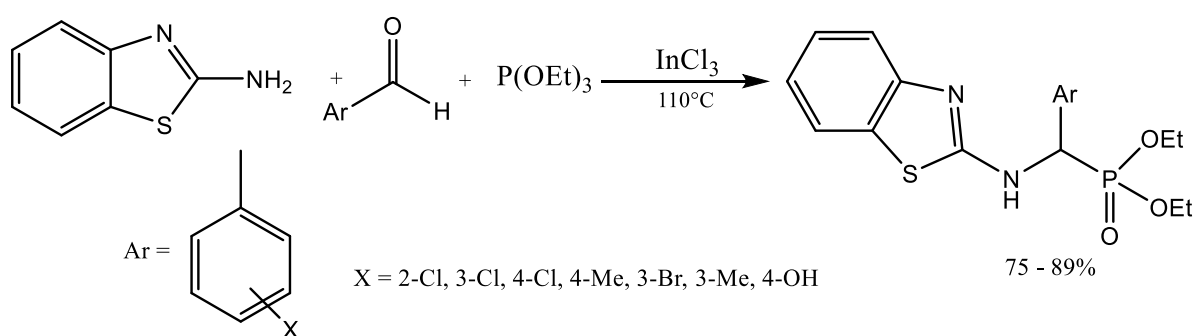
Kumar i in. (2017), zastosowali Celulozę-SO<sub>3</sub>H (CSA), jako bezpieczny i nadający się do recyklingu katalizator w reakcji różnie podstawionych benzaldehydów (3-Cl, 4-Cl, 3-Me, 4-OMe, 4-NO<sub>2</sub>) i furfuralu z pierwszorzędowymi aminami aromatycznymi i *H*-fosfonianem (Schemat 7). Autorzy badali przebieg reakcji z użyciem rozpuszczalnika, jak i bez użycia rozpuszczalnika. Najbardziej efektywne okazało się prowadzenie reakcji w warunkach „solvent free” (czas 15-30 min., wydajność 83-98%) [26].





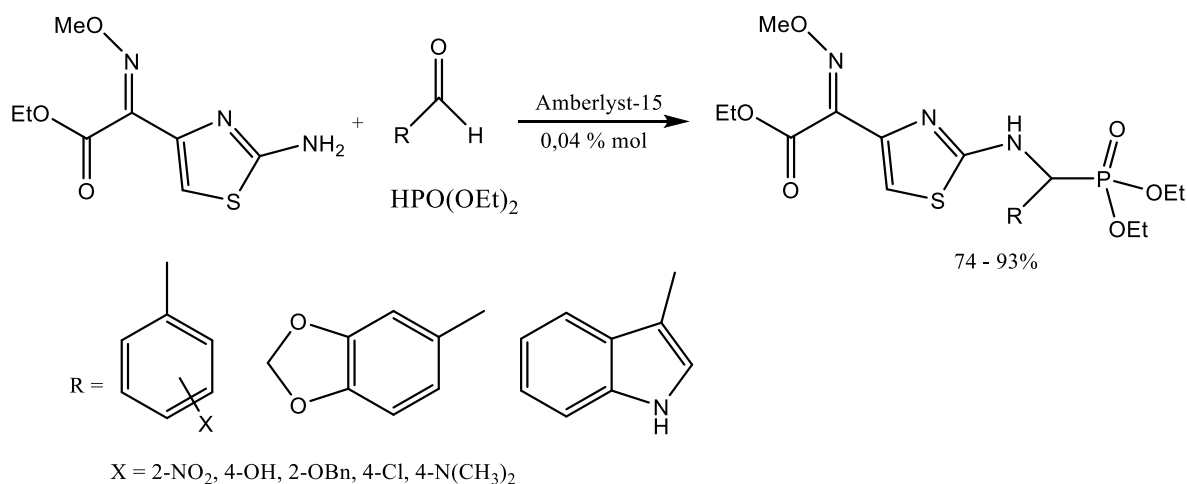
**Schemat 7.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów przy użyciu celulozy [27].

Inny, ekologiczny sposób syntezy  $\alpha$ -aminofosfonianów w warunkach bezrozpuszczalnikowych został opisany przez Lashkari i in. (2013). Jest to reakcja pomiędzy aldehydami, 2-aminobenzotiazolem i fosforem trietylowym, katalizowana przez  $InCl_3$  (Schemat 8). Zaletami procedury są przede wszystkim: krótki czas reakcji (10-16 min.), dobra wydajność, warunki bezrozpuszczalnikowe oraz łatwość przygotowania, a także aspekty ekologiczne - brak toksycznych katalizatorów i rozpuszczalników [28].



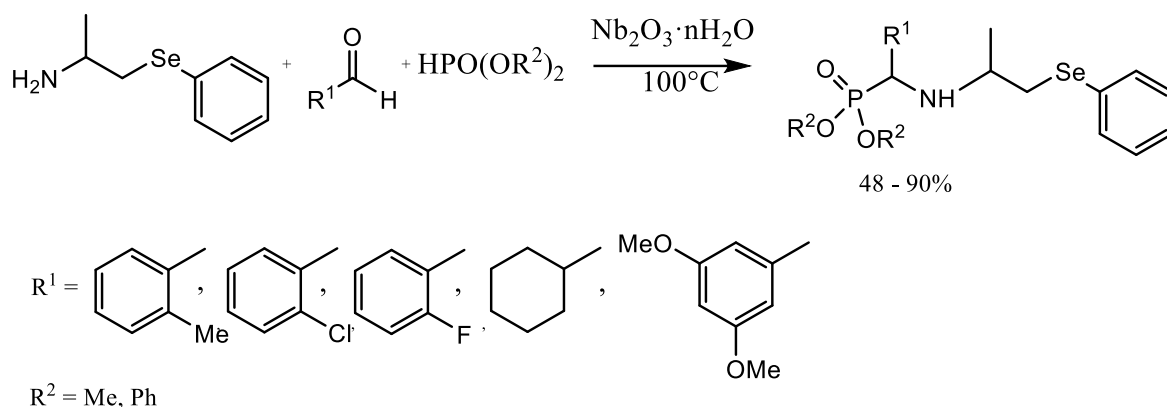
**Schemat 8.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów przy użyciu  $InCl_3$  [28].

Wydajną i przyjazną dla środowiska metodą typu „one pot approach” zastosowano w przypadku syntezy układów z użyciem pochodnych 2-amino-1,3-tiazolu z różnie podstawionymi aldehydami w obecności Amberlyst-15 (żywica jonowymienna), jako heterogenicznego katalizatora. Reakcja była prowadzona bez rozpuszczalnika, w temperaturze pokojowej i została zakończona po godzinie, a produkty otrzymano z dobrymi wydajnościami (Schemat 9) [29].



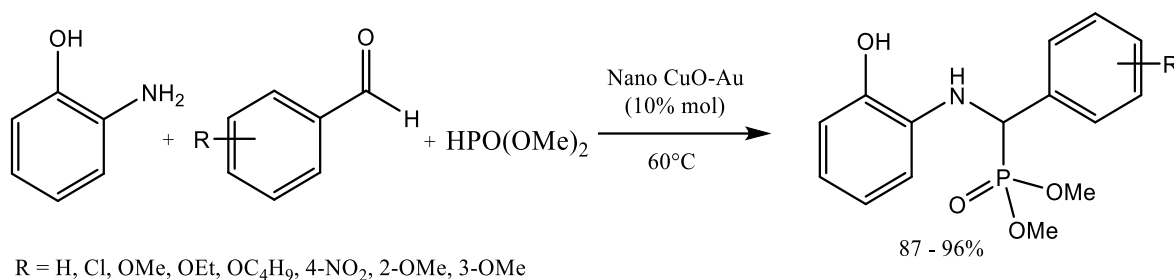
**Schemat 9.** Synteza  $\alpha$ -Aminofosfonianów przy użyciu Amberlystu-15 [29].

Vogt i in. (2018), w swojej publikacji opisali bezrozpuszczalnikową syntezę nowych  $\alpha$ -aminofosfonianów z 1-(fenyloseleno)propano-2-aminy i jej pochodnych, podstawioną wybranymi aldehydami i fosfonianami dimetylu i difenyłu (Schemat 10). Po przebadaniu serii katalizatorów ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{InCl}_3$ ,  $\text{NbCl}_5$ ,  $\text{Nb}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ), w różnych temperaturach, okazało się, że najbardziej efektywny był hydrat tlenku niobu (III) ( $\text{Nb}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) w temperaturze 100°C (czas reakcji 6h, wydajność 91%). Autorzy zauważyli ponadto, że zwiększenie stosunku molowego fosfoanianu do aminy i aldehydu, z 1,2 mmola do 2 mmoli, istotnie wpływał na poprawę wydajności reakcji. Dalsze zwiększanie ilości fosfonianu, nie wywierało wpływu na efektywność reakcji. Wykazano również, że niektóre spośród badanych związków, działają przeciwko stresowi oksydacyjnemu [30].



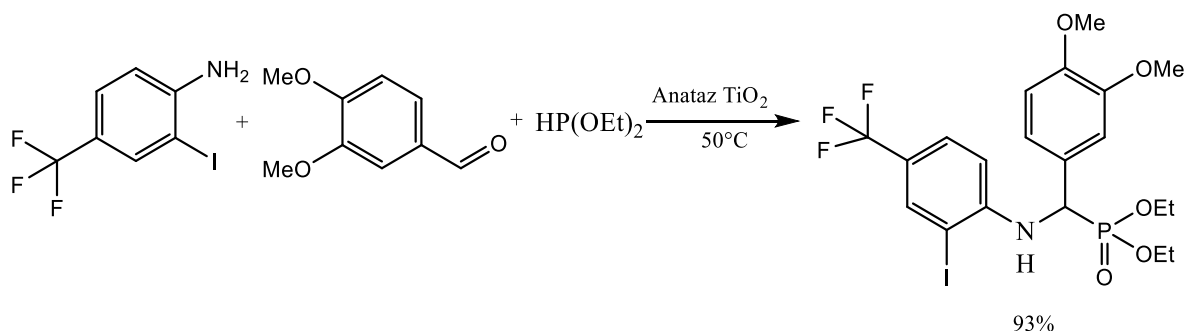
**Schemat 10.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów przy użyciu  $\text{Nb}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  [30].

W 2018 roku Sreelakshmi i in., zsyntetyzowali nano-tlenek miedzi (II) domieszkowany złotem i wykorzystali go, jako katalizator do syntezy  $\alpha$ -aminofosfonianów. Synteza przebiegała z udziałem 2-aminofenolu z aldehydem aromatycznym i *H*-fosfonianem dimetylu w warunkach bezrozpuszczalnikowych, w temp. 60°C (Schemat 11). Wszystkie zsyntetyzowane związki poddano badaniom *in vitro*, pod kątem aktywności antyoksydacyjnej i inhibicji  $\alpha$ -glukozydazy. Niektóre z tych związków, wykazały obiecującą aktywność [31].



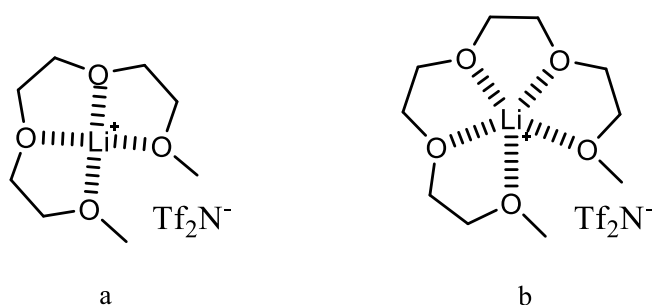
**Schemat 11.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów przy użyciu nano- CuO [21].

Z kolei Shaika i in. (2020), badając reakcję 2-jodo-4-trifluorometylaniliny z 3,4-dimetoksybenzaldehydem i fosfonianem dietylu (Schemat 12), stwierdzili, iż spośród badanych katalizatorów:  $\text{InCl}_3$ ,  $\text{ZrCl}_4$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{CuI}$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{BF}_3$ , nano CuO najlepsze rezultaty dało zastosowanie nanocząstek  $\text{TiO}_2$  w formie anatazu (metastabilna, mineralna postać tlenku tytanu (IV)). Jego zastosowanie zaowocowało najkrótszym czasem reakcji i największą wydajnością, przy stosunkowo niskiej temperaturze reakcji (50°C, wydajność 93%) [32].



**Schemat 12.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów przy użyciu nanocząstek  $\text{TiO}_2$  w formie anatazu [32].

W publikacji Gundluru i in. (2021), opisano kwas sulfonowy na nośniku  $\beta$ -cyklodekstrynowym ( $\beta$ -CD- $\text{SO}_3\text{H}$ ), jako wydajny, przetwarzalny i heterogeniczny katalizator do syntezy tiazolilowych pochodnych  $\alpha$ -aminofosfonianów. Reakcja różnie podstawionych aromatycznych amin pierwszorzędowych (np. 4- $\text{NO}_2$ , 4- $\text{CF}_3$ , 2-I, 4-Br, 4-OMe) z 2-(3-formylo-4-izobutoksyfenylo)-4-metylotiazolo-5-karboksylanem etylu i fosfonianem dietylu, w warunkach bezrozpuszczalnikowych z dodatkiem  $\beta$ -CD- $\text{SO}_3\text{H}$ , jako katalizatora, prowadziła do powstania bogatej grupy produktów reakcji. Niektóre z otrzymanych związków wykazywały dużą cytotoksyczność w stosunku do komórek nowotworowych K562 i Colo205 [33]. W literaturze istnieją również doniesienia o wykorzystaniu cieczy jonowych  $[\text{G}_3(\text{Li})]$  TFSI, czy  $[\text{G}_4(\text{Li})]$  TFSI, jako katalizatorów w procesie otrzymywania pochodnych aminofosfonowych, które w swoich badaniach użyli Mirzaei i Eyckens (Rys. 2), [24, 25].



**Rysunek 2.** Ciecze jonowe  $[\text{G}_3(\text{Li})]$  TFSI (a) oraz  $[\text{G}_4(\text{Li})]$  TFSI (b) [34].

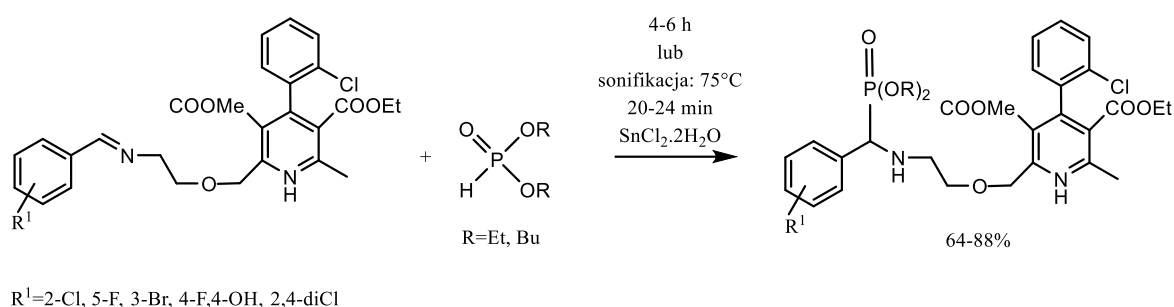
#### 1.2.4. Ultrasonifikacja, jako metoda ekologiczna

Synteza, która wspomagana jest ultradźwiękami zalicza się do metod, jakie z powodzeniem stosowane są w zielonej chemii. Ultradźwięki, wykorzystywane w syntezie związków organicznych, stanowią alternatywne źródło energii dla reakcji organicznych, które zazwyczaj wymagają ogrzewania. Opiera się to na zjawisku kawitacji akustycznej

(powstawanie pęcherzyków próżniowych w cieczy, pod wpływem ultradźwięków, prowadzące do występowania ekstremalnych, lokalnych ciśnień, rzędu 1000 atm. i temperatur rzędu 5000 K), w fazie ciekłej bez bezpośredniego wpływu na energię drgań poszczególnych wiązań. Zastosowanie ultradźwięków daje zatem ogromne możliwości, m.in. prostotę i bezpieczeństwo przebiegu reakcji oraz wysoką czystość powstałych produktów. Mocną stroną procedur wykorzystujących wspomaganie ultradźwiękami, jest również zwiększona wydajność reakcji [35].

#### 1.2.4.1. Wpływ ultradźwięków na przebieg reakcji Pudovika

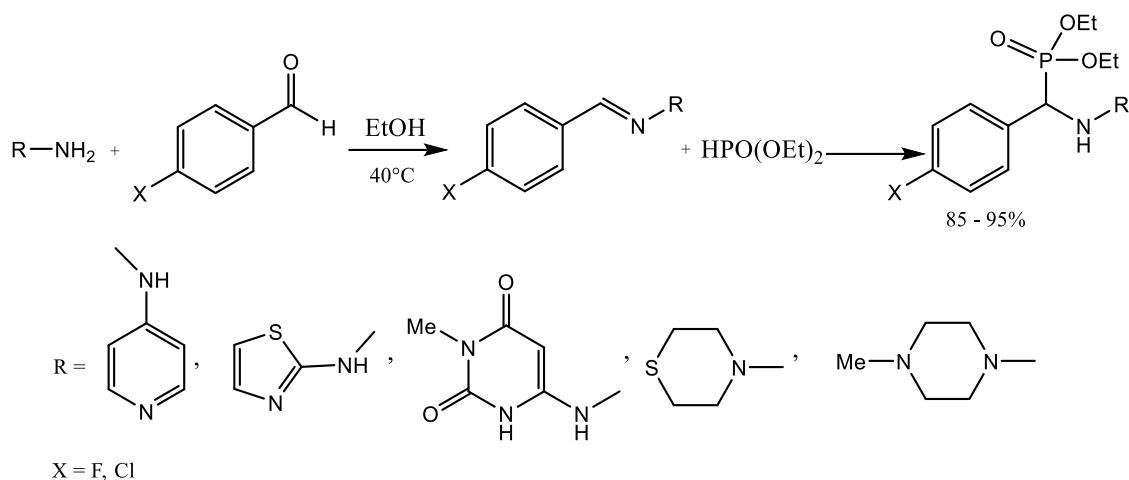
Bálint i in. (2017) przeprowadzili addycję fosforinów dialkilowych do podwójnego wiązania C=N imin, pochodzących z amlodypiny, w obecności  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , jako katalizatora (Schemat 13). Porównując reakcję prowadzoną z wykorzystaniem ultradźwięków z eksperymentem kontrolnym - przy użyciu konwencjonalnego ogrzewania, czas reakcji skrócił się z 4-6 h do 20-24 min. Uzyskane produkty wykazały działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwgrzybicze [36].



**Schemat 13.** Addycja fosforinów dialkilowych do imin pochodzących od amlodypiny [36].

Również Basha i in. (2020), wykorzystali ultradźwięki w syntezie serii aminofosfonianów, w reakcji Pudovika (Schemat 14). W pierwszym etapie autorzy skoncentrowali się na syntezie wybranych imin, wychodząc z różnie podstawionych pochodnych hydrazny oraz 4-chloro (fluoro)-benzaldehydu. Traktując otrzymane iminy fosfonianem dietylu, w obecności TMG, uzyskali docelowe produkty z bardzo dobrymi wydajnościami. Zastosowanie ultradźwięków pozwoliło na poprawę wydajności reakcji, w porównaniu z warunkami konwencjonalnymi (z 68-78% do 85-95%). Dzięki

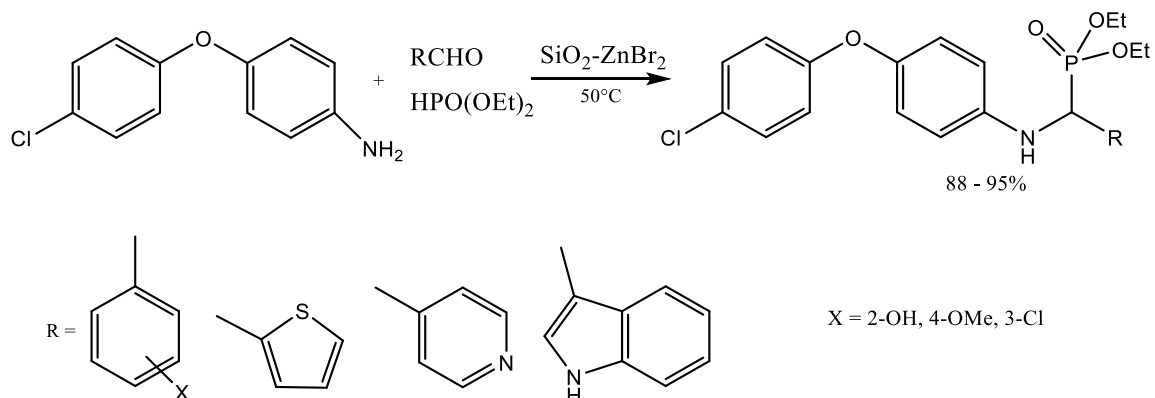
zastosowaniu ultradźwięków, możliwe było również skrócenie czasu reakcji z 3- 4,5 h do 10-40 min. [37].



**Schemat 14.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów pod wpływem ultradźwięków, z użyciem TMG [37].

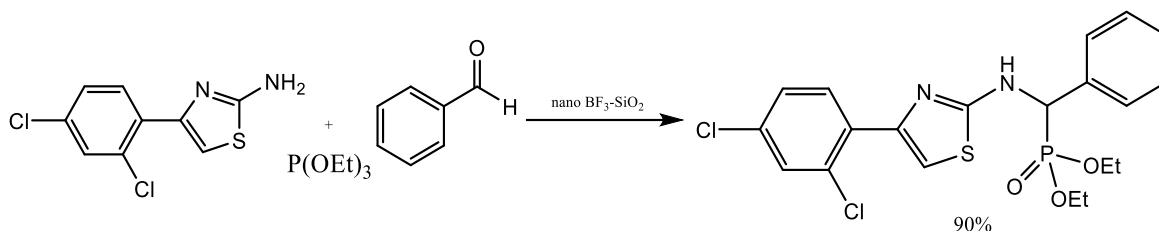
#### 1.2.4.2. Reakcje Kabachnika - Fieldsa a wpływ ultradźwięków

Fale ultradźwiękowe (35 MHz), w reakcji Kabachnika-Fieldsa, zastosował również Sivala, opracowując proces syntezy  $\alpha$ -aminofosfonianów z mieszaniny amin, aldehydów i fosfonianu dietylu w obecności  $\text{SiO}_2\text{-ZnBr}_2$ , jako katalizatora, w temperaturze  $50^\circ\text{C}$ , w warunkach bezrozpuszczalnikowych (Schemat 15). Odpowiednie aminofosfoniany otrzymano z dobrą wydajnością, a czas reakcji wynosił od 35 do 54 min. W porównaniu z ogrzewaniem konwencjonalnym, zastosowanie ultradźwięków wyraźnie zwiększyło wydajność i skróciło czas reakcji. Niektóre z tych związków, wykazały obiecującą aktywność zarówno wobec szczepów bakterii, jak i grzybów [38].



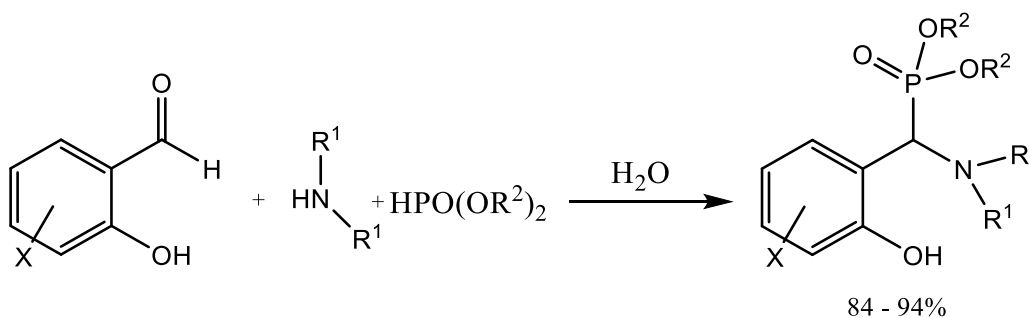
**Schemat 15.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów pod wpływem ultradźwięków, z użyciem  $\text{SiO}_2\text{-ZnBr}_2$  [38].

Fale ultradźwiękowe wykazały również znaczącą przydatność w syntezie pochodnych 4-(2,4-dichlorofenylo)tiazolo-2-aminy z użyciem fosforynu trietylowego (Schemat 16). Zastosowanie  $\text{BF}_3\text{-SiO}_2$  i sonifikacji, pozwoliło na skrócenie czasu i poprawę wydajności reakcji, w porównaniu do warunków konwencjonalnych, z użyciem rozpuszczalnika (metanol, etanol, toluen, THF, DCM) [39].



**Schemat 16.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów pod wpływem ultradźwięków, z użyciem  $\text{nano BF}_3\text{-SiO}_2$  [39].

Kall i in. (2017), badali wpływ ultradźwięków na przebieg reakcji Kabachnika- Fieldsa, z użyciem pochodnych aldehydu salicylowego, jako komponenta karbonylowego. Reakcję prowadzono z użyciem stechiometrycznych ilości aldehydu, aminy, fosfonianu, w wodzie, jako przyjaznym środowisku rozpuszczalnika, w temperaturze pokojowej (Schemat 17). Zastosowanie ultradźwięków zaowocowało skróceniem czasu reakcji z 80- 189 min. do 6-35 min. i podwyższeniem wydajności w stosunku do procesu bez użycia ultradźwięków z 56-72% do 84-94% [30].



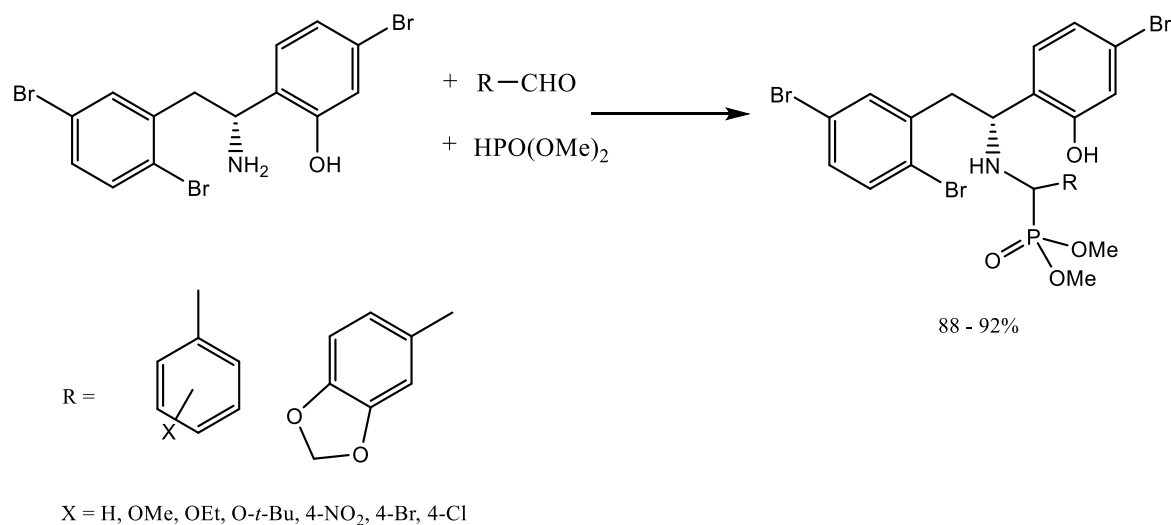
X = H, 5-Br, 3-Me, 5- $\text{NO}_2$ , 2-OH-Naftyl

$\text{R}^1$  = Me, Bu, Morfolina, Pirolidyna

$\text{R}^2$  = Me, Et, i-Pr, n-Bu

**Schemat 17.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów z udziałem wody, pod wpływem promieniowania ultradźwiękowego [40].

Opisano również nową, prostą metodę otrzymywania  $\alpha$ -amino fosfonianów, stosując 2-(1-amino-2-(2,5-dibromofenilo)etylo)-5-bromofenol z różnymi podstawionymi aldehydami i fosfonianem dimetylu, bez dodatku katalizatora i rozpuszczalnika. Reakcja przebiegała w temperaturze pokojowej, z udziałem ultradźwięków, a czas jej trwania wynosił od 10 do 20 min. (Schemat 18). Gdy reakcja modelowa była prowadzona w obecności rozpuszczalnika, takiego jak woda, wykazywała 56 % wydajność (czas reakcji: 40 min., 60°C), natomiast przy zastosowaniu konwencjonalnej metody, uzyskanie pożądaných produktów wymagało dłuższego czasu reakcji niż w przypadku zastosowania ultradźwięków (4-6 h), a wydajność produktów wynosiła od 60 do 78%. Biorąc pod uwagę wydajność reakcji, dopiero zastosowanie warunków bezrozpuszczalnikowych i prowadzenie reakcji w temperaturze pokojowej zostały uznane za optymalne dla tej syntezy, uzyskując wydajność rzędu 88-92%. Dlatego też, metoda ta, wykazała następujące zalety: przyjazność dla środowiska, brak katalizatora, wysoka wydajność, nieskomplikowana procedura przygotowania, krótki czas reakcji i brak rozpuszczalników [41].



**Schemat 18.** Synteza  $\alpha$ -amino fosfonianów pod wpływem ultradźwięków [41].

### 1.2.5. Synteza aminofosfonianów wspomagana promieniowaniem mikrofalowym

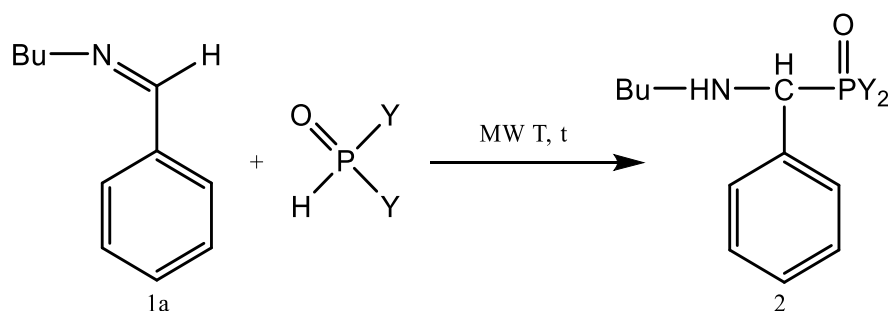
Technologia promieniowania mikrofalowego, stanowi rozwijający się obszar badawczy, w kontekście potencjalnego wykorzystania fal mikrofalowych w chemii. Dla syntez organicznych, w porównaniu do konwencjonalnych metod, podejście to ma kilka zalet, takich jak: równomierny rozkład energii wewnątrz naczynia reakcyjnego, dając produkt z wysoką wydajnością i krótkim czasem reakcji oraz zapobieganie marnowaniu



produktów. Zastosowanie mikrofal oferuje również przyspieszenie procesu, mniejsze straty ciepła, wysoką wydajność ogrzewania i niskie koszty operacji, a także możliwość kontroli poszczególnych parametrów eksperymentu, jak np.: wpływ mocy i temperatury [42].

#### 1.2.5.1. Reakcje Pudovika a wpływ promieniowania mikrofalowego

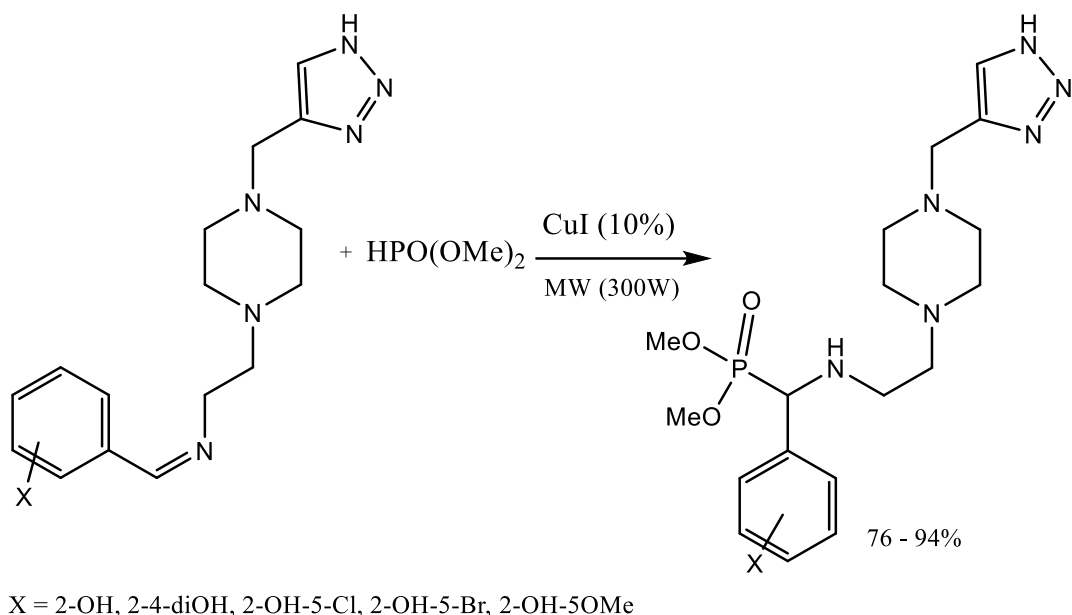
Bálint i in. (2017), opisali wspomaganą mikrofalami syntezę  $\alpha$ -arylo- $\alpha$ -aminofosfonianów z użyciem butyloaminy, cykloheksyloaminy i aniliny oraz aldehydu benzoowego i jego 2-, 3-, 4-chloropochodnych. Zastosowanie promieniowania mikrofalowego pozwoliło na wyeliminowanie dodatkowego katalizatora oraz rozpuszczalnika. Reakcje prowadzono w temperaturze 80-100°C, w ciągu 10-30 min. Docelowe produkty uzyskano z wydajnościami od 76-100%. Przeprowadzone przez autorów badania wykazały znaczący wpływ promieniowania mikrofalowego na efektywność reakcji w porównaniu do ogrzewania konwencjonalnego (Schemat 19) [36].



Y = OMe (a), OEt (b), OBU (c), OBn (d), OPh (e)

**Schemat 19.** Addycja fosforynów dialkylowych i tlenku difenyłu do *N*-benzylidenobutyloaminy [36].

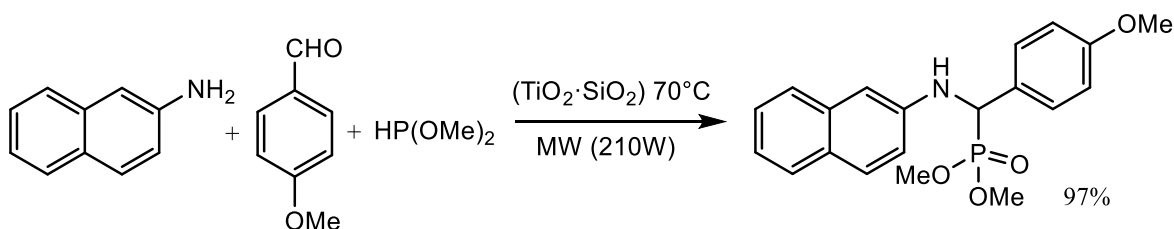
W podobny sposób, Kandula i in. (2021), otrzymali układy zawierające ugrupowanie 4-[(1,2,3-triazol-4-yl)metylo]piperazyn-1-ylowe z wykorzystaniem dodatkowo jodku miedzi (I) jako katalizatora [43]. Również w tym przypadku prowadzenie reakcji w piecu mikrofalowym zaowocowało dobrymi wydajnościami, z jakimi uzyskano docelowe produkty. Przeprowadzone przez autorów badania pokazały, że katalizator nie stracił swojej aktywności po użyciu w 3 cyklach (Schemat 20). Część otrzymanych związków wykazały znaczącą aktywność antyoksydacyjną w warunkach *in vitro*.



**Schemat 20.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem CuI i mikrofal [43].

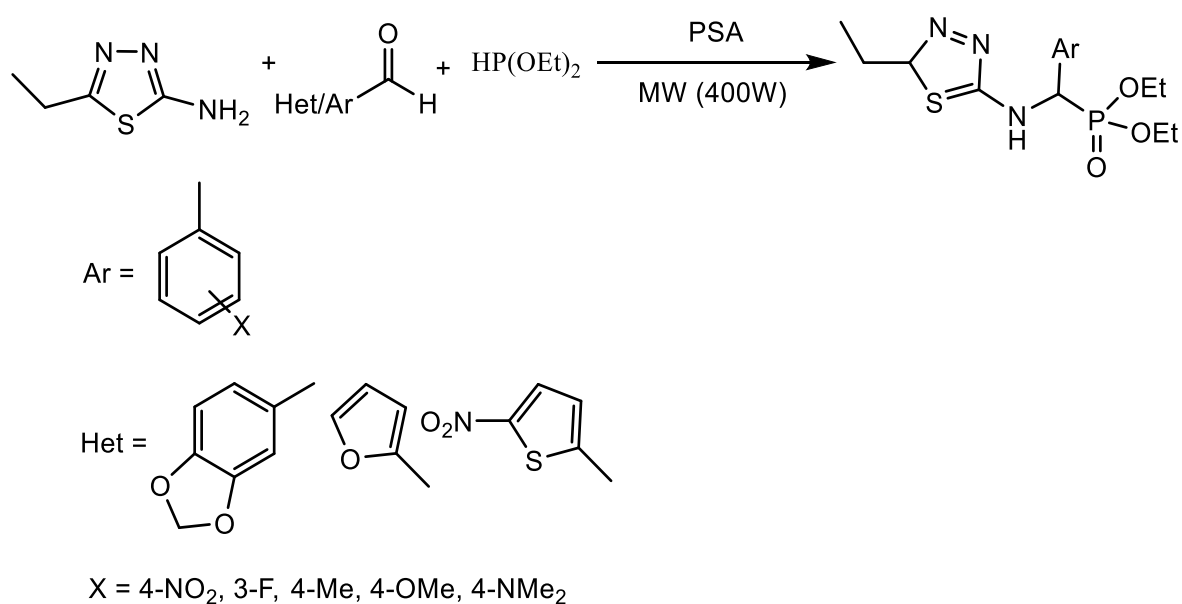
#### 1.2.5.2. Reakcje Kabachnika-Fieldsa pod wpływem promieniowania mikrofalowego

Chinthaparthi i in. (2013), opublikowali nowatorską, wspomaganą mikrofalami metodę syntezy  $\alpha$ -aminofosfonianów, wykorzystującej  $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$ , jako katalizatora. Zastosowanie  $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$ , pozwoliło na znaczne skrócenie reakcji do 3-6 min, oraz zmniejszenie mocy promieniowania do 210W (Schemat 21). Większość nowo otrzymanych związków wykazała interesującą aktywność przeciwnowotworową na komórkach HeLa (linia komórkowa wywodząca się z komórek raka szyjki macicy) i SK-BR-3 (linia komórkowa, pochodząca z ludzkich komórek raka piersi) [44].



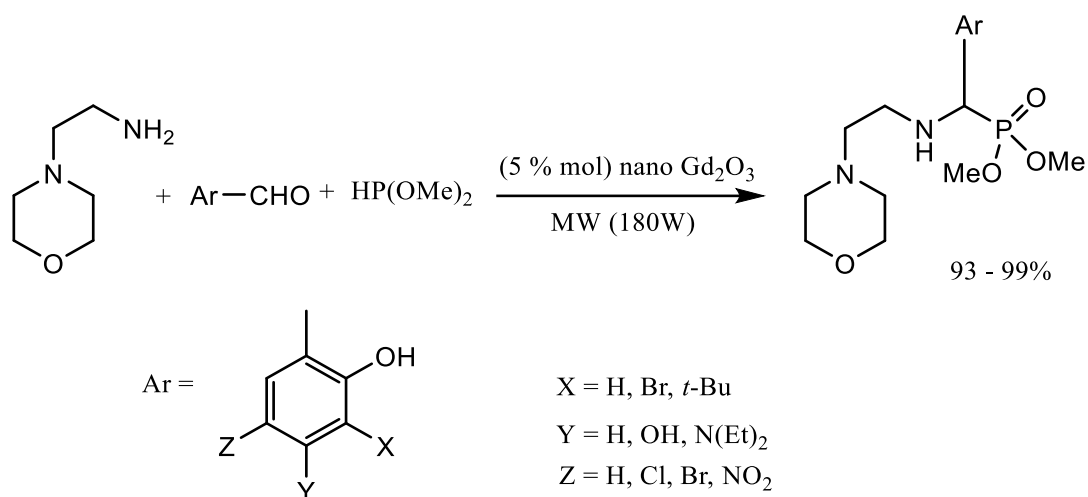
**Schemat 21.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem  $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$  i mikrofal [44].

Z kolei Gundluru (2016), opisał protokół syntezy pochodnych  $\alpha$ -aminofosfonianów zawierających ugrupowanie 1,3,4-tiadiazolowe, na drodze reakcji Kabachnika-Fieldsa pod wpływem promieniowania mikrofalowego, z wykorzystaniem kwasu fosfosulfonowego (PSA), jako ekologicznego, nadającego się do recyklingu i przyjaznego dla środowiska katalizatora kwasowego (Schemat 22). Otrzymane w ten sposób pochodne wykazywały dobrą aktywność, jako przeciwutleniacze, w warunkach *in vitro* i umiarkowaną aktywność przeciwdrobnoustrojową [45].



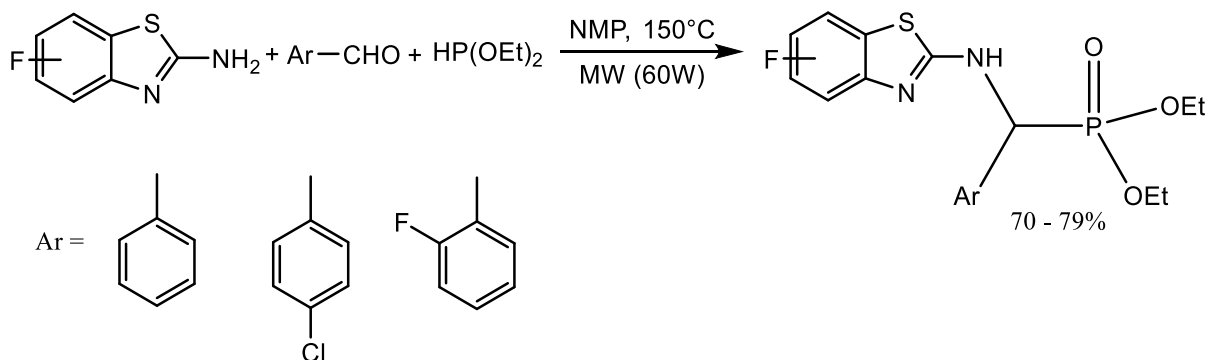
**Schemat 22.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem PSA i mikrofal [45].

Reddy i in. (2016), zastosowali do swoich badań nanocząstki Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, jako katalizator (Schemat 23). Posłużyły im one w syntezie [2-(morfolin-4-yl)etylo]amino(arylo)metylo]fosfonianów dimetylowych. Dzięki zastosowaniu katalizatora, syntezę charakteryzował krótki czas prowadzenia reakcji, brak użycia rozpuszczalnika oraz możliwość ponownego użycia katalizatora [46].



**Schemat 23.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> i mikrofal [46].

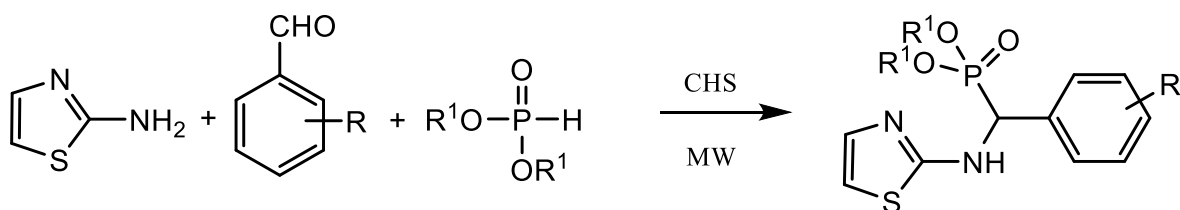
Reakcja Kabachnika Fieldsa, wspomagana falami mikrofalowymi, została wykorzystana również w syntezie układów zawierających fluorobenzotiazol. Użycie 1- metylo-2-pirolidonu (NMP), jako rozpuszczalnika doprowadziło do finalnych produktów z wydajnościami 70-79%. Jednakże w tym przypadku reakcja wymagała dłuższego czasu (około 40 min) i temperatury 150°C (60W). (Schemat 24). Niektóre z powstałych produktów wykazały znaczącą aktywność przeciwwirusową [47].



**Schemat 24.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem NMP i mikrofal [47].

Z kolei Sudileti i in. (2019) dużo miejsca poświęcili badaniom dotyczącym wpływu użytego rozpuszczalnika (chlorki: glinu, żelaza, cynku, chromu; octan palladu (II); bromek niklu; wodorosiarczan kofeiny – CHS), rodzaju katalizatora oraz mocy zastosowanego promieniowania mikrofalowego na czas i wydajność syntezy [(arylo)(tiazol-2-yloamino)metylo]fosfonianów dialkylowych (Schemat 25). Synteza aminofosfonianów

przebiegała na drodze trójskładnikowej reakcji Kabachnika-Fieldsa poprzez reagowanie z 2- aminotiazolem, różnymi aldehydami i dialkylfosforanem, w obecności przyjaznego dla środowiska katalizatora, jakim był wodorosiarczan kofeiny. Dodanie katalizatora poprzez ułatwienie nukleofilowej addycji fosforanu do iminy, prowadzi do powstania aminofosfonianów z uwolnieniem CHS. Reakcje prowadzone były w warunkach bezrozpuszczalnikowych pod wpływem promieniowania mikrofalowego o mocy 400W. Niektóre  $\alpha$ -aminofosfoniany wykazały znaczącą aktywność w zakresie zastosowań antyoksydacyjnych i przeciwzapalnych [48].

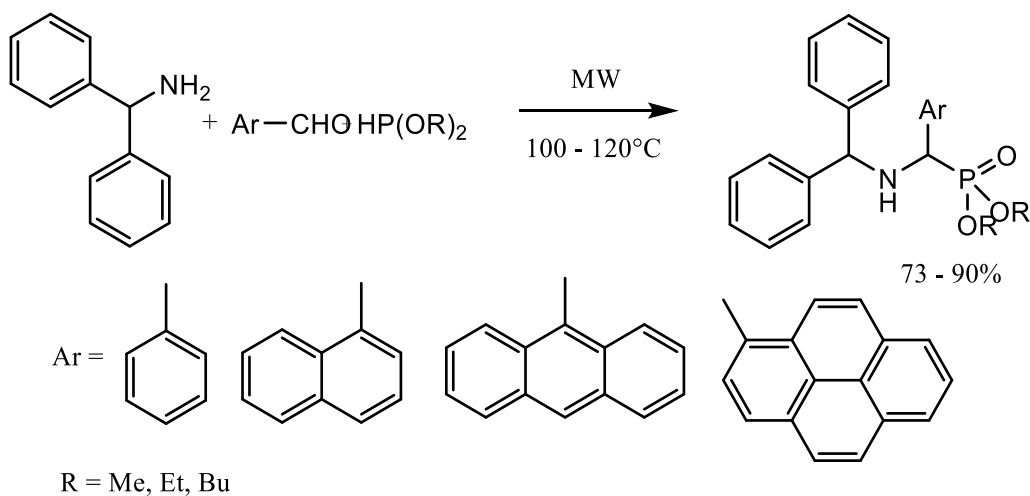


R= Różne substancje

R<sub>1</sub>=Me/Et

**Schemat 25.**  $\alpha$ -aminofosfoniany, zsyntezowane z wykorzystaniem CHS i mikrofal [48].

Również Hudson (2020), w swojej pracy donosi o wspomaganej promieniowaniem mikrofalowym syntezie pochodnych aminofosfonowych, z dużą wydajnością (Schemat 26). Procedura syntezy arylo- $\alpha$ -aminofosfonianów przebiegała bez konieczności użycia dodatkowego katalizatora i rozpuszczalnika na drodze reakcji Kabachnika-Fieldsa, wspomaganej przez MW. Autorzy otrzymali nowe  $\alpha$ -aminofosfoniany z wydajnościami 70-90% [49].

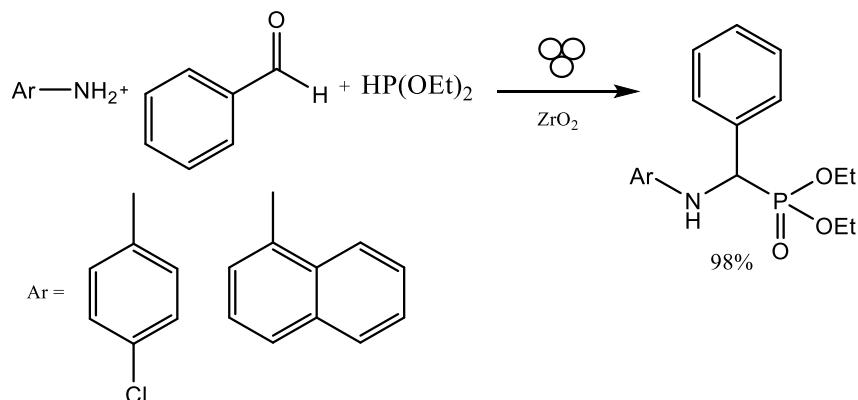


**Schemat 26.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem mikrofal [49].

### 1.2.6. Wykorzystanie młyna kulowego

Reakcja mechanochemiczna jest definiowana, jako reakcja chemiczna, która jest wywołana przez bezpośrednią absorpcję energii mechanicznej. W trakcie procesu mielenia, do materiału dostarcza się duże porcje energii mechanicznej, której następstwem jest akumulacja w postaci naprężeń sieci krystalicznej bądź/lub przekształcenie jej na energię chemiczną. W efekcie pojawiają się nie tylko zmiany strukturalne materiału, takie jak: defekty, dyslokacje, fazy amorficzne, ale również zapoczątkowywane są reakcje chemiczne. Efektem nieodłącznie związanym z mechaniczną obróbką materiału jest jego rozdrobnienie i zwiększenie aktywności fizykochemiczne. Obróbka mechanochemiczna, nie wymaga stosowania rozpuszczalników i jest możliwa do prowadzenia w warunkach otoczenia, realizując tym samym postulaty zielonej chemii. Specyfika nierównowagowych procesów, które zachodzą pod wpływem energii mechanicznej, generowanej w trakcie mielenia, umożliwia wytwarzanie materiałów trudnych, jak i niemożliwych do wytworzenia inną metodą. W uproszczeniu, energia mechaniczna może być generowana np. poprzez mielenie przy użyciu młyna kulowego i tłuczka, bądź odbywać się w młynach kulowych [41–43].

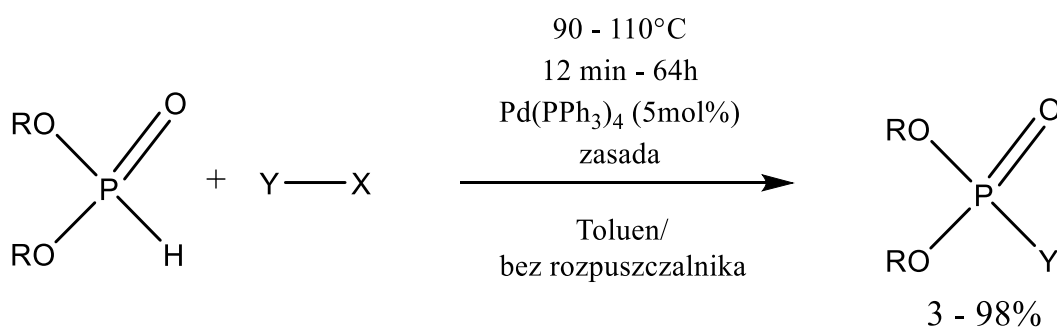
W 2020 roku, Fiore i in. (2020), zastosowali po raz pierwszy proces mielenia kulowego do otrzymywania pochodnych  $\alpha$ -aminofosfonianów, bez użycia katalizatora i rozpuszczalnika, używając tlenku cyrkonu, jako medium mielącego na powierzchni słoja. Najlepsze wyniki uzyskano stosując fosforyn dietylu w etanolu, jako ciekłe mielenie wspomagane trybem ciągłym, z użyciem 50 kulek  $ZrO_2$  przy obrotach 600 rpm, po 6 h (Schemat 27). Pożądane  $\alpha$ -aminofosfoniany były łatwo odzyskiwane bez rozpuszczalników organicznych poprzez bezpośrednie wytrącanie w wodzie. Metoda ta posiada szereg zalet czyniących z niej interesujące narzędzie do syntezy organicznej [50].



**Schemat 27.** Synteza  $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem mielenia kulowego [50].

### 1.2.7. Reakcja Hirao, jako efektywna strategia syntezy pochodnych kwasów fosfonowych

Ciekawą metodą syntezy arylowych fosfonianów jest reakcja Hirao, polegająca na utworzeniu wiązania P-C w efekcie reakcji pomiędzy fosfonianem dialkylowym i odpowiednim halogenkiem arylowym lub winylowym. Reakcja przebiega w obecności  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ , jako katalizatora i w większości przypadków trietyloaminy ( $\text{Et}_3\text{N}$ ), jako zasady, w różnych rozpuszczalnikach lub bez użycia jakiegokolwiek rozpuszczalnika (Schemat 28) [51]. W reakcji używane są również  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  and  $\text{PdCl}_2$ , w połączeniu z różnymi mono- lub bidentatnymi P-ligandami. Znane są również warianty reakcji z wykorzystaniem katalizatorów niklowych.



R = Et, *i*Pr, Bu

Y = Ph, 4Me-OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-HOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-H<sub>2</sub>NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>,  
2-HOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2-MeO(O)CC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>,  
4-MeNH(O)CC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2-HO(O)CC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-Me(O)CC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-NCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>,  
4-O<sub>2</sub>NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1-naftyl, 3-pirydyl, alil, 1-cykloheksenyl, stytyl, 1-fenylowinyl

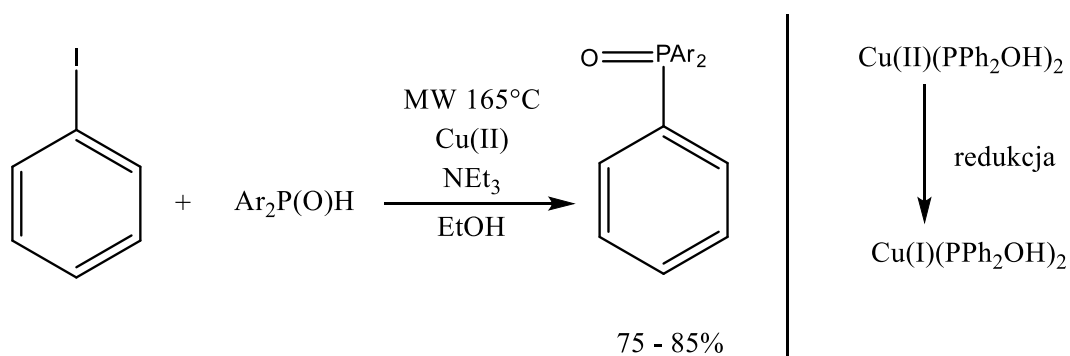
X = I, Br

Baza:  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{Bu}_3\text{N}$ , pirydyna

**Schemat 28.** Reakcja Hirao katalizowana palladem [51].

Toluen, dimetylosulfotlenek (DMSO), 1,4-dioksan, acetonitryl (ACN), tetrahydrofuran (THF), dimetyloformamid (DMF), EtOH (lub inne alkohole) są typowymi rozpuszczalnikami stosowanymi w reakcji Hirao, a ich wybór zależy od stosowanego układu katalitycznego.  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  jest w większości przypadków stosowany razem z toluenem, natomiast w przypadku  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ , jako prekursor katalizatora najczęściej stosuje się DMSO. Najlepszym medium dla katalizowanych przez Ni sprzężeń P-C jest 1,4-dioksan, a czasem

ACN. Można zauważyć, że stosowane są głównie rozpuszczalniki aprotonowe, ale mogą pojawić się również rozpuszczalniki protonowe. W reakcji Hirao, jako zasady stosuje się często trietyloaminę i diizopropyletyloaminę, ale opisywano również użycie pirydyny, czy *N*-metylmorfoliny. W niektórych przypadkach rolę czynnika deprotonującego pełniły  $K_2CO_3$ ,  $Cs_2CO_3$  i  $Na_2CO_3$ . Optymalna temperatura do prowadzenia tego typu reakcji, to 120-150°C. Podczas gdy reakcje Hirao, katalizowane przez związki Pd i Ni zostały szczegółowo zbadane, kataliza za pomocą Cu jest dziedziną nieco zaniedbaną. Huszár i in. (2022), przedstawili dane dotyczące reakcji Hirao, z zastosowaniem soli Cu(II) jako prekursora katalizatora, z wykorzystaniem promieniowania mikrofalowego przy jednoczesnym braku dodatku ligandów (Schemat 29). Tworzenie wiązania P-C było najbardziej wydajne, gdy odczynnik  $>P(O)H$  i trietyloamina, użyta jako zasada były zastosowane w stosunku molowym 1:2 [52].

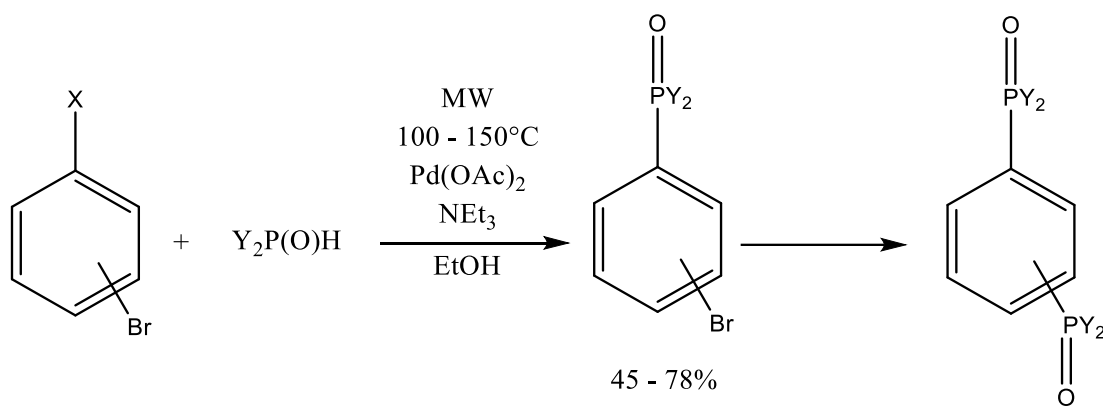


Ar = Ph; 4-MePh; 3,5-diMePh

**Schemat 29.** Reakcja Hirao, z zastosowaniem soli Cu(II) jako prekursora katalizatora, pod wpływem promieniowania mikrofalowego [52].

Ci sami autorzy, prowadzili również reakcję Hirao, wykorzystując nadmiar fosfonianu z wykorzystaniem promieniowania MW (Schemat 30). Do reakcji użyli 1,4-, 1,3- i 1,2-dibromobenzenów oraz odpowiadających im bromojodo pochodnych, które zostały poddane reakcji z fosfonianem dietylu w obecności  $Pd(OAc)_2$ . Odpowiednie Docelowe produkty otrzymano na ogół z dobrą wydajnością, jednak reakcja *ortho*-dihalogenobenzenów przebiegała niechętnie [52, 53].





X = I, Br

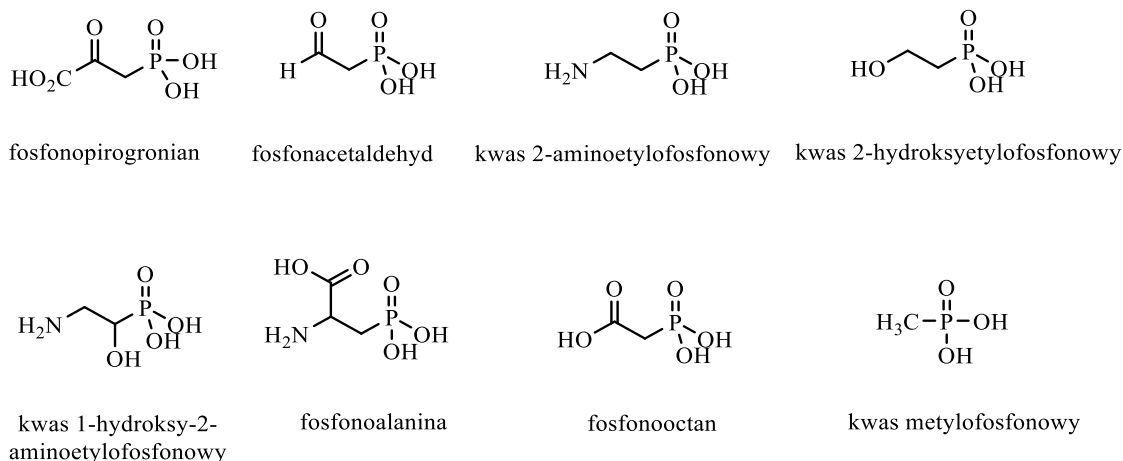
Y = Ph, EtO

**Schemat 30.** Katalizowane przez Pd reakcje sprzęgania P-C Hirao z dihalogenobenzenami [53].

## 1.2. Właściwości biologiczne aminofosfonianów

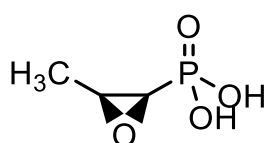
Kwasy fosfonowe, jako klasa substancji naturalnie występujących w przyrodzie, są wyjątkowe ze względu na właściwości biologiczne. Z jednej strony wiązanie węgiel-fosfor (C-P), które definiuje te cząsteczki, jest kluczowym czynnikiem ich silnej bioaktywności wobec mikroorganizmów (i innych organizmów wyższego rzędu), jak również ich stabilności wobec degradacji enzymatycznej. Z drugiej strony, kwasy fosfonowe stanowią źródło nieorganicznego fosforu dla mikroorganizmów, które częściej niż inne, potrzebują właśnie tego składnika odżywczego. W rezultacie biochemia fosforu rozwinęła się dwukierunkowo, jeden kierunek poświęcony jest stworzeniu wiązania C-P i włączaniu tego motywu do złożonych cząsteczek bioaktywnych, podczas gdy drugi dąży do rozszczepienia wiązania C-P w celu uwolnienia kwasu fosfonowego. Pod względem chemicznym, wyróżnia się osiem stosunkowo prostych kwasów aminofosfonowych, które albo stanowią "bloki konstrukcyjne" i podstawę do tworzenia bardziej złożonych produktów naturalnych, albo są substratami dla szlaków katabolicznych (Rys. 3) [54].

Niektóre z tych prostych kwasów fosfonowych wykazują zaskakującą bioaktywność i występowanie. Kwas 2-aminoetylofosfonowy jest skoncentrowany w skrzelach samców krabów błękitnych, natomiast nie znaleziono tej substancji u samic tego gatunku, z kolei fosfonoalanina jest silnym inhibitorem neuronalnego, pobudzającego receptora aminokwasowego, związanego z hydrolizą fosfoinozytydu [55, 56].



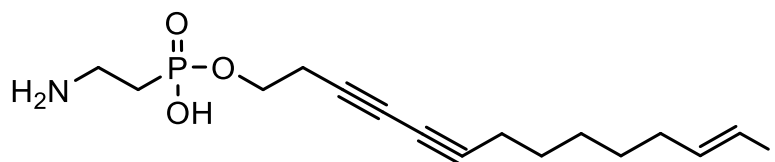
**Rysunek 3.** Naturalne kwasy fosfonowe [54].

Powszechnie wiadomo, że kwasy aminofosfonowe i ich pochodne, charakteryzuje potencjalna aktywność biologiczna. Kwasy aminofosfonowe, będąc strukturalnymi analogami aminokwasów, zwykle działają, jako ich antagoniści i konkurują ze swoimi odpowiednikami karboksylowymi o miejsca aktywne enzymów lub innych receptorów komórkowych. Jako inhibitory procesów metabolicznych wywierają aktywność fizjologiczną, jako środki przeciwbakteryjne, związki neuroaktywne, leki przeciwnowotworowe [23, 57, 58]. Szereg pochodnych kwasów aminofosfonowych to antybiotyki, a najbardziej znanym przykładem jest fosfomycyna (Rys. 4), która znajduje zastosowanie w leczeniu infekcji dróg moczowych.

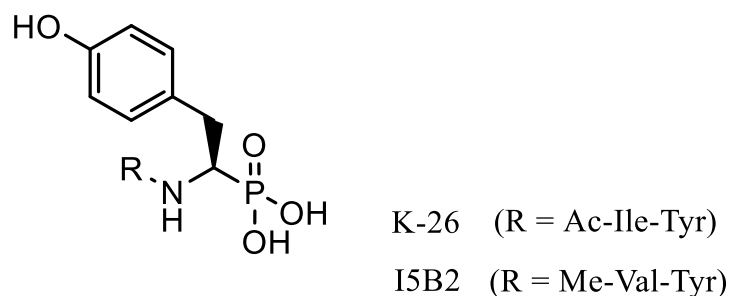


**Rysunek 4.** Struktura fosfomycyny [54].

Nieco inne działania wykazuje fosfodyna A (Rys. 5), która, działa jako agonista ludzkiego czynnika transkrypcyjnego receptora gamma, aktywowanego proliferatorami peroksysomów (hPPAR $\gamma$ ), oraz pokrewne związki K-26 i 15B2 (Rys. 6), które są inhibitorami enzymu konwertującego angiotensynę (ACE) [59, 60].

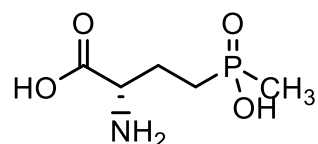


**Rysunek 5.** Struktura fosfodyny A [54].



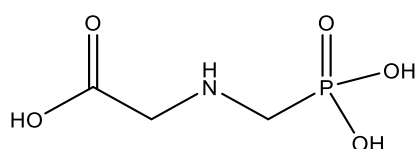
**Rysunek 6.** Struktura K-26 i 15B2 [54].

Naturalnie występujące kwasy aminofosfonowe znalazły również zastosowanie w rolnictwie. Wiele z nich charakteryzuje się właściwościami chwastobójczymi. Przykładem takiej substancji jest fosfotrycyna (Rys. 7), znana również jako glufosynat, która stosowana jest komercyjnie w genetycznie modyfikowanych uprawach, w celu uzyskania odporności na ten herbicyd [54].



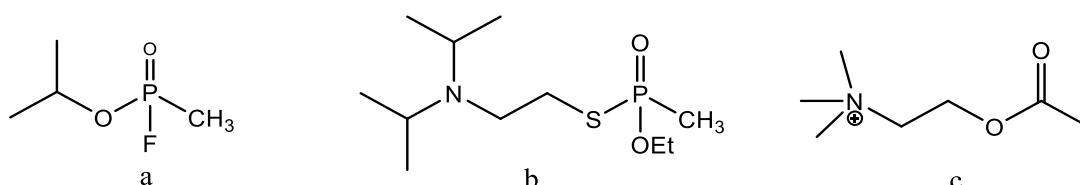
**Rysunek 7.** Struktura fosfotrycyny [54].

Oprócz naturalnie występujących kwasów fosfonowych, istnieją i takie, które są produktami syntezy. Podobnie jak w przypadku tych naturalnych, użyteczność syntetycznych kwasów fosfonowych wynika nie tylko ze stabilności wiązania węgiel-fosfor, ale również ze zdolności cząsteczki kwasu fosfonowego do naśladowania polarnych grup funkcyjnych substratów enzymatycznych. Do tego typu substancji zaliczany jest słynny środek chwastobójczy- glifosat (Rys. 8), stanowiący substancję aktywną w preparacie znanym, jako Roundup, który hamuje działanie syntazy 5- enolopirogroniano-szikimo-3- fosforanu (EPSP), który jest kluczowym enzymem szlaku szikimowego, występującego we wszystkich mikroorganizmach, grzybach i roślinach [54].



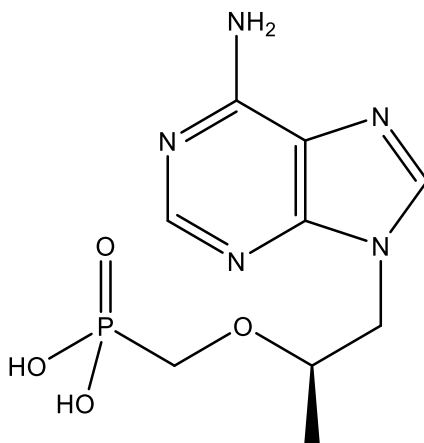
**Rysunek 8.** Struktura glifosatu [54].

Z kolei sarin (Rys. 9-a) i VX (Rys. 9-b) zyskały sławę, jako chemiczne środki bojowe. Związki te, są analogami acetylocholiny, będącej neuroprzekaźnikiem (Rys. 9-c) i osiągają swoją toksyczność poprzez inaktywację esterazy acetylocholiny.



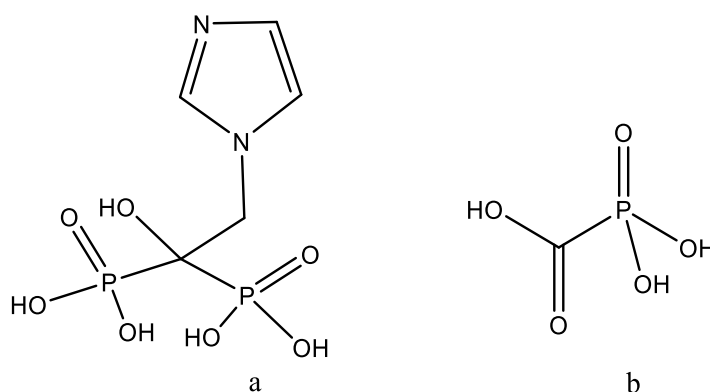
**Rysunek 9.** Struktura Sarinu (a), VX (b), acetylocholiny (c) [54].

Tenofivir (Rys. 10) jest wymieniony przez Światową Organizację Zdrowia, jako lek w leczeniu HIV i zapalenia wątroby typu B. Po difosforylacji w komórce, działa on jako inhibitor wirusowych odwrotnych transkryptaz, co jest spowodowane poprzez naśladowanie adenozynotrifosforanu (ATP) [61, 62].



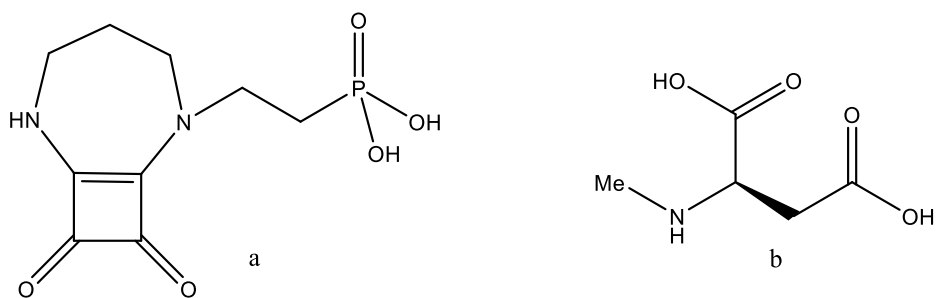
**Rysunek 10.** Struktura tenofiviru [54].

Kwas zoledronowy (Rys.11-a) i Foskarnet (Rys. 11-b), są analogami pirofosforanu i stosowane odpowiednio, w leczeniu osteoporozy i opryszczki. Kwas zoledronowy wykazuje obiecujące właściwości w stosowaniu celowanej terapii nowotworowej w miejscu wiążącym enzymu - ludzkiej syntazy pirofosforanu farnezyli [63, 64].



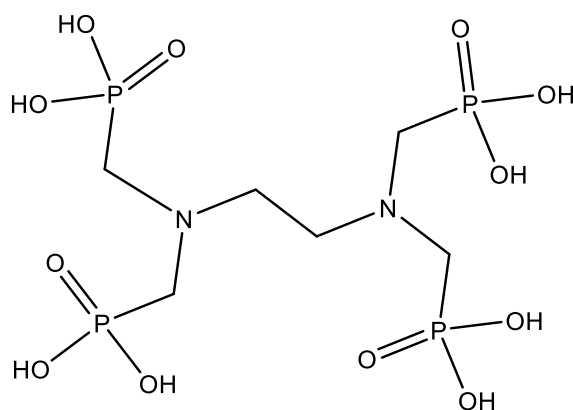
**Rysunek 11.** Struktura kwasu zoledronowego (a) i Foskarnetu (b) [54].

Perzinfotel (Rys.12-a) jest analogiem *N*-metylo-*D*-asparagianu (NMDA) (Rys. 12-b) i dzięki temu działa, jako antagonist receptorów NMDA



**Rysunek 12.** Struktura perzinfotelu (a) i kwasu *N*-metylo-*D*-asparaginowego (b) [54].

Jednym z innych sposobów wykorzystania fosfonianów są ich wielowartościowe pochodne, jak np. kwas etylenodiaminotetrametyleno fosfonowy (EDTMP), (Rys. 13), które są często stosowane, jako czynniki chelatujące jony metali [65].



**Rysunek 13.** Struktura kwasu etylenodiaminotetrametyleno fosfonowego (EDTMP) [54].

## 1.3. Środki ochrony roślin

Ochrona roślin to szczególna dziedzina praktyki rolniczej, która w trakcie realizacji wymaga podejmowania szeregu decyzji i wyborów, mających wpływ nie tylko na zdrowie roślin i sukces ekonomiczny, ale również na bezpieczeństwo wykonywanych zabiegów dla ludzi i środowiska. Mimo ciągłego rozwoju różnych metod ochrony roślin, to jednak środki chemiczne stanowią ciągle najważniejsze narzędzie, ograniczające populacje organizmów szkodliwych dla upraw. Takie działania, jak powszechne stosowanie środków ochrony roślin w rolnictwie, pozwoliło nie tylko lepiej wykorzystać i ustabilizować potencjał plonowania roślin, ale również rozpoznać zagrożenia i zminimalizować ujemne skutki ich stosowania, szczególnie, że w przypadku zaniechania takich zabiegów, straty w plonach mogą wynosić nawet do 100% [66, 67].

Zgodnie z definicją do środków ochrony roślin, zalicza się substancje, albo ich mieszaniny, a także żywe organizmy, których przeznaczeniem jest ochrona roślin uprawnych. Dotyczy to ochrony plonów przed organizmami szkodliwymi, niszczenia niepożądanych roślin i niektórych procesów biologicznych zachodzących w roślinach uprawnych [68].

Środki ochrony roślin zawierają zarówno składniki „obojętne”, ważne dla wydajności i użyteczności produktu oraz „aktywne”, których celem jest zgodnie z Ustawą z dnia 18 grudnia 2003 r. o ochronie roślin (Dz. U. z 2008 r. Nr 133, poz. 849) [69, 70]:

- Ochrona roślin i produktów roślinnych przed organizmami szkodliwymi oraz zapobieganie działaniu takich organizmów, pod warunkiem, że głównym przeznaczeniem tego typu produktów jest utrzymanie właściwej kondycji, a nie ochrona danej rośliny lub jej produktów;
- Oddziaływanie na procesy życiowe roślin, poprzez substancje inne niż substancje odżywcze, będące regulatorami wzrostu;
- Bezpieczeństwo produktów roślinnych w takim zakresie, w jakim substancje te lub środki, nie są zależne od szczególnych przepisów wspólnotowych, dotyczących środków konserwujących;
- Niszczenie niepożądanych roślin bądź niektórych części roślin, a także hamowanie i zapobieganie niepożądanemu wzrostowi roślin z wyłączeniem glonów, pod

warunkiem, że dane środki stosuje się na glebę lub wodę, co ma na celu ochronę roślin;

Biorąc pod uwagę nazewnictwo międzynarodowe, dla wszystkich stosowanych w ochronie roślin związków, przyjęto nazwę– pestycydy (ang. *pesticides*), a sam termin „środki ochrony roślin” jest pojęciem węższym i dotyczy jedynie środków stosowanych w produkcji rolnej. Pestycydy dzielą się na kategorie, których nazwy i zastosowanie przedstawiono w tab. 1 [68, 71].

**Tabela 1.** Podział pestycydów według zastosowań [72].

NAZWA	ZASTOSOWANIE
<b>Zoocydy</b>	Insektycydy Akarycydy Aficydy Nematocydy Rodentycydy Moluskocydy
<b>Herbicydy</b>	Owadobójcze Roztoczobójcze Mszycobójcze Nicienobójcze Gryzoniobójcze Ślimakobójcze
<b>Fungicydy</b>	Chwastobójcze
<b>Regulatory wzrostu</b>	Grzybobójcze
<b>Bakteriocydy</b>	Defolianty Desykanty Defloranty
<b>Atraktanty</b>	Odlistnianie roślin, Wysuszanie roślin, Usuwanie nadmiernej ilości kwiatów.
<b>Repelenty</b>	Bakteriobójcze
	Środki zwabiające
	Środki odstraszające

#### 1.4.1. Herbicydy i sposoby ich klasyfikacji

W ciągu ostatnich 40 lat, nowoczesne herbicydy w dużej mierze zastąpiły ludzką, zwierzęcą i mechaniczną kontrolę chwastów, wnosząc znaczący wkład w wysoką wydajność globalnego rolnictwa. Pomimo sukcesu, herbicydy nie doprowadziły jednak do wyginięcia chwastów, podobnie jak środki owadobójcze nie usunęły szkodników, ani antybiotyki nie wyeliminowały ludzkich patogenów chorobowych. W przypadku działania herbicydów na



rośliny docelowe, jest ono bardzo szybkie i skuteczne, ale tam, gdzie działanie herbicydów jest nieustanne, odporność wśród roślin ewoluuje. Cały proces ewolucyjny, jakim jest nabywanie odporności przez chwasty i jego dynamika, zależą od wielu czynników. Są nimi determinanty genetyczne, jak np. częstotliwość, dominacja i liczba występujących genów odporności, oraz ich przydatność. W przypadku czynników biologicznych, dotyczących bezpośrednio gatunku chwastów, istotne jest zjawisko zapylenia krzyżowego oraz samozapylenia, a także zdolność produkcyjna nasion, ich żywotność w glebie, jak i zdolność do przemieszczania się [73, 74].

Na działanie danego herbicydu wpływa np. obecność specyficznych grup funkcyjnych, a także czynniki środowiskowe, takie jak: pH, temperatura, wilgotność i tekstura gleby [75]. Niektóre herbicydy, które regulują wzrost roślin, działają skutecznie na rośliny dwuliścienne, ale nie na różne gatunki jednoliściennych traw. Na przykład gleba gruboziarnista, sprzyjają szybszemu parowaniu herbicydów tiokarbaminianowych, niż ma to miejsce w glebie gliniastej, cechującej się wilgotnością. Skuteczność tiokarbaminianów może zostać osłabiona przez długotrwałe opady deszczu i zabiegi kultywacyjne [76]. Z kolei skuteczność pestycydów chloroacetamidowych zależy od zawartości substancji organicznych i jakości gleby. Gleba z większą ilością materii organicznej i gliny glebowej wymaga zastosowania większej dawki herbicydu [77].

Triazyny to inhibitory fotosyntezy, które utrzymują się przez długi czas. Aktywność herbicydów triazynowych zależy od pH gleby i zawartości wody. Wzrost pH utrzymuje stabilność herbicydów triazynowych, podczas gdy niskie pH znacznie ją obniża. Herbicydy fosforoorganiczne są inhibitorami aminokwasów i zwykle stosuje się je po wschodach, znajduje to zastosowanie do zwalczania wieloletnich i jednorocznych gatunków traw. Ten rodzaj herbicydów ma charakter nieselektywny i wpływa na każdą żywą tkankę, która ma z nimi kontakt [78]. W kontakcie z glebą substancje te, wiążą się z cząsteczkami gleby i materią organiczną, stając się nieskuteczne w zwalczaniu chwastów. Dla porównania herbicydy sulfonilomocznikowe zaczynają rozkładać się, pod wpływem promieniowania światła UV. Benzonitryle, pochodne kwasu pikolinowego i kwasu benzoowego stosuje się w okresie powschodowym, a pH i woda praktycznie nie mają na nie wpływu. Jednak są one bardziej stabilne przy niższej temperaturze i dużej wilgotności gleby [76, 79].

Biorąc pod uwagę, jak liczną i zróżnicowaną grupą związków są herbicydy, istnieje wiele systemów, które je klasyfikują, stosując różne kryteria podziału. Może być to klasyfikacja według:

a) Mechanizmu działania – zgodnie z Herbicide Resistance Action Commite (HRAC)  
 Sposób działania i budowa chemiczna herbicydu, pozwoliły na ich klasyfikację, koncentrując się na mechanizmie ich działania. Jeszcze w 2019 roku HRAC, opierała się na systemie, w którym każda grupa posiadała kod literowy, co miało ułatwić zainteresowanym wybór środków chwastobójczych kierując się, sposobem działania oraz substancją aktywną obecną w herbicydzie. W 2020 roku, klasyfikacja ta została zmodyfikowana, zastępując kodowanie alfabetyczne na system kodów numerycznych. Nową klasyfikację herbicydów wg HRAC przedstawia tab. 2 [80]. Jednakże, nie wszystkie grupy herbicydów, które znajdują się w tej klasyfikacji, zaakceptowane są w Polsce. Rejestr środków ochrony roślin, które dopuszczone do obrotu reguluje Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Substancje z bazy HRAC, niestosowane w Polsce oznaczono w tab. 2. Symbolem „\*” [81].

**Tabela 2.** Klasyfikacja herbicydów według mechanizmów działania i substancji aktywnej [80].

Nr grupy Wg HRAC	Sposób działania	Grupa	Przykłady substancji aktywnej
1	Hamowanie aktywności karboksylazy acetylo-CoA	Pochodne kwasu arylofenoksy propionowego	Chizalofop-P
		Cykloheksanodiony	Cykloksydym
		Fenylpirazolinoliny	Pinoksaden
2	Hamowanie syntetazy acetylomleczanowej (ALS)	Pyrimidynylobenzoesany*	Bispyribak sodowy*
		Sulfonanilidy	Triafamon
		Triazolopirymidyny –typ 1	Metosulam
		Triazolopirymidyny –typ 2	Forasulam
		Pochodne sulfonylomocznika	Foramsulfuron
		Imidazolinoliny	Imizamoks
3	Hamowanie tworzenia mikrotubul	Triazolinony	Tienkarbazon metylu
		Benzamidy	Fluopikolid
		Pochodne kwasu benzoesowego	Chlortal dimetylowy (DCPA)*
		Dwunitroaniliny	Pendimetalina
		Fosforoamidaty*	Butamifos
4	Naśladownictwo auksyny roślinnej – kwasu indoliloctowego (IAA)	Pyridyny	Tiazopyr*
		Pochodne kwasu benzoesowego	Dikamba
		Pochodne fenoksykwasów	Kwas (4-chloro-2-metylofenoksy)octowy (MCPA)
		Karboksylany fenylu	Chlorfenprop*
		po pochodne kwasu pyridinokarboksylowego	Fluroksypyr
		Karboksylany pirymidyny	Aminocyklopyrachlor*
Inne	Benazolin etylu		

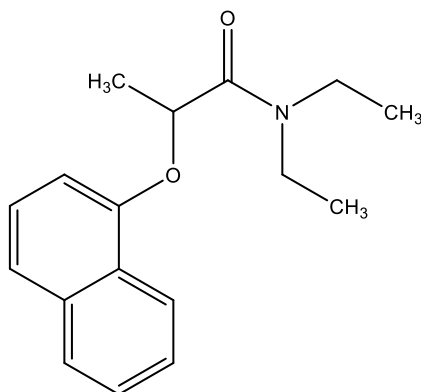
5	Hamowanie fotosyntezy na poziomie fotosystemu II (spoiwa serynowe)	Triazyny	Terbutylazyna
		Triazolinony	Amikarbazon*
		Triazynony	Metrybuzyna
		Uracyle	Lenacyl
		Fenylokarbaminiany	Fenmedifam
		Pyridazinony	Chlorydazon
		Amidy	Pentanochlor
6/24	Hamowanie fotosyntezy na poziomie fotosystemu II (spoiwa histydyny)	Nitryle	Bromofenoksym*
		fenylopirydazyny	Pryridat*
		Benzotiadiazinony	Bentazon
9	Hamowanie enzymu syntazy kwasu 5-endopirogrono-3-fosfoszikiowego EPSP	Pochodne glicyny	Glifosat
10	Hamowanie enzymu syntetazy glutaminowej	Pochodne kwasu fosfonowego (fosfoniany)	Glufosynat amonowy- wycofany
12	Hamowanie syntezy karotenoidów na poziomie funkcjonowania desaturazy fitonowej (PDS)	Etery fenylu	Diflufenikan
		Heterocykle N-fenylowe	Flurochloridon
		Heterocykle difenylowe	Flurtamon*
13	Hamowanie syntazy 5-fosforanu 1-deoksy-D-ksylulozy (DXS),	Izoksazolidynony	Chlomazon
14	Hamowanie enzymu oksydazy protoporfyrinogenowej (PPO)	Dwufenyloetery	Aklonifen
		Fenylopyrazole	Pyraflufen etylowy
		N-fenylo-oksadiazolony	Oksadiazon*
		N-fenylo-triazolinony	Karfentrazon etylu
		N-fenyloimidy	Cynidon etylu*
		Inne	Pyraklonil*
15	Hamowanie biosyntezy kwasów tłuszczowych odługich łańcuchach (VLCFA)	Azolylo-karboksyamidy	Fentazamid
		Benzofurany	Benfuresat*
		Izoksazoliny	Fenoksaulfon*
		Oksyrany	Indanofan*
		Tiokarbaminiany	Wernolatyn*
		Chloroacetanilidy	Metazachlor
		Oksyacetamidy	Flufenacet
		Tioacetamidy	Anilofos*
18	Hamowanie syntazy dihydropteroatowej (DHP)	Karbaminiany	Ansulam
19	Hamowanie transportu auksyn	Arylokarboksylany	Diflufenzopyr*

22	Zakłócenie funkcjonowania fotosystemu I	Pochodne dwupirydyli	Parakwat- wycofany
23	Hamowanie mitozy/orientacji mikrotubuli	Karbaminiany	Karbetamid*
24	Dezorganizacja błon komórkowych	Pochodne dwunitrofenolu	Dinoseb*
27	Hamowanie biosyntezy karotenoidów na poziomie 4-hydroksyfeylo-pyruwato-dioksygenazy (4-HPPD)	Izoksazole	Izoksaflutol
		Pirazole	Topramezon*
		Trójketony	Mezotrion
28	Hamowanie dehydrogenazy 2-hydroorotanowej (DHODH)	Anilidy piroolidynonu aryłowego	Tetflupyroliet*
29	Hamowanie syntezy ściany komórkowej	Alkilazyny	Indaziflam*
		Benzamidy	Izoksaben*
		Nitryle	Dichlobenyl*
		Triazolokarboksamidy	Flupoksam*
30	Hamowanie tioesterazy kwasów tłuszczowych (FAT)	Pochodne eteru benzyłowego	Metiozolin*
31	Hamowanie fosfatazy serynowo-treoninowej	Inne	Endotal*
32	Hamowanie syntazy difosforanu solanesyłowego	Pochodne eteru difenyłowego	Aklonifen
33	Hamowanie solanylotransferazy (HTS)	Fenoksyperydazyny	Cyklopirimorat*
34	Hamowanie cyklazy likopenowej	Triazole	Amitrol*
0	Nienznany	Acetamidy	Napropamid
		Pochodne kwasu arylaminopropionowego	Flamprop-m*
		Benzamidy	Tebutam*
		Pochodne kwasu chlorokarbonowego	Flupropanat*
		Fosforodiozy	Benzulid*
		Trifluorometanosulfonanilidy	Perfluidone*
		Inne	Bromobutyd*

b) Klasyfikacja według terminu stosowania herbicydów

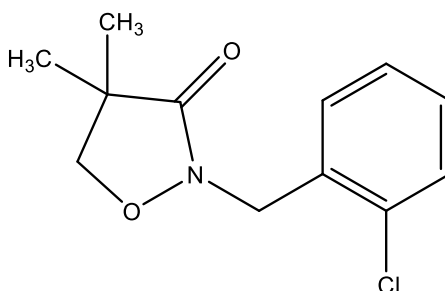
Jednym z bardziej istotnych aspektów, jest termin stosowania herbicydów, warunkujący wysoką skuteczność działania na rośliny. Pozwala to na podział herbicydów na [82]:

- Przedsięwzięte, stosowane przed zasiewami i sadzeniem roślin, np. napropamid (Rys. 14),



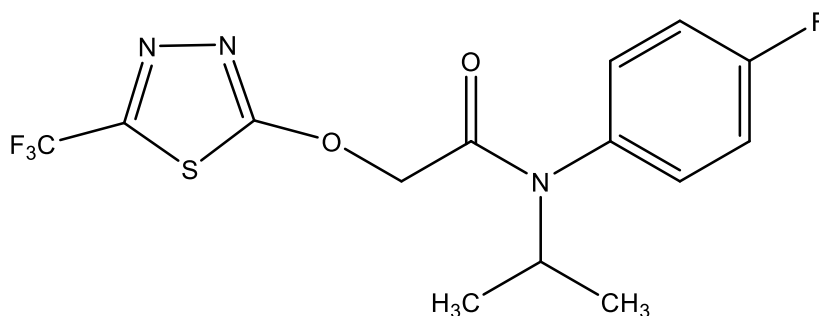
**Rysunek 14.** Struktura chemiczna napropamidu [83].

- Posiewne, aplikowane tuż po siewie rośliny, natomiast przed jej wschodem, np. chlomazon (Rys. 15).



**Rysunek 15.** Struktura chemiczna chlomazonu [84].

- Powschodowe, które wykorzystuje się już po wschodzie rośliny uprawne, np. flufenacet (Rys. 16).



**Rysunek 16.** Struktura chemiczna flufenacetu [85].

Herbicydy przedwzrostowe w większym stopniu kontrolują kiełkowanie chwastów jednoliściennych (gatunki chwastów, należące do rodziny wiechlinowatych), podczas gdy chwasty dwuliścienne były lepiej kontrolowane przez herbicydy powzrostowe [86]. Poza tym w okresie zimowym, skuteczność herbicydów przedwzrostowych jest w znacznym stopniu zależna od suchości powierzchni gleby i warunków pogodowych, takich jak opady, nasłonecznienie i wilgotność [87]. Uważa się również, że herbicydy przedwzrostowe, mogą zapewnić lepszą kontrolę chwastów kosmopolitycznych, czyli występujących powszechnie na znacznych obszarach i na różnych typach gleb oraz zapobiegać zyskiwaniu przez nie odporności na dany herbicyd [88, 89].

c) Klasyfikacja ze względu na sposób stosowania i pobierania substancji przez chwasty  
Termin stosowania herbicydów, jest związany również z fazą rozwojową chwastów, gdzie przed ich wchodami, stosuje się herbicydy doglebowe, po wschodach- herbicydy dolistne, natomiast przed i po wschodach chwastów- herbicydy doglebowo-dolistne, co pozwala na absorbowanie herbicydu odpowiednio przez korzenie, tkanki liściowe, lub oba te elementy jednocześnie [90, 91].

d) Klasyfikacja z uwagi na selektywność danej substancji  
W przypadku metody klasyfikacji herbicydów, na podstawie wspomnianej powyżej selektywności, istotne są dwie właściwości herbicydów, tj. aktywność i selektywność. Aktywność herbicydu związana jest z jego możliwością do niszczenia chwastu, natomiast druga ze zwalczaniem chwastu, bez wpływu na inne gatunki roślin. W związku z tym, wyróżnia się herbicydy selektywne, które zwalczają wybrane gatunki chwastów, oraz herbicydy totalne (nieselektywne), zwalczające wszystkie gatunki roślin, stosowane do odchwaszczania przedwzrostowego albo do desykcji [92].

e) Klasyfikacja ze względu na przemieszczanie się substancji w roślinie  
W zależności od mobilności herbicydów w roślinie, środki ochrony roślin można nazwać systemicznymi tzw. układowymi, gdy są wchłaniane i przemieszczane wewnątrz rośliny, mając zdolność działania w miejscach, które oddalone są od tych, na których osiadł oprysk, albo kontaktowe tzw. parzące, gdy wpływają tylko na tę część rośliny, która miała kontakt z substancją chemiczną [93, 94]. W przypadku herbicydów układowych dowiedziono, że powodują one martwicę, chlorozę, hamowanie syntezy kwasu nukleinowego, lipidów i białek, modyfikację struktur białkowych i blokowanie fotosyntezy roślin, na które są

stosowane [95]. Systemowe herbicydy obejmują simazynę, glifosat, atrazynę, kwas trichlorooctowy (TCA), ditiokarbaminiany, tiokarbaminiany, kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) itp. [96]. W kontakcie z rośliną, herbicydy kontaktowe wchłanianie są minimalne, co powoduje martwicę, chlorozę, wytwarzanie przez roślinę wolnych rodników, hamowanie procesu fotosyntezy i ostatecznie śmierć rośliny [97]. Przykłady herbicydów kontaktowych obejmują m.in. paraquat, dikwat, dinoseb i diklofop. Najczęściej herbicydy systemowe i kontaktowe stosuje się razem, aby uzyskać lepszy i szybszy efekt [98].

#### 1.4.2. Herbicydy aminofosfonowe – glifosat

Herbicydy stosowane są przede wszystkim ze względu na ich wysoką toksyczność wobec roślin oraz ich potencjalnie niższą toksyczność wobec zwierząt, w tym ludzi, jednakże bezpośrednie toksyczne działanie herbicydów na zwierzęta pozostaje poważnym problemem. Mimo, że działanie herbicydu, może być wycelowane w unikalny aspekt biochemii roślin, to jednak oddziaływanie to, może wpływać na organizmy zwierzęce, tak jak ma to miejsce w przypadku glifosatu [99].

Glifosat - *N*-fosfonometyloglicyna, jest aktywnym składnikiem wielu powszechnych, nieselektywnych, dolistnych herbicydów, w tym preparatu o nazwie Roundup® i innych produktów komercyjnych, o działaniu systemicznym [100]. Jest to pochodna fosfonometylowa glicyny, o szerokim spektrum działania, która od dawna stosowana jest w uprawach, oraz jako środek osuszający. Obecnie, najszersze zastosowanie glifosatu polega na zwalczaniu chwastów na polach zmodyfikowanej genetycznie, odpornej na glifosat kukurydzy, bawełny, rzepaku, lucerny i buraków cukrowych. Herbicydy zawierające glifosat są również stosowane w leśnictwie do usuwania drzew liściastych, na korzyść drzew iglastych. Ponadto produkty glifosatu są powszechnie sprzedawane w detalu, w celu zwalczania chwastów i traw w przydomowych ogródkach [99, 101]. Herbicydy na bazie glifosatu, zazwyczaj składają się z *N*-fosfonometyloglicyny, w ilości od 356 do 540g/l produktu oraz różnych dodatkowych adiuwantów i środków powierzchniowo czynnych. Z uwagi na fakt, że rozpuszczalność samego glifosatu w wodzie jest niska, w typowych preparatach dostępnych w handlu, jest on wprowadzany w postaci soli potasowej, sodowej, amonowej, izopropylamoniowej. Ma to na celu poprawę jego rozpuszczalności w wodzie i stabilizację oraz ułatwienie użytkowania produktu [102, 103].

Glifosat jest jedynym herbicydem, który hamuje enzym syntazę 5-enolpirogonylo-szikimo-3-fosforanu (EPSPS), który jest wymagany do syntezy aminokwasów aromatycznych fenyloalaniny, tyrozyny i tryptofanu [104]. Niedobór tych enzymów prowadzi do starzenia się i śmierci komórek roślinnych, poprzez wpływ na funkcje metaboliczne rośliny [95].

Degradacja glifosatu może być przeprowadzona za pomocą środków abiotycznych i biotycznych, np. absorpcji, fotolizy, termolizy i biodegradacji za pomocą enzymów katabolicznych, jak również promieniowanie ultrafioletowe (UV). Glifosat jest rozkładany do kwasu aminometylofosfonowego (AMPA), który może mieć większy wpływ na procesy biochemiczne w organizmach niż substancja wyjściowa [105].

Od czasu pojawienia się upraw odpornych na glifosat, w połowie lat 90. XX wieku, jego stosowanie w rolnictwie stale rośnie. W 2020 r. glifosat stanowił prawie 21% całkowitego rynku herbicydów stosowanych na rośliny uprawne. Choć dane dotyczące pozarolniczego stosowania pestycydów są nieliczne, szacuje się, że 10% glifosatu służy do zastosowań pozarolniczych, takich jak usuwanie roślinności miejskiej, czy przemysłowej. Szybkie wdrożenie systemów upraw odpornych na glifosat (glyphosate-resistan, GR) lub tzw. „Roundup Ready” wywarło istotny wpływ na rolnictwo, poprzez obniżenie kosztów produkcji i ograniczenie erozji wierzchniej warstwy gleby, automatycznie przyczyniając się do rozwoju i zwiększenia technologii GR [97, 106]. Generowanie oporności na dany herbicyd wśród roślin, obejmuje różne mechanizmy. Rozwój upraw GR został wywołany n.in. przez zapylenie krzyżowe, różnorodność genetyczną, produkcję nasion i rozproszenie ich na dużym obszarze. W celu osiągnięcia odporności, rośliny transformowano przez włączenie genu syntazy 5-enolpirogonylo-szikimo-3-fosforanu, ponieważ jego nadekspresja pomaga w stabilności enzymu [107]. *Agrobacterium sp.* szczep CP4, z którego izolowany jest odporny na glifosat enzym EPSPS, wykazał wysoki wskaźnik powodzenia w wytwarzaniu tego typu roślin [108]. Odporność na herbicydy nie jest jedynie cechą roślin uprawnych GR. Nadmierne poleganie na powszechnie stosowanych chemicznych herbicydach, doprowadziło do nabycia takiej odporności również u różnych gatunków chwastów, generując zwiększoną potrzebę stosowania glifosatu, jako głównej substancji czynnej w herbicydach [109, 110].

Powszechne stosowanie glifosatu i pojawienie się upraw odpornych na jego działanie, skłoniło wielu naukowców do ustalenia, czy glifosat jest potencjalnie szkodliwy dla zdrowia ludzkiego oraz w jaki sposób, wpływa on na środowisko. Choć uważa się, że glifosat ma ograniczoną ruchliwość w glebie, stwierdza się jego obecność w systemach



wodnych, w glebie, jak i powietrzu, zarówno na obszarach rolniczych, jak i pozarolniczych [111, 112]. Rośnie również obawa o możliwy wpływ glifosatu na zdrowie podczas produkcji, transportu i stosowania tego herbicydu [113]. Również poprzez spożycie produktów spożywczych, w której znajdują się pozostałości glifosatu, takich jak mięso, owoce i warzywa, ludzie mogą być narażeni na jego działanie w sposób pośredni. Według Organizacji Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) ilość pozostałości tej substancji w żywności, musi mieścić się w przedziale 0,025-2 mg/kg, w zależności od rodzaju żywności [114, 115]. Ograniczenia stosowania glifosatu zostały już określone w niektórych regulacjach dotyczących produkcji roślin spożywczych, takich jak np. owies zwyczajny (*Avena sativa L.*) [116].

Pierwsze doniesienia o szkodliwości glifosatu pojawiły się w 2015 r., kiedy został sklasyfikowany przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem, jako „prawdopodobny czynnik rakotwórczy” [112]. Z drugiej strony, badania przeprowadzone w 2018 r. przez US Cancer Institute nie wykazały związku między herbicydami na bazie glifosatu a nowotworami [117]. Co więcej, instytucje zajmujące się regulacją rynku pestycydów, a w szczególności Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska (EPA) i Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) utrzymują, że herbicydy na bazie glifosatu nie są prawdopodobnie rakotwórcze i że nie występuje ryzyko, związane z jego użyciem w produkcji rolnej [118, 119]. Niemniej jednak, badania przeprowadzone w 2016 i 2019 roku, służyły ograniczeniu zastosowania glifosatu, poprzez wykazanie związku między ekspozycją na glifosat a chłoniakiem nieziarniczym [106, 120, 121]. Ze względu na niekorzystny wpływ na ekologię i zdrowie ludzkie, a także rozwój oporności chwastów i oporności bakterii na środki przeciwdrobnoustrojowe, stosowanie preparatów na bazie glifosatu w ostatnich latach zostało ograniczone lub zakazane w około 20 krajach, w tym m.in. w Austrii, Belgii, Danii, Francji, Holandii, Czechach i Włoszech [113, 122]. W kolejnych latach, zawartość glifosatu i AMPA w wodach powierzchniowych i gruntowych, otaczających obszary zlewisk rolniczych, ogrodniczych lub winiarskich może wzrosnąć, ze względu na spływające opady deszczu i niekontrolowaną depozycję aerozoli [123, 124]. Według Rozporządzenia Wykonawczego Komisji (UE) 2022/2364 z 2 grudnia 2022 r., zezwolenie na stosowanie glifosatu, jako substancji czynnej w środkach ochrony roślin, upływa 15 grudnia 2023 roku. Przy czym substancja ta, nadal znajduje się na liście do zastąpienia. W związku z tym, oczekuje się na pojawienie alternatywnych rozwiązań, które mogłyby zastąpić herbicydy glifosatowe [125].

Glifosat i preparaty użytkowe, są dobrze udokumentowanymi substancjami zaburzającymi funkcjonowanie układu hormonalnego. Doniesiono, że hamuje on aktywność niektórych hormonów m.in.: aromatazy, estrogenu, czy testosteronu [126, 127]. Z kolei w przypadku mysiego hormonu folikulotropowego (FSH) i hormonu luteinizującego (LH), w badaniach *in vivo*, na skutek działania glifosatu, ich poziom wzrastał [103]. Należy zauważyć, że pomimo opisanych powyżej badań, Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności stwierdził, że glifosat nie ma właściwości zaburzających funkcjonowanie układu hormonalnego [128]. Dowiedziono, że glifosat może mieć działanie kardiotoksyczne, co związane jest z opóźnieniem przewodzenia śródkomorowego i częstoskurczem komorowym. Zmiany te mogą prowadzić do rozwoju zagrażających życiu arytmii [129]. Niewiele badań oceniało związek między chorobami neurologicznymi a ekspozycją na glifosat, jednak badania przeprowadzone przez Von Ehrenstein i in. (2019), stwierdzili związek pomiędzy oddziaływaniem glifosatu w fazie prenatalnej a zaburzeniami ze spektrum zaburzeń autystycznych (ASD) u dzieci [130]. Glifosat może wywoływać neurotoksyczność w sposób zależny od dawki u szczurów, modulując ich układ serotonergiczny, dopaminergiczny i noradrenergiczny. Oprócz glifosatu, AMPA ma również zdolność wywoływania cytotoksycznego wpływu na układ rozwoju neuronów poprzez stres oksydacyjny i śmierć ludzkich neuroblastów SH-SY5Y [131].

Analiza badań, zajmujących się zależnością pomiędzy glifosatem a nowotworami, wykazała, że istnieją wyraźne dowody na to, że glifosat powoduje naczyniakomięsaki, guzy nerek i złośliwe chłoniaki u samców myszy CD-1 oraz naczyniaki krwionośne i złośliwe chłoniaki u samic myszy CD-1, a ponadto gruczolaki nerek i wątroby, rogowiaki kolczystokomórkowe skóry, a także guzy podstawnocomórkowe skóry u samców szczurów rasy Sprague-Dawley oraz raka kory nadnerczy u samic szczurów Sprague-Dawley. Istnieją także wyraźne wskazania, że glifosat powoduje gruczolaki wątrobowokomórkowe i rogowiaki kolczystokomórkowe skóry u samców szczurów Wistar, guzy komórek śródmiąższowych jąder u samców szczurów Sprague-Dawley. Obserwowano również gruczolaki przysadki u samców i samic szczurów Wistar oraz gruczolaki i raki gruczołu sutkowego u samic szczurów Wistar [132].

Ekotoksyczność glifosatu w wodzie jest nadal przedmiotem kontrowersji. Najpopularniejsza opinia jest taka, że herbicydy glifosadowe są przyjazne dla środowiska, nawet, jeśli są stosowane do zwalczania szkodliwych chwastów wodnych [73]. Jednak kilka nowszych doniesień zdecydowanie obaliło ten pogląd, wskazując na brak równowagi ekosystemu wodnego, co może prowadzić do przewagi wzrostu niektórych gatunków, takich

jak sinice [133, 134]. Wykazano również, że glifosat wywołuje szeroko zakrojone skutki toksyczne u gatunków wodnych niebędących przedmiotem zwalczania, w tym bakterii, pierwotniaków i skorupiaków. Choć przeprowadzono wiele testów toksykologicznych na tych pojedynczych gatunkach, ekotoksyczność glifosatu jest znacznie bardziej skomplikowana w przypadku zbiorowisk drobnoustrojów wodnych niż w przypadku pojedynczych gatunków [135]. W przeciwieństwie do wielu zanieczyszczeń, glifosat jest również uważany za rodzaj źródła fosforu, który odgrywa kluczową rolę we wzroście glonów. Dlatego też, lepsze zrozumienie dostępności fosforu jest niezbędne do zrozumienia toksyczności glifosatu. Glony mogą regulować zdolność wchłaniania tego pierwiastka w różnych warunkach. Badania wskazują, że *M. aeruginosa* może wykorzystywać glifosat, jako źródło fosforu, w środowisku o jego niskiej zawartości, a także może przyczyniać się do wzrostu innych glonów pod wpływem ekspozycji na glifosat [121]. Badania donoszą także, że ścieki o wysokim stężeniu glifosatu i chlorku sodu, uwalniane podczas produkcji są niezwykle trudne do oczyszczenia, co stanowi potencjalne długoterminowe zagrożenie dla zdrowia ludzi i środowiska, ze względu na ich utrzymywanie się w wodzie i glebie [136]. Wykazano, że glifosat wywołuje oporność na antybiotyki u bakterii, takich jak *Escherichia coli* i *Salmonella enterica serovar Typhimurium* [137]. Niedawno zwrócono uwagę również na globalne implikacje, w zakresie rozwoju oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe bakterii glebowych, w wyniku lokalnych zastosowań pestycydów, takich właśnie jak glifosat [138].

Toksyczny wpływ herbicydów na bazie glifosatu na zwierzęta wodne, nie jest wyłącznie wynikiem działania samej, czystej substancji, ale i adiuwantów, jakimi są np. środki powierzchniowo czynne [139]. Surfaktanty dodaje się w celu zmniejszenia napięcia powierzchniowego na kropelkach oprysku i ułatwienia penetracji glifosatu do roślin lądowych. Badając wpływ samego glifosatu, produktu Roundup® oraz substancji ułatwiającej przenikanie glifosatu do roślin w preparatach zawierających glifosat - POEA – (polietoksylogowana amina łojowa), na różne gatunki modelowe wybrane z ekosystemów wodnych, m.in. bakterie (*Aliivibrio fischeri*), mikroalgi (*Selenastrum capricornutum*, *Skeletonema costatum*) i skorupiaci (*Ceriodaphnia dubia*, *Acartia tonsa*), stwierdzono, że to właśnie POEA jest najbardziej toksycznym związkiem [140, 141]. Inne badania, z użyciem samego glifosatu i kilkunastu badanych herbicydów z *N*-fosfonometyloglicyną w składzie, wykazało cytotoksyczność względem *Aliivibrio fischeri*, zarówno w badaniach toksyczności ostrej, jak i przewlekłej jedynie gotowych preparatów. Większość z nich wykazywała bezpośrednią aktywność hormonalną, przy rozcieńczeniu, o co najmniej jeden rząd

wielkości niższym, od rozcieńczeń zalecanych w instrukcjach stosowania w rolnictwie i gospodarstwach domowych. Glifosat, jako składnik aktywny oraz AMPA nie wykazały żadnych skutków toksycznych [132].

Preparaty użytkowe na bazie glifosatu, zostały również uznane za toksyczne dla innych organizmów żywych, takich jak płazy, ryby, gady, czy ptaki [142, 143]. Uwzględniając okresy lęgowe gadów, płazów i ptaków w czasie intensywnego stosowania pestycydów (wiosna i lato), należy zwrócić uwagę na wczesną fazę rozwoju tych organizmów. Nie bez znaczenia jest również budowa gniazd, do których wykorzystywany jest materiał roślinny z upraw narażonych na działanie pestycydów [144]. Poza tym zanieczyszczenia zakumulowane w ciele matki mogą przedostawać się do zarodka przez żółtko, wpływając również na rozwój embrionalny [145]. Badania dowodzą, że w przypadku przepiórek, u których badanie polegało na ocenie nowo wyklutych piskląt z jaj, które były narażone na działanie glifosatu lub Roundup®, obserwowano wady wylęgu, zmiany histologiczne i brak równowagi biochemicznej [146]. Również w innych badaniach odnotowano spadek współczynnika wylęgania się piskląt z jaj kurzych, które poddano ekspozycji na Roundup® [147]. W przypadku płazów i gadów, ekspozycja na herbicydy z udziałem glifosatu, również generowała szereg negatywnych skutków, które obejmowały zmiany na różnych etapach rozwoju płazich zarodków i narządów, takich jak wątroba, mózg, czy nabłonek. Zmiany w tkankach obejmowały działanie teratogenne oraz nieprawidłowości w rozwoju czaszkowo-twarzowym i ocznym [148, 149].

W związku z powyższymi doniesieniami, istnieje pilna potrzeba opracowywania nowych herbicydów oraz ich form użytkowych, które byłyby przyjazne dla środowiska, i zapewniły opóźnione i stopniowe uwalnianie zawartych w nich aktywnych związków na odpowiednim poziomie. Zastosowanie systemów kontrolowanego uwalniania herbicydów, poprawiłoby skuteczność zabiegów agrotechnicznych, poprzez stopniowe uwalnianie mniejszych ilości herbicydów, minimalizując straty związane z zbędną intoksykacją środowiska tymi substancjami. Przykładem może być preparat użytkowy glifosatu, połączony w jednej formule z chitozanem. Powszechnie wiadomo, że wszystkie preparaty chwastobójcze są mieszaninami składników aktywnych z adiuwantami w celu zwiększenia ich działania. Zastosowanie chitozanu spełnia w tym układzie podwójną rolę. Pierwszą z nich jest jego funkcja, jako przyjaznego dla środowiska adiuwantu, drugą - nośnik polimerowy do przedłużonego uwalniania glifosatu [150]. Również zastosowanie chininy, jako dodatku do glifosatu okazało się skuteczne w przypadku roślin wrażliwych na glifosat. Chinina jest metabolitem wtórnym, powstałym w bocznej gałęzi szlaku szikimowego.

Wykrycie niektórych efektów fizjologicznych po zastosowaniu chininy, zwiększyło możliwość stosowania tego związku w połączeniu z glifosatem, w celu zwiększenia skuteczności herbicydu i zmniejszenia dawek glifosatu w zwalczaniu szarłatu Palmera (*Amaranthus palmeri* S.) [151]. Inną drogą mogą być również modyfikacje chemiczne w obrębie cząsteczki glifosatu, jak np. C-podstawione pochodne, analogi N- [arylo(fosfono)metylo]glicyny [152].

#### 1.4.3. Herbicydy siarkowe

Wzrost produkcji roślinnej można osiągnąć poprzez zwiększenie plonów i zminimalizowanie ich strat. Nawozy i inne dodatki do upraw pomagają uzyskać wyższy plon, a substancje takie jak: herbicydy, czy fungicydy, pomagają zminimalizować utratę plonów, zarówno przed, jak i po zbiorach. Siarka jest jednym z pierwiastków niezbędnych do produkcji roślinnej, warunkując uzyskanie wysokiej jakości plonu. Jest uważana zaraz za azotem, fosforem i potasem, za główny makroskładnik pokarmowy (wraz z wapniem i magnezem), pod względem znaczenia dla produktywności upraw. Siarka jest również niezbędnym pierwiastkiem w syntezie chlorofilów, będących fotoreceptorami w procesie fotosyntezy. Ponadto, wchodzi w skład dwóch aminokwasów: cysteiny i metioniny, niezbędnych do syntezy białek roślinnych. Rośliny zawierają również wiele innych organicznych związków siarki, takich jak glutation, sulfolipidy, które odgrywają ważną rolę w fizjologii i ochronie przed stresem środowiskowym i szkodnikami [153].

Siarka jest pobierana przez rośliny w postaci mobilnego w glebie anionu siarczanowego, podatnego na utratę w wyniku wymywania lub ulatniania się, podobnie jak azotan. Objawy niedoboru tego pierwiastka, są różne w zależności od rodzaju uprawy. Zewnętrzna suplementacja siarki, jako nawozu jest wymagana, gdy gleba nie jest w stanie zaspokoić zapotrzebowania roślin uprawnych na ten pierwiastek [154].

Substancje, które w swojej strukturze zawierają atom siarki, ze względu na swoje właściwości, znalazły zastosowanie, jako terapeutyki, a także dolistne i doglebowe środki ochrony roślin. Oprócz działania przeciwalergicznego, przeciwbakteryjnego i przeciwbólowego można wykorzystać je, jako środki grzybobójcze, owadobójcze oraz chwastobójcze. Siarka jest najstarszym, stosowanym środkiem do zwalczania szkodników. Jest także niesystemicznym fungicydem kontaktowym i ochronnym, o wtórnym działaniu roztoczobójczym, najpowszechniej stosowanym do zwalczania zgnilizny brunatnej, mączniaka prawdziwego liści, mączniaka rzekomego itp.

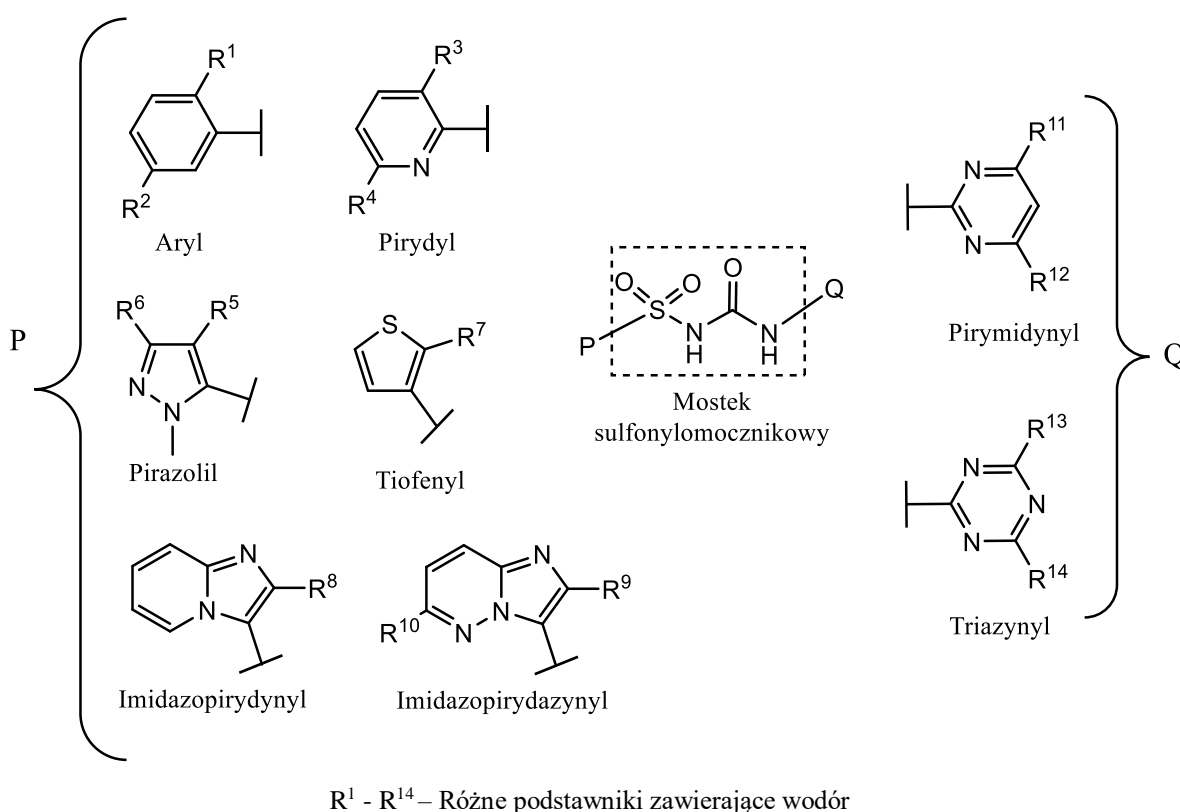
W przypadku substancji siarkowych, atom siarki może znajdować się poza pierścieniem lub stanowić jego element. Przykładem jest tiofen- związek chemiczny, należący do grupy heterocyklicznych związków aromatycznych, zawierający siarkę, jako heteroatom [155].

Biodegradowalność, fotodegradacja, trwałość, stabilność w glebie oraz akumulacja herbicydów zawierających siarkę w organizmach żywych, to obszary znajdujące się obecnie w fazie intensywnych badań [156, 157]. Większość pestycydów zawierających ten pierwiastek, to w rzeczywistości pestycydy podlegające aktywacji metabolicznej w wyniku reakcji obejmujących lub inicjowanych przez utlenianie. Przemiana metaboliczna siarczków w sulfotlenki i sulfony również zmienia reaktywność, rozpuszczalność i łatwość translokacji pestycydów z udziałem siarki. Zatem wprowadzenie ugrupowania zawierającego ten pierwiastek może zwiększyć selektywność danego herbicydu, a czasami również zmniejszyć jego toksyczności dla ssaków. Wprowadzenie siarki do biologicznie aktywnej cząsteczki, może radykalnie zmodyfikować jej aktywność biologiczną, wpływając np. na wiązanie się z docelowym receptorem lub enzymem albo transport bioaktywnej cząsteczki do miejsca docelowego. Wiele herbicydów, zwłaszcza fosforoorganiczne i ich estry, są podatne na hydrolizę w glebie zwłaszcza o wysokim pH. Hydroliza jest główną metodą degradacji herbicydów sulfonylomocznikowych, które tracą w ten sposób swoją aktywność chwastobójczą [153].

Herbicydy sulfonylomocznikowe są stosowane od lat 80-tych. Obecnie dostępnych jest co najmniej 31 aktywnych związków z rodziny sulfonylomoczników. Herbicydy sulfonylomocznikowe zostały opracowane i wprowadzone na rynek na całym świecie dla głównych upraw rolniczych, w tym pszenicy, jęczmienia, owsa, ryżu, kukurydzy, soi, rzepaku, lnu, czy buraków cukrowych, charakteryzując się szerokim spektrum zwalczania chwastów dwuliściennych i niektórych traw, przy bardzo niskich dawkach stosowania (2–75g/ha). Wpływ herbicydów sulfonylomocznikowych na zdrowie człowieka przy niskich dawkach środowiskowych lub na poziomach biomonitorowanych w wyniku niskiego narażenia środowiskowego nie jest znany. Herbicydy te, wykazują na ogół niską toksyczność ostrą i chroniczną wobec ssaków. Są aktywne zarówno przed, jak i powschodowe, i mogą być pobierane zarówno przez korzenie, jak i pędy, łatwo ulegając translokacji zarówno w ksylemie, jak i w łyku. Działanie herbicydów sulfonylomocznikowych opiera się na hamowaniu syntazy acetylomleczanowej (ALS), prowadząc do zahamowania biosyntezy aminokwasów: izoleucyny, leucyny oraz waliny przez rośliny. Hamowanie to prowadzi do szybkiego zaprzestania podziału komórek

roślinnych, a w efekcie wzrostu rośliny. Podstawową zaletą tego typu herbicydów, jest ich wysoka skuteczność, znikomy wpływ na środowisko oraz bezpieczeństwo użycia. Herbicydy te, charakteryzuje również wysoka trwałość, mała lotność i niska toksyczność wobec ssaków [80].

Wszystkie dostępne w handlu herbicydy sulfonilomocznikowe zawierają centralny mostek sulfonilomocznikowy  $[-SO_2 - NH - CO - NH-]$  z siarką związaną z *ortho*-podstawionym ugrupowaniem aryłowym lub heteroaryłowym oraz azot mocznikowy związany z azotem zawierającym heterocykl triazynyłowy lub pirymidynyłowy. Dlatego herbicydy te, należą do dwóch rodzajów struktur chemicznych, określonych przez ugrupowanie aminoheterocykliczne, tj. analogi sulfonylo-3-pirymidynowe i sulfonylo-3-s-triazynowe (Rys. 17) [158].



**Rysunek 17.** Ogólna struktura handlowych herbicydów sulfonilomocznikowych: gdzie P jest *ortho* podstawionym aryłem, heteroaryłem: pirydylem, pirazolilem, tiofenylem, imidazopirydynylem, imidazopirydynylem; a Q jest podstawione heterocyklem pirymidynowym i triazynowym [158].

Badania chlorsulfuronu i sulfosulfuronu na aktywność enzymatyczną gleb, wykazały zmiany Zastosowanie obu herbicydów sulfonilomocznikowych zmieniało aktywność celobiohydrolazy, arylosulfatazy, dehydrogenazy, fosfatazy i hydrolazy FDA. Chlorsulfuron powodował większe zaburzenia aktywności enzymatycznej niż sulfosulfuron, a zmiany występowały głównie w ciągu pierwszych 28 dni jego stosowania [159].

**Tabela 3.** Herbicydy zawierające atom siarki [160].

Nazwa	Stosowanie	LD <sub>50</sub> mg/kg	Wybrane chwasty wrażliwe
Amidosulfuron	Dolistnie	>5000	Przytulia czepna, jęczmień ozimy
Asulam	Dolistnie	>4000	Wiechlina roczna, kłosówka wełnista
Benazolin	Dolistnie	>5000	Gorczyca polna, przytulia czepna
Bentazon	Dolistnie	1400-1800	Chaber bławatek, dymnica pospolita
Kletodym	Dolistnie	1630	Miotła zbożowa, owies głuchy
Chlorosulfuron	Dolistnie/doglebowo	>5000	Jasnota różowa, rumian polny
Cykloat	Doglebowo	2000	Palusznik krwawy, pokrzywa żegawka
Cykloksydym	Dolistnie	4420	Miotła zbożowa, owies głuchy
Etofumesat	Dolistnie/doglebowo	>5000	Bniec biały, dymnica pospolita
Florasulam	Dolistnie	>5000	Mak pospolity, maruna bezwonna
Flufenacet	Dolistnie/doglebowo	1617	Głównie chwasty jednoliścienne
Flupyr sulfuron	Dolistnie	>5000	Wyczyniec polny
Foramsulfuron	Dolistnie	>5000	Perz właściwy, fiołek polny
Isoxaflutole	Dolistnie/doglebowo	>5000	Fiołek polny, gorczyca polna
Iodosulfuron	Dolistnie	2678	Szarłat szorstki, życica trwała
Metosulam	Dolistnie/doglebowo	>5000	Psianka czarna, rdest plamisty
Metribuzin	Doglebowo	2200	Rumianek pospolity, tobołki polne
Mezosulfuron	Dolistnie	>5000	Owies głuchy, gorczyca polna
Mezotrion	Dolistnie	>5000	Fiołek polny, komosa biała
Nikosulfuron	Dolistnie	>5000	Rdest ptasi, szczaw polny
Pirydat	Dolistnie	>2000	Bodziszek drobny, wyki
Prometryn	Dolistnie/doglebowo	5233	Poziewnik szorstki, sporek polny
Propoksykarbazon sodu	Dolistnie	>5000	Gatunki jednoliścienne
Rimsulfuron	Dolistnie	>5000	Ostrożeń polny, wyczyniec polny



<b>Setoksydim</b>	Dolistnie	3200	Samosiewy zbóż, perz właściwy
<b>Sulfosulfuron</b>	Dolistnie	>5000	Dymnica pospolita, stulicha psia
<b>Sulkotrion</b>	Dolistnie	>5000	Komosa biała, tasznik pospolity
<b>Terbutryn</b>	Dolistnie/doglebowo	2500	Rogowica pospolita, wyczyńiec polny
<b>Tifensulfuron</b>	Dolistnie	>5000	Pięciornik gęsi, szarłat szorstki
<b>Triallat</b>	Doglebowo	1100	Owies głuchy
<b>Triasulfuron</b>	Dolistnie/doglebowo	>5000	Niektóre gatunki jednoliścienne
<b>Tribenuron</b>	Dolistnie	>5000	Gwiazdnica pospolita, mlecz polny
<b>Triflusulfuron-metylu</b>	Dolistnie	>5000	Blekot pospolity, rdest plamisty

# **CEL I ZAKRES PRACY**

## 2.1. Cel i tezy pracy

Celem przeprowadzonych badań była synteza:

- a) C-tienylo podstawionych fosfonowych analogów glicyny, (estrów dialkilowych i diarylowych wybranych kwasów aminofosfonowych)
  - b) wybranych C- arylowych pochodnych *N*-(fosfonometylo)glicyny,
- oraz wstępna ocena ekotoksykologiczna wszystkich otrzymanych związków.

Główną tezą pracy jest założenie, że pochodne aminofosfonowe będą charakteryzować się niską fitotoksycznością wobec roślin uprawnych, posiadając jednocześnie właściwości chwastobójcze (mogą być potencjalnie herbicydami), tym samym będą wykazywać właściwości selektywne, przy czym bardziej wrażliwymi na działanie syntezowanych aminofosfonianów będą rośliny dwuliścienne (chwasty). Związki te, będą charakteryzować się również niską ekotoksycznością wobec organizmów wodno-łądowych z różnego poziomu łańcucha troficznego, co nie spowoduje zbędnej, dodatkowej intoksykacji środowiska.

## 2.2. Zakres pracy

Praca obejmuje wykorzystanie związków chemicznych, spośród wybranych C-arylowych pochodnych N-fosfonometylo-glicyny, C-tienylo podstawionych pochodnych fosfonowych analogów glicyny, (estrów dialkilowych i diarylowych), a także badania biologiczne tych związków, które obejmują:

- a) Badania fitotoksyczności, na roślinach wyselekcjonowanych w oparciu o przewodnik OECD 208 Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test (jednoliścienny owies zwyczajny (*Avena sativa L.*) i dwuliścienna rzodkiewka zwyczajna (*Raphanus sativus L.*)
- b) Badania własności herbicydowych, przyznane na podstawie skali Europejskiej Rady ds. Badań nad Chwastami (EWRC), z użyciem trzech gatunków roślin, popularnie uznawanych za chwasty, takich jak: żóltlica drobnokwiatowa (*Galinsoga parviflora Cav.*), szczaw zwyczajny (*Rumex acetosa L.*) i komosa biała (*Chenopodium album L.*).
- c) Badania ekotoksykologiczne, z użyciem mikrobiotestów na organizmach wodnych, z różnych poziomów troficznych z użyciem bakterii *Allivibrio fischeri* (Microtox Test), jako przedstawiciela wód morskich, oraz skorupiaków *Heterocypris incongruens* (Ostarcodtoxkit Test), jako przedstawiciela wód słodkich.

**CZĘŚĆ**  
**DOŚWIADCZALNA**

A decorative graphic at the bottom of the page consisting of overlapping, semi-transparent green shapes in various shades, creating a sense of depth and movement. The shapes are primarily horizontal and wavy, resembling stylized waves or a modern landscape.

## 3.1. Materiały wykorzystywane w pracy

### 3.1.1. Materiały dotyczące części chemicznej

Odczynniki (Sigma Aldrich), wykorzystane do syntezy aminofosfonianów były oczyszczone i suszone przed każdą syntezą:

- 2-anizydyna
- 2-furanokarboaldehyd
- 2-metoksyfenol
- 2-toluidyna
- 3- nitrobenzaldehyd
- 3-anizydyna
- 3-metoksyfenol
- 3-toluidyna
- 4- nitrobenzaldehyd
- 4-anizydyna
- 4-metoksyfenol
- 4-toluidyna
- dibenzyl
- ester metylowy chlorowodoru glicyny
- ferrocenokarboaldehyd
- fosfonian difenylu
- fosfonian dimetylu
- fosfonian dibenzylu
- tiofeno-2-karboaldehyd
- trietyloamina

Rozpuszczalniki, użyte do syntezy:

- acetonitryl
- chlorek metylenu

- dimetylosulfotlenek
- metanol
- toluen

### 3.1.2. Materiały wykorzystane w części biologicznej

- Gleba o składzie granulometrycznym: 77% piasku; 19% pyłu i łu; 1,8% zawartość materii organicznej; pH – H<sub>2</sub>O dla kwasowości czynnej 5,9; pH – KCl dla kwasowości wymiennej 5,5; zasolenie 84 mg KCl/l [161–164].
- Badania fitotoksyczności przeprowadzono z udziałem roślin wskazanych przez przewodnik OECD 208: jednoliściennej owsa zwyczajnego (*A. sativa*) i dwuliściennej rzodkiewki zwyczajnej (*R. sativus*) [165].
- Wybór takich gatunków roślin, uwarunkowany jest przede wszystkim ze względu na przynależność do różnych klas systematycznych, jak popularnością tych roślin oraz ich znaczeniem dla człowieka (cel spożywczy), jak i gospodarki rolnej. Ziarno owsa, pozbawione łuski, znacznie przewyższa wartością odżywczą pozostałe gatunki zbóż, natomiast rzodkiewkę cechują walory prozdrowotne i smakowe. W celu rzetelności badań porównawczych, stosowano zawsze ten sam gatunek roślin, od tego samego producenta. W przypadku owsa zwyczajnego, stosowano odmianę jarą, natomiast nasiona pochodziły z małopolskiej Hodowli Roślin Hbp. Sp. Z O.O. - Stacja Hodowli Roślin Nieznanice. W przypadku rzodkiewki zwyczajnej, stosowana była odmiana wczesna - „Mila” firmy Legutko.
  - **Owies zwyczajny** (*A. sativa*), gatunek jednorocznego zboża z rodziny wiechlinowatych, osiągający do 110 cm wysokości (Rys. 18). Kiełkuje w temperaturze 2-3°C powyżej zera, po 8-12 dniach od siewu, natomiast w warunkach kontrolowanych, w temp 22°C - już po 3-4 dniach). Występuje w formie jarej i ozimej. Ze względu na klimat, w Polsce uprawia się głównie odmianę jarą a zbiory występują na przełomie lipca oraz sierpnia. Korzenie owsa charakteryzują się dużą zdolnością do pobierania składników pokarmowych obecnych w glebie, w formie trudno dostępnej dla innych roślin. Owies dobrze znosi silne zakwaszenie gleby, tj. w granicach pH od 4,5 do 7,2, z uwagi na niską wrażliwość na niedobory wapnia i duży zakres tolerancji na nadmiar jonów glinu oraz manganu. Charakterystyczną cechą owsa, ze względu na wysoki współczynnik transpiracji, jest duże zapotrzebowanie na wodę.

- **Rzodkiewka zwyczajna** (*R. sativus*), to jednoroczna lub dwuletnia roślina z rodziny kapustowatych, o wysokości około 15-20 cm, natomiast wraz z pędem kwiatostanowym osiąga do 120 cm (Rys. 18). Kiełkuje po 4-6 dniach od siewu, w temperaturze 2°C (w warunkach kontrolowanych, w temp 22°C kiełkuje po 2-3 dniach od siewu) – z napęczniałego pod wpływem wilgoci nasiona w pierwszej kolejności kiełkuje korzeń palowy, a następnie łodyżka z sercowatymi liścieniami. Przy dobrej wilgotności gleby, zarówno korzeń, jak i liścienie wzrastają w odpowiednim tempie, a część położona na ich styku grubieje. W miarę wzrostu, powstaje miękisz zgrubienia. Roślina ta, ma silne zdolności do magazynowania szkodliwych związków w korzeniach i źle znosi silne zakwaszenie. Tolerowane przez nią pH gleby waha się od 6,1 do 7.



**Rysunek 18.** Owies zwyczajny (*A. sativa*) i rzodkiewka zwyczajna (*R. sativus*) [166, 167].

- Badania właściwości chwastobójczych (herbicydowych) przeprowadzono z użyciem popularnych chwastów: żóltlica drobnokwiatowa (*Galinsoga parviflora*), szczaw zwyczajny (*Rumex acetosa*) i komosa biała (*Chenopodium album*). Nasiona zbierano na obszarach polnych i przydomowych, a następnie poddano procesowi stratyfikacji. Jest to jedna z metod przerywania spoczynku nasion, mająca przyspieszyć i wyrównanie kiełkowania nasion. W tym celu przetrzymywano nasiona w niskiej temperaturze (0-7°C) przez około miesiąc. Wybór tych chwastów był podyktowany faktem, że są one jednymi z najbardziej uciążliwych i niepożądanych gatunków roślin, uniemożliwiającymi optymalną produkcję w gospodarstwach rolnowarzywnych [168].
- **Szczaw zwyczajny** (*R. acetosa*), to wieloletnia roślina, która powszechnie występuje w Europie, Azji i północnej Afryce (Rys. 19). Liście szczawiu zwyczajnego są zielone, długie i wąskie, a kwiaty mają kolor brązowy lub kremowy i są zgromadzone w długich, stożkowatych kłosach. Szczaw jest uprawiany jako roślina warzywna, a jego liście są często spożywane jako



warzywo liściaste. Liście szczawiu są bogate w witaminy i składniki mineralne, takie jak witamina C, witamina K i żelazo. Szczaw jest również używany, jako roślina lecznicza i jest składnikiem wielu mieszanek i herbat ziołowych. Jednakże uważany jest również za chwast w uprawach rolniczych. Rośnie w miejscach o dużym nasłonecznieniu i jest odporny na brak opadów, co czyni go trudnym do kontrolowania, mogąc konkurować z uprawianymi roślinami o składniki odżywcze i wodę, co może znacznie zmniejszyć ich wzrost i plony. Osiąga wysokość od 30 do aż 100 centymetrów.

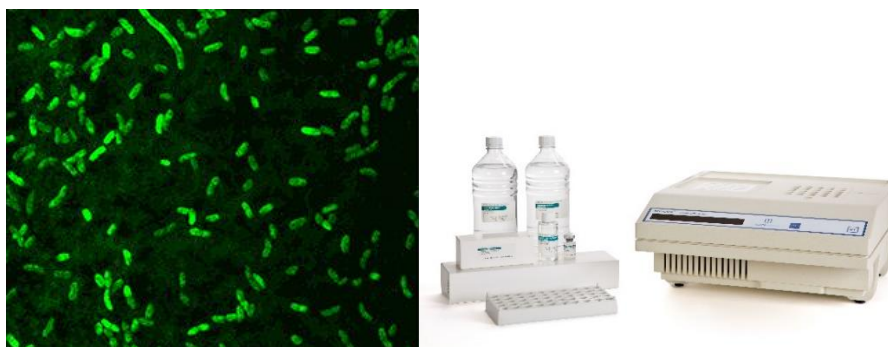
- **Żółtlica drobnokwiatowa** (*G. parviflora*)- jest to roślina jednoroczna o charakterystycznych, drobnych, żółtych kwiatach (Rys. 19). Charakteryzuje się bujną, rozgałęzioną łodygą i małymi, żółtymi kwiatami, które pojawiają się na szczytach pędów. Liście są jajowate i wąskie, a łodygi cienkie i delikatne. Jest ciepłolubna – wschód rozpoczyna się późną wiosną, natomiast okres wegetacji trwa do końca jesieni. Rozwija się szybko – w ciągu sezonu potrafi wydać około pięć - sześć pokoleń. Osiąga wysokość od 10 do 80 centymetrów.
- **Komosa biała** (*Ch. album*) - jest to jednoroczny chwast, który często znaleźć można w uprawach, a także na obszarach zdegradowanych (Rys. 19). Ze względu na jego zdolność do rywalizowania z roślinami hodowlanymi i rolniczymi o składniki odżywcze i światło, jest uważany za uciążliwy. Roślina ta, może osiągać wysokość od 30 cm do 150 cm i ma wzniesioną lub czasem płozącą łodygę. Liście komosy białej są duże o czerwono-fioletowym spodzie, górna część liścia jest srebrzysta z mączystym nalotem, a kwiaty są zebrane w groniaste, zielonawe kwiatostany.



**Rysunek 19.** Chwasty: szczaw zwyczajny (*R. acetosa.*), żółtlica drobnokwiatowa (*G. parviflora*) i komosa biała (*Ch. album.*) [169–171].

- **Test z wykorzystaniem bakterii luminescencyjnych *A. fischeri* - Microtox**

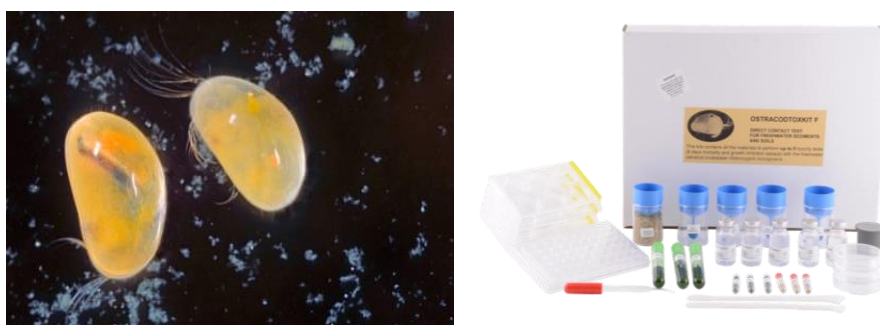
Wszystkie materiały i odczynniki zostały zakupione od Modern Water Inc. (New Castle, DE, USA). W teście, w charakterze bioindykatora zastosowano słonowodne, Gram-ujemne, bioluminescencyjne bakterie *A. fischeri*. Są to heterotroficzne mikroorganizmy, odżywiające się poprzez rozkład materii organicznej i poruszające za się przy pomocy wici (Rys. 20).



Rysunek 20. Morskie bakterie luminescencyjne *A. fischeri* i aparatura Microtox [172, 173].

- **Test z wykorzystaniem skorupiaków *H. incongruens* - Ostracodtoxkit F**

Organizmy testowe – skorupiaki (małżoraczki) *H. incongruens*, są składnikiem zestawu (typu toxkit, co zapewnia pełną gotowość do wykonania analizy) i mają postać jajeczek przetrwalnych, które mogą być na żądanie gotowe do użycia w ciągu 72 godzin, poprzez dostarczenie pożywki do próby. Są to niewielkich rozmiarów organizmy, obecne w osadach dennych rzek i jezior, odgrywające istotną rolę w ekosystemach wodnych, m.in. stanowiąc pokarm dla innych bezkręgowców wodnych, także ptaków i ryb (Rys. 21).



Rysunek 21. Skorupiaki *H. incongruens* i zestaw Ostracodtoxkit F [174, 175].

## 3.2. Metody wykorzystywane w pracy

### 3.2.1. Część chemiczna

#### 3.2.1.1. Metody fizykochemiczne wykorzystywane do charakterystyki aminofosfonianów

Do analizy składu syntezowanych substancji, wykorzystano klasyczne techniki badawcze:

- **Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR)**

Widma  $^1\text{H}$  NMR (TMS) (600 MHz),  $^{13}\text{C}$  NMR (TMS) (150 MHz) oraz  $^{31}\text{P}$  NMR ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) (243 MHz) zarejestrowano na aparacie Bruker Avance III (Billerica, MA, USA) w Pracowni Spektroskopii NMR Uniwersytetu Łódzkiego. Przesunięcia chemiczne ( $\delta_{\text{H}}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ,  $\delta_{\text{P}}$ ) podano w częściach na milion (ppm), stałe sprzężenia ( $J$ ) podano w hercach (Hz).

- **Pomiar temperatury topnienia**

Temperatury topnienia syntezowanych substancji mierzono na aparacie MelTemp II (Bibby Scientific Limited, Staffordshire, Wielka Brytania) i nie były korygowane.

- **Analiza elementarna**

Analizę elementarną wykonano na aparacie EuroVector 3018 w Pracowni Mikroanalizy Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych (CBMiM) PAN w Łodzi.

- **Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)**

Chromatografię cienkowarstwową (TLC) przeprowadzono na płytkach z żelem krzemionkowym firmy Sigma-Aldrich (Supelco) (Kieselgel 60 F254, grubość warstwy 0,2 mm), a plamki wizualizowano przy użyciu lampy UV.

- **Chromatografia kolumnowa**

Do chromatografii kolumnowej, używano żelu krzemionkowego firmy Fluka (Silica gel 60, 40-63  $\mu\text{m}$ ).

Syntezy poszczególnych aminofosfonianów:

a) dimetylowych pochodnych tiofeno-2-karboaldehydu:

- *N*-(2-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (**5a**);
- *N*-(3-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (**5b**);
- *N*-(4-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (**5c**);
- *N*-(2-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (**5d**);
- *N*-(3-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (**5e**);
- *N*-(4-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (**5f**);
- *N*-benzyloamino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (**5g**);
- *N*-(*tert*-butylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (**5h**);
- *N*-benzhydroyloamino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (**5i**);

b) difenylowych pochodnych tiofeno-2-karboaldehydu:

- *N*-(2-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenyłu (**6a**);
- *N*-(3-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenyłu (**6b**);
- *N*-(4-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenyłu (**6c**);
- *N*-(2-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenyłu (**6d**);
- *N*-(3-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenyłu (**6e**);
- *N*-(4-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenyłu (**6f**);

c) dibenzylowej pochodnej tiofeno-2-karboaldehydu:

- *N*-furfuryloamino(2-tienylo)metylofosfonian dibenzylu (**7**);

przeprowadzono wg schematu nr. 31. Kolejne numery (kody), nadawane aminofosfonianom w części doświadczalnej niniejszej pracy, wynikają z kolejności ich występowania w tekście. Dla ułatwienia i poprawy czytelności części eksperymentalnej, numery i kody wszystkich zsyntezowanych związków, zawarte są również w tabeli 4.

- **Metoda A**

*Przepis ogólny*

*Etap 1*

Do roztworu tiofeno-2-karboaldehydu (**1**) (4,48 g, 40 mmoli) w suchym metanolu (50 ml) z dodatkiem sit molekularnych 3A, wkroplono roztwór aminy **2** (40 mmoli) w suchym metanolu (20 ml). Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej w ciągu 48h, całość intensywnie mieszając. Następnie odsączono sita molekularne. Wszystkie lotne składniki usunięto z mieszaniny poreakcyjnej na wyparce, otrzymując odpowiednią iminę **3**. Produkt **3** został użyty do kolejnego etapu syntezy, bez dodatkowego oczyszczania.

*Etap 2*

Do roztworu iminy **3** (40 mmoli) w acetonitrylu (50 ml), otrzymanej w etapie 1, dodano fosfonian dimetylu **4a** lub difenyłu **4b** lub dibenzylu **4c** (80 mmoli). Następnie mieszaninę reakcyjną ogrzewano do wrzenia, pod chłodnicą zwrotną, przez siedem dni dla **4a**, 72 h dla **4b**, 24h dla **4c** całość intensywnie mieszając. Po tym czasie odparowano wszystkie lotne składniki na wyparce, a pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (100 ml). Otrzymany roztwór przemyto nasyconym wodnym roztworem wodorowęglanu sodu (4 x 25 ml). Warstwę organiczną suszono przy użyciu MgSO<sub>4</sub>. Po usunięciu środka suszącego i odparowaniu chlorku metylenu, uzyskano aminofosfoniany **5-7**, które były oczyszczane za pomocą chromatografii kolumnowej typu flash.

- **Metoda B**

*Procedura one – pot*

Do roztworu tiofeno-2-karboaldehydu (**1**) (4,48 g, 40 mmoli), rozpuszczonego w suchym toluenie (50 ml) z dodatkiem siarczanu (VI) magnezu (4,8 g, 40 mmoli), wkroplono 2- metoksyanilinę (40 mmoli). Mieszaninę mieszano w temperaturze pokojowej przez 3 godziny. Następnie dodano fosfonian dimetylu (8,8 g, 80 mmoli) i całość ogrzewano w temperaturze 100°C, przez 8 godzin. Po tym czasie, do mieszaniny reakcyjnej dodano 50 ml chlorku metylenu i oddestylowano wszystkie lotne składniki, pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość rozpuszczono w chlorku metylenu (100 ml), a roztwór przemywano czterokrotnie nasyconym wodnym roztworem wodorowęglanu sodu – porcjami po 25 ml. Warstwę organiczną suszono z użyciem MgSO<sub>4</sub>. Po usunięciu środka suszącego i rozpuszczalnika, produkt został wyizolowany i oczyszczony za pomocą chromatografii kolumnowej typu flash.

Związki **16 a-g** zostały zsyntezowane w Katedrze Chemii Organicznej oraz w Katedrze Chemii Organicznej i Stosowanej UŁ, według metody opisanej wcześniej w literaturze [176]. Przykładowa procedura syntezy *N*-[arylo(fosfono)metylo]glicyn **16**:

Do zawiesiny glicyny **13** (40 mmol) w metanolu (100 ml), dodano trietyloaminę (89 mmol), a następnie całość mieszano w temperaturze pokojowej przez 20 min. Po tym czasie, wkroplono tiofeno-2-karboaldehydu (**1**) (40 mmol) i reakcję kontynuowano w temperaturze pokojowej przez 1-2 h, całość intensywnie mieszając. Następnie dodano fosfonian dietylu (40mm) i kontynuowano reakcję przez 24h, w temperaturze otoczenia. Po tym czasie, rozpuszczalnik został usunięty. Pozostałość rozpuszczono w stężonym kwasie solnym (100ml) i ogrzewano w temperaturze 95-105°C, przez 2h. Po usunięciu kwasu solnego pozostałość została rozpuszczona w wodzie (682 ml). Po dodaniu węgla aktywnego, mieszaninę mieszano w temperaturze pokojowej przez 2h. Po tym czasie mieszaninę przesączono, a przesącz odparowano. Pozostałość rozpuszczono ponownie w wodzie (23 ml) i dodano aceton (69 ml). Po 3 dniach powstały osad został odsączony, przemyty acetonem 3x23ml i suszony w temperaturze 90°C przez 3h. Na drodze tego typu syntezy powstały związki:

- *N*-[(fosfono)(pirydyn-3-ylo)metylo]glicyna (**16a**), wydajność = 30% [176],
- *N*-[(fosfono)(2-tienylo)metylo]glicyna (**16b**), wydajność = 37% [152],
- *N*-[(fosfono)(4-metoksyfenylo)metylo]glicyna (**16c**), wydajność = 64 [176],
- *N*-[(fosfono)(4-hydrokso-3-metoksyfenylo)metylo]glicyna (**16d**), wydajność = 58% [152],
- *N*-[(fosfono)(3-metylofenylo)metylo]glicyna (**16e**), wydajność = 48% [152],
- *N*-[(fosfono)(4-hydroksofenylo)metylo]glicyna **16f**), wydajność = 56% [152],
- *N*-[(fosfono)(4-chlorofenylo)metylo]glicyna (**16g**), wydajność = 50% [152].

### 3.2.2. Część biologiczna

Do oceny ekotoksycznej syntezowanych związków, użyto następujących metod:

- **Badania fitotoksyczności**

Badania fitotoksyczności syntezowanych aminofosfonianów, przeprowadzono zgodnie z metodyką opisaną w przewodniku OECD/OCDE 208 (Terrestrial plant test: Seedling emergence and seedling growth test) [165]. W tym celu, użyto dwóch gatunków

roślin, takich jak: jednoliścienny owies zwyczajny (*A. sativa*) i dwuliścienna rzodkiewka zwyczajna (*R. sativus*).

Badania przeprowadzone zostały w doniczkach polipropylenowych, o pojemności 300 ml, które wypełniono glebą kontrolną bądź też glebą wymieszaną z badanymi aminofosfonianami, dodanymi do gleby w różnych stężeniach w zakresie 100 - 1000 mg/kg suchej masy gleby (s.m.g.). Każdą próbę wykonano w trzech powtórzeniach (3 doniczki dla owsa, 3 doniczki dla rzodkiewki zwyczajnej). Do gleby wysiano po 20 nasion, obydwóch gatunków roślin (Rys. 22).



**Rysunek 22.** Nasiona owsa (a) i rzodkiewki (b) wysiane do doniczek.

Rośliny uprawiano w hali wegetacyjnej, przez 14 dni w warunkach kontrolowanych i optymalnych dla wzrostu roślin (stała wilgotność (70%), temperatura ( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), stałe natężenie światła (7000 Lux), system dzień/noc - 16 h/8 h na dobę) (Rys. 23).



**Rysunek 23.** Rośliny w hali wegetacyjnej.

Ocenę fitotoksyczności badanych substancji w zastosowanych stężeniach, przeprowadzono analizując zmiany świeżej masy roślin (plonu), suchej masy, stopień kiełkowania nasion, długości siewek (pędu) i korzeni, poziom barwników asymilacyjnych (chlorofilu i karotenoidów) oraz ocenę wizualną (symptomy chlorozy i nekrozy). Analiza otrzymanych danych z roślin poddanych działaniu syntezowanych substancji, była zawsze porównywana do roślin kontrolnych.

### **Oznaczanie długości pędu, korzeni oraz świeżej masy siewek**

Pomiary wysokości pędu i długości korzeni, wykonywano na 5 siewkach w 3 powtórzeniach, dla każdego gatunku roślin. Długość roślin określa się, jako długość od wierzchołka liścia do podstawy pędu, natomiast długość korzeni mierzy się od wierzchołka korzenia do połączenia korzenia z pędem. Stosunek zahamowania wzrostu (% growth inhibition - GI%) pędów, korzeni i świeżej masy (plonu), obliczono zgodnie ze wzorem:

$$GI\% = \frac{C_p - T_p}{C_p} \times 100\%$$

gdzie  $C_p$ - długość pędu lub korzenia (cm) w roślinach kontrolnych,  $T_p$  - długość pędu lub korzenia (cm) w badanych roślinach. W przypadku świeżej masy:  $C_p$  - plon (g) w roślinach kontrolnych,  $T_p$  - plon (g) w badanych roślinach.

### **Oznaczanie suchej masy**

Z uwagi na dużą ilość wody zawartej w roślinach, jej poziom zależny jest od zawartości wody w otoczeniu, dlatego przyjęto oznaczanie suchej masy, jako wskaźnik miary wzrostu roślin. Zawartość wody podano w tym przypadku, jako procent suchej masy. W celu oceny fitotoksyczności analizowanych związków określono i porównano suchą masę roślin kontrolnych, z suchą masą roślin rosnących na glebie z daną domieszką badanych aminofosfonianów.

### **Oznaczanie wartości EC<sub>50</sub>, NOEC i LOEC**

Na podstawie wyników zahamowania wzrostu pędów, świeżej masy oraz długości korzeni rzodkiewki i owsa wyznaczono wartości wskaźnika EC<sub>50</sub> (ang. effect concentration), rozumianego, jako stężenia badanego medium wywołujące odpowiednie/spodziewane efekty toksyczne u połowy populacji organizmów testowych. Wartość EC<sub>50</sub> obliczono przy



użyciu oprogramowania GraphPad Prism (wersja 7, GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA 92037, USA).

Do opisu stężeń minimalnych lub niewywołujących efektów ocenianych metodami statystycznymi używano wielkości, takich jak: NOEC (ang. *no observed effects concentration*) – największe stężenie, dla którego nie występuje istotny wzrost częstości lub nasilenia skutków działania danej substancji u badanych organizmów, w stosunku do próbki kontrolnej oraz LOEC (ang. *lowest observed effects concentration*) – najmniejsze stężenie, dla którego występuje istotny wzrost częstości lub nasilenia skutków działania danej substancji u badanych organizmów, w stosunku do próbki kontrolnej.

### **Kiełkowanie**

Kiełkowanie owsa i rzodkiewki zwyczajnej, traktowanych badanymi związkami określono na podstawie ilości wykiełkowanych roślin w stosunku do próby kontrolnej. Procent kiełkowania odnosi się do liczby wykiełkowanych roślin, wyrażonej, jako procent roślin kontrolnych.

### **Oznaczanie barwników asymilacyjnych**

Zawartość pigmentów fotosyntetycznych (chlorofil i karotenoidy), oznaczono wg metody Orena i in. (1995), obliczając ich poziom na podstawie absorbancji, przy długości fali 470, 647 i 664 nm i wyrażono w mg/g suchej masy [177].

### **Ocena wizualna siewek**

Ocena wizualna zaistniałych uszkodzeń siewek (ewentualne symptom chlorozy lub nekrozy), zostały udokumentowane zdjęciami cyfrowymi w opublikowanych pracach.

- **Badania własności herbicydowych**

Potencjalną aktywność chwastobójczą zsyntezowanych aminofosfonianów określono poprzez ocenę zahamowania wzrostu powszechnie występujących i uciążliwych gatunków chwastów, takich jak: żółtlica drobnokwiatowa (*G. parviflora*), szczaw zwyczajny (*R. acetosa*), and komosa biała (*Ch. album*). Ocena aktywności chwastobójczej badanych substancji, była prowadzona w oparciu o skalę Europejskiej Rady ds. Badań nad Chwastami (EWRC), gdzie w przypadku istniejącej fitointoksykacji przypisuje się następujące wartości [178]:

- 1: całkowita śmierć roślin (celujące) (100%);
- 2: bardzo dobre (98,0 do 99,9%);
- 3: dobre (95,0 do 97,9%);
- 4: zadowalające (od 90 do 94,9%);
- 5: mało zadowalające (82,0 do 89,9%);
- 6: niezadowalające (70,0 do 81,9%);
- 7: złe (55,0 do 69,9%);
- 8: bardzo złe (od 30 do 54,9%);
- 9: brak działania (0,0 do 29,9%).

Z uwagi na pierwsze obiecujące, selektywne działanie aminofosfonianów dimetylowych, wykazane w publikacji [179], przeprowadzono test ich aktywności, jako herbicydów doglebowych. Ponieważ aktywność ta, w skali EWRC, nie była zadowalająca (jedynie stosunkowo wysokie stężenie było skuteczne), skuteczność herbicydową wszystkich kolejnych zsyntezowanych aminofosfonianów, przebadano w postaci oprysku (jako herbicyd dolistny), co powinno ograniczyć ilość substancji aktywnej wprowadzanej do środowiska, przy zachowaniu podobnej skuteczności.

W przypadku aminofosfonianów dimetylowych, doglebowa aktywność herbicydowa była badana w stężeniu, nieprzekraczającym 1000 mg/kg s.m.g., tak jak miało to miejsce w przypadku badań fitotoksyczności. Wszystkie pozostałe aminofosfoniany, zostały zaaplikowane dolistnie (w postaci oprysku na liście chwastu) wodnymi zawiesinami tych substancji, o różnych stężeniach (5, 10, 15, 20%), po miesiącu od wykiełkowania.

- **Oznaczanie toksyczności ostrej aminofosfonianów wobec *A. fischeri* - test Microtox**

System Microtox jest uznanym, światowym standardem w zakresie badania toksyczności. Test ten jest szybki w użyciu, czuły, powtarzalny i ekologicznie istotny. Testy toksyczności ostrej aminofosfonianów, prowadzono z wykorzystaniem analizatora Microtox M500, zgodnie z oprogramowaniem producenta.

Z uwagi na fakt, że wszystkie zsyntezowane aminofosfoniany (oprócz glifosatu), są nierozpuszczalne w wodzie, zastosowano test fazy stałej, który obejmuje protokoły Microtox Solid Phase Test. Zgodnie z tą procedurą, liofilizowane bakterie zostały zregenerowane za pomocą 1 ml płynu rekonstytucyjnego (2% NaCl), w celu zapewnienia gotowej do użycia zawiesiny organizmów. Do badanej próby (7 g gleby z dodatkiem

aminofosfonianu) dodano 35 ml diluentu (3,5% NaCl), a następnie mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego przez 10 min. Wykonano szereg rozcieńczeń, do których dodano bakterie (ok.  $1 \times 10^6$  komórki/ml na oznaczenie), wystawiając je tym samym na działanie tych rozcieńczeń, przez 20 minut. Wykonano również próbę kontrolną, gdzie bakterie dodano do 3,5% roztworu chlorku sodu. Następnie zawiesiny przefiltrowano. Po czasie 5 minut, system testowy zmierzył strumień świetlny bakterii luminescencyjnych po wystawieniu ich na działanie próbki i porównując go z mocą świetlną próbki kontrolnej. Różnicę w mocy świetlnej między próbką badaną a próbką kontrolną, przypisuje się wpływowi próbki na organizmy.

Ponieważ badania ekotoksykologiczne zsyntezowanych aminofosfonianów, mają charakter porównawczy, wykonano również oznaczenie toksyczności ostrej wobec *A. fischeri* dla glifosatu, który jest rozpuszczalny w wodzie. W tym przypadku procedura różniła się od protokołu fazy stałej, ponieważ glifosat rozpuszczono bezpośrednio w wodzie bez mieszania próbki z glebą. Bakterie poddano działaniu szeregu geometrycznie rozcieńczonych roztworów wodnych (zwykle od 0 do 81,9%, współczynnik geometryczny = 2) *N*-fosfonometyloglicyny, gdzie 100% odpowiada znanemu stężeniu przygotowanego wcześniej roztworu podstawowego ( $\approx 1000$  mg L<sup>-1</sup>). Następnie, po 5 i 15 minutach ekspozycji na glifosat, zmierzono wydajność świetlną bakterii luminescencyjnych i porównano ją z wydajnością świetlną próby kontrolnej (roztwór rozcieńczający).

Punktem końcowym oznaczenia, jest stężenie efektywne ( $EC_{50}$ ), które spowodowało 50% redukcję światła emitowanego przez bakterie (wyrażone w mg/l). 95% Przedziały ufności określono za pomocą oprogramowania producenta MicrotoxOmni.

- **Oznaczanie toksyczności chronicznej wobec *H. incongruens*- test Ostracodtoxkit F**

Mikrobiotest „bezpośredniego kontaktu” dla osadów, przeprowadzono na płytce wielodołkowej, przy użyciu młodych, dennych skorupiaków (małżoraczków), wylęgłych z cyst, dokonując pomiaru toksyczności chronicznej (przewlekłej), na podstawie śmiertelności skorupiaków oraz tempa ich wzrastania (hamowanie wzrastania), na skutek ekspozycji badanych organizmów na poszczególne aminofosfoniany.

Procedura wykonania testu rozpoczyna się od wylęgu organizmów na 52 godziny przed rozpoczęciem testu, w ciągłym oświetleniu (źródło światła: 3000-4000 Lux), w temperaturze 25°C. Po 48 godzinach inkubacji cyst, przeprowadzono wstępne karmienie świeżo wyklutych małżoraczków glonami (spirulina), dostarczonymi w zestawie testowym. Następnie wykonano pomiary długości młodych organizmów. Do każdego dołka płytki

testowej dodano 1000 µl gleby (z lub bez badanych substancji), a także 2 ml zawiesiny glonów (*Selenastrum capricornutum*), stosowanych, jako pożywienie dla badanych skorupiaków. Do każdego dołka dodano również 10 organizmów testowych. Płytki testowe przykryto parafilmem, zamknięto pokrywką i umieszczono w inkubatorze All-round Toxkit, w temperaturze 25°C, w ciemności, na 6 dni. Po tym czasie skorupiaki odzyskano z płytek testowych, w celu określenia procentowej śmiertelności, biorąc pod uwagę liczbę skorupiaków, które przeżyły we wszystkich dołkach testowych, w każdym stężeniu. Aby obliczyć zahamowanie wzrostu organizmów, które przeżyły, wykonano również pomiary ich długości za pomocą paska mikrometrycznego umieszczonego na dnie szklanej płytki mikroskopowej. Procentowe zahamowanie wzrostu (GI%) *H. incongruens* w badanym osadzie obliczono zgodnie ze wzorem:

$$GI\% = 100 - \left[ \left( \frac{L_{ts}}{L_{rs}} \right) \times 100\% \right]$$

Gdzie:  $L_{ts}$  - długość żywych skorupiaków w badanej glebie,  $L_{rs}$  - długość żywych skorupiaków w glebie referencyjnej. W przypadku, gdzie śmiertelność jest większa niż 30% inhibicja wzrostu skorupiaków nie była mierzona.

Wizualnej oceny i pomiarów wielkości organizmów, poddanych badanym aminofosfonianom na testowane organizmy, dokonano przy użyciu mikroskopu Zeiss Axiovert 40 (Carl Zeiss, Niemcy).

- **Analiza statystyczna**

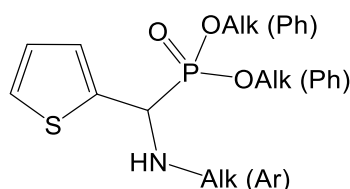
Istotność uzyskanych wyników oceniono za pomocą analizy wariancji (ANOVA). Wartości najmniejszej istotnej różnicy (LSD) na poziomie ufności 95% obliczono za pomocą testu Tukeya. Ponadto wyznaczono odchylenia standardowe (SD) średnich z 3 prób i przedstawiono je na tabelach i wykresach. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu oprogramowania STATISTICA 13.3

# **OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA**



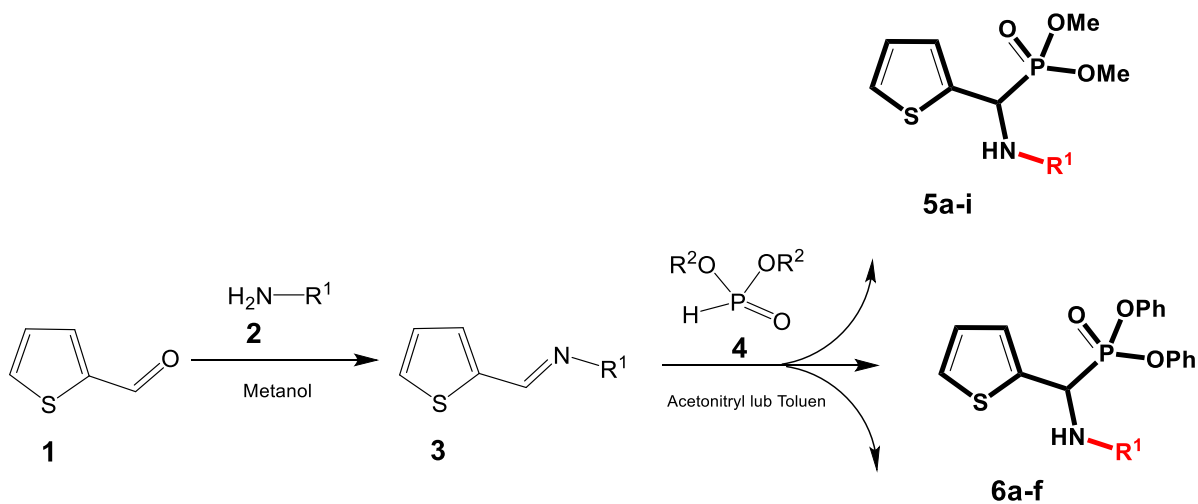
## 4.1. Synteza aminofosfonianów, pochodnych tiofeno-2- karboaldehydu 5-7

W początkowym okresie badań skoncentrowano się na syntezie estrów dimetylowych, difenylowych i dibenzylowych, pochodnych kwasów aminosfosfonowych, które zawierały w swojej strukturze heteroaromatyczny układ tiofenu (Rys. 24). W konstrukcji docelowych układów wykorzystano pochodne toluidyny, anizydyny, *tert*-butyloaminę, benzyloaminę, furfuryloaminę i benzhydryloaminę.



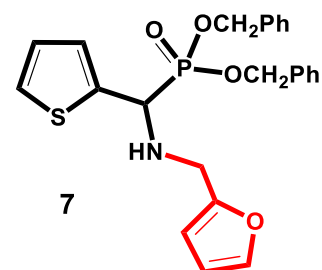
**Rysunek 24.** Aminofosfonian, z heteroaromatyczny układem tiofenu.

Aminofosfoniany zostały zsyntezowane z wykorzystaniem dwuetapowej reakcji, obejmującej w 1 etapie otrzymanie odpowiednich zasad Schiffa, które w 2 etapie poddane zostały reakcji addycji nukleofilowej z wybranymi fosfonianami (reakcja aza-Pudovika). Działając na tiofeno-2-karboaldehyd wybraną aminą aromatyczną lub alifatyczną w bezwodnym metanolu i w obecności sit molekularnych 3A, w temperaturze pokojowej, w ciągu 48h, uzyskano odpowiednie iminy, z zadowalającymi wydajnościami (Schemat 31). W porównaniu do wcześniej opisywanych metod syntezy, tego typu połączeń, istotną modyfikacją było prowadzenie reakcji w bezwodnym metanolu, w obecności sit molekularnych [180]. Przebieg transformacji był kontrolowany za pomocą spektroskopii  $^1\text{H}$  NMR. W zarejestrowanych widmach, widoczne było pojawienie się charakterystycznego sygnału pochodzącego od azometinowego protonu, przy około 8,5 ppm i zanik sygnału protonu funkcji -CHO.



a:  $\text{R}^1 = 2\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ ; b:  $\text{R}^1 = 3\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ ; c:  $\text{R}^1 = 4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ ;  
 d:  $\text{R}^1 = 2\text{-OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ ; e:  $\text{R}^1 = 3\text{-OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ ; f:  $\text{R}^1 = 4\text{-OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ ;  
 g:  $\text{R}^1 = \text{CH}_2\text{Ph}$ ; h:  $\text{R}^1 = \text{CMe}_3$ ; i:  $\text{R}^1 = \text{CHPh}_2$ ;

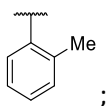
$\text{R}^2 = \text{Me, Ph, CH}_2\text{Ph}$



**Produkty**

**R<sup>1</sup>**

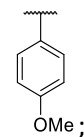
**5, 6 a:**



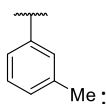
**Produkty**

**R<sup>1</sup>**

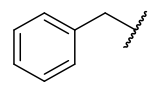
**5, 6 f:**



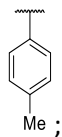
**5, 6 b:**



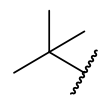
**5 g:**



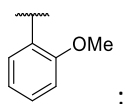
**5, 6 c:**



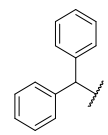
**5 h:**



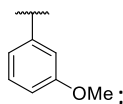
**5, 6 d:**



**5 i:**



**5, 6 e:**



**Schemat 31.** Synteza aminofosfonianów, pochodnych tiofeno-2-karboaldehydu.

Uzyskane iminy, bez dodatkowego oczyszczania zostały użyte w kolejnym etapie syntezy. Przeprowadzone próby wstępne wykazały, iż możliwe jest efektywne przekształcenie zasad Schiffa w docelowe amino(2-tienylo)metylofosfoniany, w wyniku ogrzewania ich z odpowiednimi *H*-fosfonianami dialikowymi lub diaryłowymi w acetonitrylu, użytym, jako rozpuszczalnik, bez konieczności stosowania katalizatorów.

Analogiczne reakcje, prowadzone w temperaturze otoczenia (bez ogrzewania), charakteryzowały się dużo niższymi wydajnościami. Proces ten, polegał na addycji *H*- fosfonianu do wiązania azometinowego. W zależności od użytego fosfonianu, czas reakcji wynosił od 24h - w przypadku pochodnej dibenzylowej, aż do 7 dni - w przypadku fosfonianu dimetylowego. Postęp reakcji był monitorowany za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Po zakończeniu reakcji i usunięciu rozpuszczalnika, nadmiar użytego fosfonianu był każdorazowo usuwany za pomocą ekstrakcji wodnym roztworem wodorowęglanu sodu.

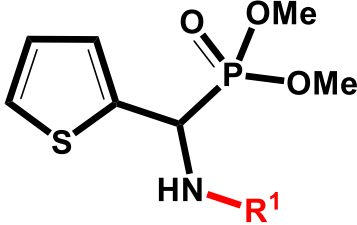
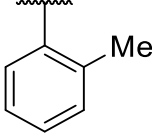
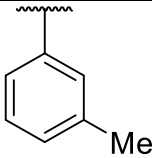
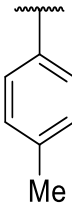
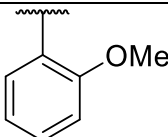
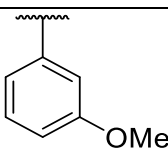
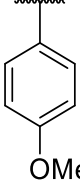
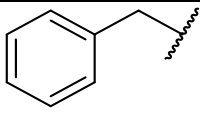
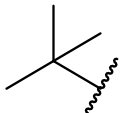
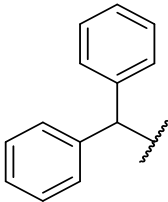
Produkty **5-7**, były izolowane i oczyszczane za pomocą chromatografii kolumnowej typu flash.

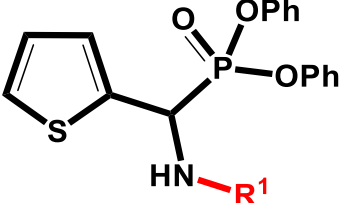
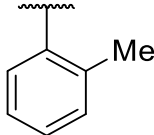
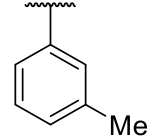
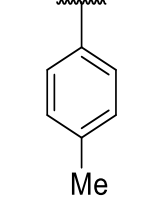
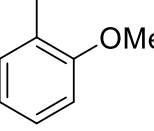
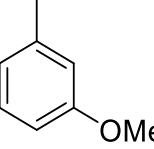
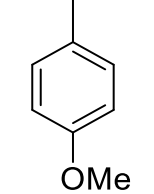
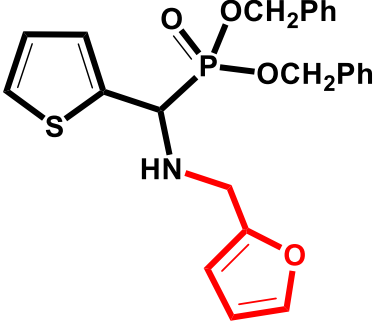
Z najlepszymi wydajnościami uzyskane zostały aminofosfoniany difenyłowe **6** (71-94%). W przypadku estrów dimetylowych, najniższą efektywność zanotowano w przypadku syntezy pochodnej benzhydrioloaminy (41%). Pozostałe aminofosfoniany z tej serii otrzymano z wydajnościami od 54-94%. Dibenzyl *N*-furfuryloamino(2-tienylo) pochodna **7**, została wyizolowana z umiarkowaną, 62% wydajnością. Informacje na temat nazwy, rodzaju podstawnika, oraz wydajności każdego związku, przedstawia tabela 4.

W przypadku związku **5d**, wygenerowana imina, w reakcji *o*-anizydyny z aldehydem, bez wydzielania została bezpośrednio poddana działaniu fosforynu dimetylowego, prowadząc do oczekiwanego produktu, z wydajnością 57%.



Tabela 4. Pochodne tiofeno-2-karboaldehydu 5-7.

Związek		R <sup>1</sup>	Wydajność [%]
5a 5 (2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			83
5b 5 (3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			94
5c 5 (4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			54
5d 5 (2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			57
5e 5 (3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			72
5f 5 (4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			80
5g 5 (PhCH <sub>2</sub> )			57
5h 5 (CMe <sub>3</sub> )			66
5i 5 (Ph <sub>2</sub> CH)			41

6a 6 (2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			71
6b 6 (3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			94
6c 6 (4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			80
6d 6 (2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			89
6e 6 (3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			75
6f 6 (4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )			74
7 7 (FurCH <sub>2</sub> )		62	

Tożsamość wszystkich wyizolowanych związków, została potwierdzona za pomocą analizy spektroskopowej <sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P i <sup>13</sup>C NMR, a także analizy elementarnej.

W identyfikacji produktów **5-7**, znaczenie diagnostyczne miał sygnał protonu grupy metinowej, sąsiadującej z atomem azotu, fosforu i układem heterocyklicznym (CHP). W większości przypadków, występował on, jako dublet w zakresie 4,29-5,16 ppm, o stałej

sprzężenia z fosforem  ${}^2J_{\text{PH}} \sim 19,3\text{-}24,4$  Hz. W przypadku produktów **5d**, **6c**, **6e**, sygnał protonu ugrupowania CHP, występował w postaci dubletu dubletów, przy odpowiednio 5,07; 5,38 i 5,40 ppm z dwiema charakterystycznymi stałymi sprzężeń: z fosforem  ${}^2J_{\text{PH}} \sim 23,4\text{-}24,1$  Hz oraz z protonem NH -  ${}^3J_{\text{HH}} \sim 8,1\text{-}8,7$  Hz. Protony grupy aminowej w produktach 5-7, można było zaobserwować jako singlet, bądź poszerzony singlet, jak np. dla związku **6a** (4,58 ppm), czy **6f** (4,41 ppm) lub też jako dublet (**5f** – 4,54 ppm,  $J = 8,4$  Hz) lub dublet dubletów (**6c**–4,54 ppm,  ${}^3J_{\text{PH}} = {}^3J_{\text{HH}} = 8,0$  Hz).

– ***N*-(2-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (5a)**

**Wydajność** = 83% (2.58 g), żółty olej (Metoda A)

**${}^1\text{H}$  NMR** ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  7.27–7.25 (m,  $\text{H}_5^{\text{thioph}}$ , 1H), 7.21–7.19 (m,  $\text{H}_3^{\text{thioph}}$ , 1H), 7.11 (d,  ${}^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, *o*- $\text{C}_6\text{H}_4$ , 1H), 7.07 (ddd,  ${}^3J^{(1)}\text{HH} = {}^3J^{(2)}\text{HH} = 7.4$  Hz and  ${}^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, *o*- $\text{C}_6\text{H}_4$ , 1H), 7.01 (ddd,  ${}^3J_{\text{HH}} = 5.0$  and 4.2 Hz and  ${}^4J_{\text{HH}} = 0.7$  Hz,  $\text{H}_4^{\text{thioph}}$ , 1H), 6.74 (ddd,  ${}^3J^{(1)}\text{HH} = {}^3J^{(2)}\text{HH} = 7.4$  Hz and  ${}^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, *o*- $\text{C}_6\text{H}_4$ , 1H), 6.65 (d,  ${}^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, *o*- $\text{C}_6\text{H}_4$ , 1H), 5.16 (d,  ${}^2J_{\text{PH}} = 23.7$  Hz, CHP, 1H), 3.82 (d,  ${}^3J_{\text{PH}} = 10.6$  Hz,  $\text{POCH}_3$ , 3H), 3.67 (d,  ${}^3J_{\text{PH}} = 10.6$  Hz,  $\text{POCH}_3$ , 3H), 2.28 (s,  $\text{CH}_3$ , 3H).

**${}^{13}\text{C}$ -NMR** ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz):  $\delta$  143.98 (d,  ${}^2J_{\text{CP}} = 12.3$  Hz,  $\text{C}^2_{\text{thioph}}$ ), 139.81 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 130.41 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 127.19 (d,  $J = 2.5$  Hz,  $\text{C}_{\text{thioph}}$ ), 127.03 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 126.19 (d,  $J = 7.2$  Hz,  $\text{C}_{\text{thioph}}$ ), 125.43 (d,  $J = 3.4$  Hz,  $\text{C}_{\text{thioph}}$ ), 123.39 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 118.86 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 111.48 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 54.17 (d,  ${}^2J_{\text{CP}} = 7.0$  Hz, POC), 53.88 (d,  ${}^2J_{\text{CP}} = 7.3$  Hz, POC), 51.84 (d,  ${}^1J_{\text{CP}} = 157.8$  Hz, PC), 17.47 (ArC).

**${}^{31}\text{P}$ -NMR** (243 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  23.33.

**Analiza elementarna:** obliczona dla  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{NO}_3\text{PS}$ : C, 54.01, H, 5.83, N, 4.50. Found: C, 54.18, H, 5.97, N, 4.59

**Rozpuszczalnik:** octan etylu - heksan = 4:1

– ***N*-(3-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (5b)**

**Wydajność** = 94% (2.92 g) żółty osad, (Metoda A)

**Temp. topnienia:** 81–83°C.

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): δ 7.26–7.25 (m, H<sub>5</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 7.21–7.20 (m, H<sub>3</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 7.07 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 and 7.0 Hz, m-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1H), 7.01 (m, H<sub>4</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 6.62 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, m-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1H), 6.55 (s, m-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1H), 6.52 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz and <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, m-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1H), 5.11 (d, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 24.4 Hz, CHP, 1H), 3.82 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.4 Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H), 3.65 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.8 Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H), 2.28 (s, CH<sub>3</sub>, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz): δ 145.94 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 13.1 Hz, C<sup>2</sup><sub>thioph</sub>), 139.68 (C<sub>arom</sub>), 139.10 (C<sub>arom</sub>), 129.15 (C<sub>arom</sub>), 127.17 (d, J = 3.1 Hz, C<sub>thioph</sub>), 126.25 (d, J = 7.3 Hz, C<sub>thioph</sub>), 125.41 (d, J = 4.0 Hz, C<sub>thioph</sub>), 120.09 (C<sub>arom</sub>), 114.94 (C<sub>arom</sub>), 111.01 (C<sub>arom</sub>), 54.13 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.7 Hz, POC), 53.83 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 7.4 Hz, POC), 51.73 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub> = 158.4 Hz, PC), 21.54 (ArC).

**<sup>31</sup>P-NMR** (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 23.20.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>3</sub>PS: C, 54.01, H, 5.83, N, 4.50. Found: C, 54.17, H, 5.79, N, 4.51.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu- heksan = 4:1

– *N*-(4-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (5c)

**Wydajność** = 54% (1.68 g), żółty osad (Metoda A)

**Temp. topnienia:** 98–100°C.

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): δ 7.25–7.24 (m, H<sub>5</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 7.20–7.19 (m, H<sub>3</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 7.05–6.98 (m, H<sub>5</sub><sup>thioph</sup>, *p*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 3H), 6.64 (part of AA'XX' system, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.0 and <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.2 and 1.1 Hz, *p*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2H), 5.09 (d, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 24.0 Hz, CHP, 1H), 3.82 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.8 Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H), 3.65 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.8 Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H), 2.24 (s, CH<sub>3</sub>, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz): δ 143.63 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 13.4 Hz, C<sup>2</sup><sub>thioph</sub>), 139.77 (C<sub>arom</sub>), 129.79 (C<sub>arom</sub>), 128.40 (C<sub>arom</sub>), 127.15 (d, J = 2.4 Hz, C<sub>thioph</sub>), 126.26 (d, J = 7.4 Hz, C<sub>thioph</sub>), 125.41 (d, J = 3.4 Hz, C<sub>thioph</sub>), 114.25 (C<sub>arom</sub>), 54.13 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 7.1 Hz, POC), 53.81 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 7.1 Hz, POC), 52.12 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub> = 157.9 Hz, PC), 20.40 (ArC).

<sup>31</sup>P-NMR (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 23.27.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>3</sub>PS: C, 54.01, H, 5.83, N, 4.50. Found: C, 54.13, H, 5.88, N, 4.63.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu- heksan = 4:1

– ***N*-(2-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (5d)**

**Wydajność** = 57%, jasnożółty osad (Metoda B)

**Temp. topnienia:** 68–69°C.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): δ 7.21 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>PH</sub> = 1.2 Hz, H<sub>3</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 7.17–7.16 (m, H<sub>5</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 6.96 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz and 3.6 Hz, H<sub>4</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 6.79–6.76 (m, *o*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2H), 6.72–6.69 (m, *o*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1H), 6.60–6.59 (m, *o*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1H), 5.17 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz and <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 7.8 Hz, NH, 1H), 5.07 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz and <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 23.4 Hz, CHP, 1H), 3.86 (s, OCH<sub>3</sub>, 3H), 3.78 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.8 Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H), 3.65 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.2 Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz): δ 147.5 (C<sub>arom</sub>), 139.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 1.4 Hz, C<sub>arom</sub>), 135.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 13.1 Hz, C<sup>2</sup><sub>thioph</sub>), 127.1 (d, <sup>4</sup>J<sub>CP</sub> = 2.9 Hz, C<sub>thioph</sub>), 126.2 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 7.2 Hz, C<sub>thioph</sub>), 125.4 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 3.6 Hz, C<sub>thioph</sub>), 121.0 (C<sub>arom</sub>), 118.4 (C<sub>arom</sub>), 111.3 (C<sub>arom</sub>), 109.9 (C<sub>arom</sub>), 55.6 (ArOC), 54.2 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 7.0 Hz, POC), 53.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 7.0 Hz, POC), and 51.5 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub> = 159.5 Hz, PC).

<sup>31</sup>P-NMR (243 MHz CDCl<sub>3</sub>): δ 23.12.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub>PS: C, 51.37, H, 5.54, N, 4.28. Found: C, 51.41, H, 5.48, N, 4.30.

**Rozpuszczalnik:** DCM – octan etylu = 1:1

– ***N*-(3-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (5e)**

**Wydajność** = 72% (2.35 g), żółty olej (Metoda A)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): δ 7.26–7.25 (m, H<sub>5</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 7.20–7.19 (m, H<sub>3</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 7.08 (dd, *J*<sub>1</sub> = *J*<sub>2</sub> = 7.8 Hz, *m*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1H), 7.01–6.99 (m, H<sub>4</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 6.35–6.34 (m, *m*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1H), 6.33–6.31 (m, *m*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1H), 6.28–6.26 (m, *m*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 1H), 5.10 (d, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> =

24.0 Hz, CHP, 1H), 3.81 (d,  $^3J_{\text{PH}} = 10.8$  Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H), 3.74 (s, OCH<sub>3</sub>, 3H), 3.65 (d,  $^3J_{\text{PH}} = 10.8$  Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz):  $\delta$  160.77(C<sub>arom</sub>), 147.34 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 13.5$  Hz, C<sup>2</sup><sub>thioph</sub>), 139.46 (C<sub>arom</sub>), 130.12 (C<sub>arom</sub>), 127.2 (d,  $J = 3.0$  Hz, C<sub>thioph</sub>), 126.3 (d,  $J = 6.9$  Hz, C<sub>thioph</sub>), 125.5 (d,  $J = 3.5$  Hz, C<sub>thioph</sub>), 106.91 (C<sub>arom</sub>), 104.38 (C<sub>arom</sub>), 100.23 (C<sub>arom</sub>), 55.08 (ArOC), 54.12 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 6.7$  Hz, POC), 53.90 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 6.7$  Hz, POC), 51.69 (d,  $^1J_{\text{CP}} = 158.4$  Hz, PC).

**<sup>31</sup>P-NMR** (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  23.06.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub>PS: x<sup>1/5</sup> C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>: C, 52.98, H, 6.08, N, 4.06. Found: C, 52.97, H, 5.96, N, 4.38.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu- heksan = 4:1

– ***N*-(4-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (5f)**

**Wydajność** = 80% (2.62 g), żółty olej (Metoda A)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz):  $\delta$  7.25–7.23 (m, H<sub>5</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 7.18–7.16 (m, H<sub>3</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 6.99–6.98 (m, H<sub>4</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 6.75 and 6.66 (AA'XX' system,  $^3J_{\text{HH}} = 9.0$  and  $^4J_{\text{HH}} = 1.2$  and 1.1 Hz, *p*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4H), 4.94 (d,  $^2J_{\text{PH}} = 23.4$  Hz, CHP, 1H), 4.54 (d,  $J = 8.4$  Hz, NH, 1H), 3.81 (d,  $^3J_{\text{PH}} = 10.8$  Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H), 3.72 (s, OCH<sub>3</sub>, 3H), 3.64 (d,  $^3J_{\text{PH}} = 10.8$  Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz):  $\delta$  153.26 (C<sub>arom</sub>), 139.91 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 14.1$  Hz, C<sup>2</sup><sub>thioph</sub>), 139.73 (C<sub>arom</sub>), 127.1 (d,  $J = 2.8$  Hz, C<sub>thioph</sub>), 126.3 (d,  $J = 6.9$  Hz, C<sub>thioph</sub>), 125.4 (d,  $J = 4.0$  Hz, C<sub>thioph</sub>), 115.69 (C<sub>arom</sub>), 114.83 (C<sub>arom</sub>), 55.63 (ArOC), 54.13 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 6.7$  Hz, POC), 53.81 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 6.7$  Hz, POC), 52.85 (d,  $^1J_{\text{CP}} = 158.4$  Hz, PC).

**<sup>31</sup>P-NMR** (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  23.33.

**Analiza elementarna obliczona dla C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub>PS** x<sup>1/6</sup> C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>: C, 53.16, H, 5.69, N, 4.09. Found: C, 53.21, H, 5.78, N, 4.26.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu- heksan = 4:1

– *N*-benzyloamino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (5g)

**Wydajność** = 57% (1.77 g) żółty olej (Metoda A)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): 7.26–7.20 (m, PhH, H<sub>5</sub><sup>thioph</sup>, 5H), 7.18–7.15 (m, PhH, 1H), 7.02–7.01 (m, H<sub>3</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 6.93 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 and 3.6 Hz, H<sub>4</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 4.24 (d, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 23.8 Hz, CHP, 1H), 3.82 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.8 Hz, CH<sub>2</sub>Ph, 1H), 3.68 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.2 Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H), 3.57 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.8 Hz, CH<sub>2</sub>Ph, 1H), 3.55 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.2 Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz): δ 139.30 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 4.3 Hz, C<sup>2</sup><sub>thioph</sub>), 138.99 (C<sub>arom</sub>), 128.47 (d, J = 7.5 Hz, C<sub>thioph</sub>), 128.38 (C<sub>arom</sub>), 128.23 (C<sub>arom</sub>), 127.28 (C<sub>arom</sub>), 126.97 (d, J = 3.5 Hz, C<sub>thioph</sub>), 125.68 (d, J = 3.3 Hz, C<sub>thioph</sub>), 54.74 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub> = 159.7 Hz, PC), 53.94 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.8 Hz, POC), 53.63 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.8 Hz, POC), 51.24 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 15.6 Hz, PCC).

<sup>31</sup>P-NMR (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 23.98.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>3</sub>PS: C, 54.01, H, 5.83, N, 4.50. Found: C, 53.77, H, 5.67, N, 4.46

**Rozpuszczalnik:** octan etylu- heksan = 4:1

– *N*-(*tert*-butylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (5h)

**Wydajność** = 66% (7.31g), jasnożółty osad (Metoda A)

**Temp. topnienia:** 48–49°C.

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): δ 7.22–7.21 (m, H<sub>5</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 7.09–7.08 (m, H<sub>3</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 6.97–6.96 (m, H<sub>4</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 5.10 (d, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 24.0 Hz, CHP, 1H), 3.79 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.8 Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H), 3.59 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 10.8 Hz, POCH<sub>3</sub>, 3H); 1.06 (s, CCH<sub>3</sub>, 9H).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz): δ 143.82 (C<sup>2</sup><sub>thioph</sub>), 126.93 (d, <sup>4</sup>J<sub>CP</sub> = 2.6 Hz, C<sup>5</sup><sub>thioph</sub>), 125.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 7.8 Hz, C<sup>3</sup><sub>thioph</sub>), 124.8 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 4.0 Hz, C<sup>4</sup><sub>thioph</sub>), 54.50 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.7 Hz, POC), 53.37 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.7 Hz, POC), 52.43 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 14.0 Hz, CH<sub>3</sub>C), 50.76 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub> = 161.2 Hz, PC), 29.63 (CH<sub>3</sub>)

<sup>31</sup>P-NMR (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 24.60.

**Analiza elementarna:** obliczona dla  $C_{11}H_{20}NO_3PS$ : C, 47.64, H, 7.27, N, 5.05.  
Found: C, 47.71, H, 7.25, N, 4.99.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu- heksan = 4:1

– ***N*-benzhydroamino(2-tienylo)metylofosfonian dimetylu (5i)**

**Wydajność** = 41% (1.59 g), żółty olej (Metoda A)

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz): 7.44–7.34 (m, PhH,  $H_5^{thioph}$ , 6H), 7.32–7.22 (m, PhH, 5H), 7.07–7.06 (m,  $H_3^{thioph}$ ,  $H_4^{thioph}$ , 2H), 4.91 (s, CH, 1H), 4.29 (d,  $^2J_{PH} = 22.8$  Hz, CHP, 1H), 3.91 (d,  $^3J_{PH} = 10.8$  Hz,  $POCH_3$ , 3H), 3.64 (d,  $^3J_{PH} = 10.8$  Hz,  $POCH_3$ , 3H), 2.57–2.48 (bs, NH, 1H).

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 150 MHz):  $\delta$  139.36 (d,  $^2J_{CP} = 6.4$  Hz,  $C_{thioph}^2$ ), 139.73 ( $C_{arom}$ ), 128.75 ( $C_{arom}$ ), 128.56 ( $C_{arom}$ ), 127.89 ( $C_{arom}$ ), 127.17 (d,  $J = 7.9$  Hz,  $C_{thioph}$ ), 127.07 (d,  $J = 2.3$  Hz,  $C_{thioph}$ ), 125.72 (d,  $J = 3.4$  Hz,  $C_{thioph}$ ), 63.81 (d,  $^3J_{CP} = 16.0$  Hz, PCC), 54.12 (d,  $^2J_{CP} = 6.7$  Hz, POC), 53.53 (d,  $^2J_{CP} = 6.7$  Hz, POC), 53.19 (d,  $^1J_{CP} = 161.5$  Hz, PC).

$^{31}P$ -NMR (243 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  24.32.

**Analiza elementarna:** obliczona dla  $C_{20}H_{22}NO_3PS \times \frac{1}{5} C_7H_8$ : C, 63.33, H, 5.86, N, 3.45. Found: C, 63.54, H, 5.69, N, 3.75.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu- heksan = 4:1

Powyższe wyniki, dotyczące aminofosfonianów **5 a-i**, zostały opublikowane przez Lewkowskiego i in. w 2016 r. oraz Rogacz i in. w 2018 r. [179, 181].

– ***N*-(2-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenyłu (6a)**

**Wydajność** = 71% (3.10 g) kremowy osad,

**Temp. topnienia** = 62–64°C.

$^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.29–7.26 (m, 6H, ArH); 7.18–7.14 (m, 2H,  $C_6H_4$ ); 7.10–7.07 (m, 4H, ArH); 7.02–7.00 (m, 3H, ArH); 6.75 (approx. t,  $^3J_{HH} = 7.4$  Hz,



1H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 6.68 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 5.48 (d, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 24.1 Hz, 1H, CHP); 4.58 (br. s, 1H, NH); 2.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 150.6 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.5 Hz, POC<sub>Ar</sub>); 150.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.7 Hz, POC<sub>Ar</sub>); 143.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 13.0 Hz, PCC<sub>thioph</sub>); 138.8 (C<sub>Ar</sub>); 130.6 (C<sub>Ar</sub>); 129.8 (C<sub>Ar</sub>); 127.4 (d, <sup>5</sup>J<sub>CP</sub> = 2.9 Hz, c<sup>5</sup><sub>thioph</sub>); 127.2 (C<sub>Ar</sub>); 126.9 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.3 Hz, c<sup>3</sup><sub>thioph</sub>); 125.9 (d, <sup>4</sup>J<sub>CP</sub> = 4.1 Hz, C<sub>thioph</sub>); 125.5 (C<sub>Ar</sub>); 125.4 (C<sub>Ar</sub>); 123.6 (C<sub>Ar</sub>); 120.7 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 4.1 Hz, C<sub>Ar</sub>); 120.5 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 4.3 Hz, C<sub>Ar</sub>); 119.2 (C<sub>Ar</sub>); 111.6 (C<sub>Ar</sub>); 52.2 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub> = 159.9 Hz, CP); 17.5 (Ar-CH<sub>3</sub>).

<sup>31</sup>P NMR (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.33.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>3</sub>PS: C, 66.19; H, 5.09; N, 3.22; S, 7.36. Found: C, 66.01; H, 5.23; N, 3.42; S, 7.23.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu-heksan = 3:1

– *N*-(3-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenylo (6b)

**Wydajność** = 94% (4.10 g) kremowy osad, (Metoda A)

**Temp. topnienia** = 124–126°C

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.29–7.24 (m, 6H, ArH); 7.17–7.14 (m, 2H, ArH); 7.09–7.05 (m, 3H, ArH); 7.00–6.98 (m, 3H, ArH); 6.62 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 6.55–6.54 (m, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 6.52 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 and <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.3 Hz, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 5.42 (d, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 24.1 Hz, 1H, CHP); 4.61 (broad s, 1H, NH); 2.26 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 150.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.8 Hz, POC<sub>Ar</sub>); 150.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.8 Hz, POC<sub>Ar</sub>); 145.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 13.2 Hz, PCC<sub>thioph</sub>); 139.3 (C<sub>Ar</sub>); 138.6 (C<sub>Ar</sub>); 129.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 2.3 Hz, C<sub>Ar</sub>); 129.3 (C<sub>Ar</sub>); 127.4 (d, <sup>5</sup>J<sub>CP</sub> = 2.9 Hz, c<sup>5</sup><sub>thioph</sub>); 127.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.1 Hz, c<sup>3</sup><sub>thioph</sub>); 125.9 (d, <sup>4</sup>J<sub>CP</sub> = 3.9 Hz, C<sub>thioph</sub>); 125.5 (C<sub>Ar</sub>); 125.4 (C<sub>Ar</sub>); 120.8 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 4.3 Hz, C<sub>Ar</sub>); 120.5 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 4.4 Hz, C<sub>Ar</sub>); 120.4 (C<sub>Ar</sub>); 115.2 (C<sub>Ar</sub>); 111.3 (C<sub>Ar</sub>); 52.1 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub> = 161.5 Hz, CP); 21.7 (Ar-CH<sub>3</sub>).

<sup>31</sup>P NMR (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.33.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>3</sub>PS: C, 66.19; H, 5.09; N, 3.22; S, 7.36. Found: C, 66.30; H, 5.24; N, 3.42; S, 7.15.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu-heksan = 3:1

– *N*-(4-metylofenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenyłu (6c)

**Wydajność** = 80% (3.50 g) kremowy osad, (Metoda A)

**Temp. topnienia** = 149–151 °C

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.29–7.24 (m, 6H, ArH); 7.17–7.12 (m, 2H, ArH); 7.10–7.09 (m, 2H, ArH); 7.00–6.97 (m, 5H, ArH); 6.65–6.62 (m, 2H, ArH); 5.38 (dd, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 24.0 and <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.1 Hz, 1H, CHP); 4.54 (dd, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, 1H, NH); 2.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 150.5 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.8 Hz, POC<sub>Ar</sub>); 150.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.7 Hz, POC<sub>Ar</sub>); 143.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 13.8 Hz, PCC<sub>thioph</sub>); 138.7 (C<sub>Ar</sub>); 130.0 (C<sub>Ar</sub>); 129.8 (d, <sup>4</sup>J<sub>CP</sub> = 3.1 Hz, C<sub>Ar</sub>); 128.8 (C<sub>Ar</sub>); 127.4 (d, <sup>5</sup>J<sub>CP</sub> = 2.7 Hz, C<sup>5</sup><sub>thioph</sub>); 127.0 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.6 Hz, C<sup>3</sup><sub>thioph</sub>); 125.9 (d, <sup>4</sup>J<sub>CP</sub> = 4.1 Hz, C<sub>thioph</sub>); 125.5 (C<sub>Ar</sub>); 125.4 (C<sub>Ar</sub>); 120.8 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 4.2 Hz, C<sub>Ar</sub>); 120.5 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 3.9 Hz, C<sub>Ar</sub>); 114.5 (C<sub>Ar</sub>); 52.4 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub> = 161.5 Hz, CP); 20.6 (Ar-CH<sub>3</sub>).

<sup>31</sup>P NMR (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.43.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>3</sub>PS: C, 66.19; H, 5.09; N, 3.22; S, 7.36.

Found: C, 66.33; H,

**Rozpuszczalnik:** octan etylu-heksan = 3:1

– *N*-(2-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenyłu (6d)

**Wydajność** = 89% (4.00 g) kremowy osad, (Metoda A)

**Temp. topnienia** = 91–93 °C

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.28–7.24 (m, 6H, ArH); 7.16–7.13 (m, 2H, ArH); 7.09–7.08 (m, 2H, ArH); 7.04–7.02 (m, 2H, ArH); 6.99–6.98 (m, 1H, ArH); 6.83–6.80 (m, 2H, ArH); 6.76–6.74 (m, 1H, ArH); 6.67–6.66 (m, 1H, ArH); 5.41 (d, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 23.7 Hz, 1H, CHP); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 150.5 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.9 Hz, POC<sub>Ar</sub>); 150.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.3 Hz, POC<sub>Ar</sub>); 147.6 (C<sub>Ar</sub>); 138.7 (C<sub>Ar</sub>); 135.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 13.1 Hz, PCC<sub>thioph</sub>); 129.8 (d, <sup>4</sup>J<sub>CP</sub> = 4.9 Hz, C<sub>Ar</sub>); 127.4 (d, <sup>5</sup>J<sub>CP</sub> = 2.6 Hz, C<sup>5</sup><sub>thioph</sub>); 127.0 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.3 Hz,

$C_{\text{thioph}}$ <sup>3</sup>: 125.9 (d,  $^4J_{\text{CP}} = 4.0$  Hz,  $C_{\text{thioph}}$ ); 125.4 (d,  $^4J_{\text{CP}} = 4.1$  Hz,  $C_{\text{Ar}}$ ); 121.2 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 120.7 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 4.2$  Hz,  $C_{\text{Ar}}$ ); 120.6 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 4.3$  Hz,  $C_{\text{Ar}}$ ); 118.8 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 111.5 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 110.1 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 55.7 (Ar-OCH<sub>3</sub>); 52.0 (d,  $^1J_{\text{CP}} = 160.6$  Hz, CP).

<sup>31</sup>P NMR (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  13.37.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>4</sub>PS: C, 63.85; H, 4.91; N, 3.10; S, 7.10.

Found: C, 63.63; H, 4.97; N, 3.25; S, 7.07.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu-heksan = 3:1

– *N*-(3-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenylo (**6e**)

**Wydajność** = 75% (3.40 g) kremowy osad, (Metoda A)

**Temp. topnienia** = 95–97°C

<sup>1</sup>H NMR(600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.29–7.24 (m, 6H, ArH); 7.17–7.12 (m, 2H, ArH); 7.10–7.07 (m, 3H, ArH); 7.00–6.98 (m, 3H, ArH); 6.36 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 8.2$  and  $^4J_{\text{HH}} = 2.3$  Hz, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 6.33 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 8.0$  and  $^4J_{\text{HH}} = 2.3$  Hz, 1H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 6.27–6.26 (m, 1H, ArH); 5.40 (dd,  $^2J_{\text{PH}} = 24.1$  and  $^3J_{\text{HH}} = 8.7$  Hz, 1H, CHP); 4.69 (dd,  $^3J_{\text{PH}} = ^3J_{\text{HH}} = 8.3$  Hz, 1H, NH); 3.74 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  160.9 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 150.4 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 9.8$  Hz, POC<sub>Ar</sub>); 150.3 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 9.8$  Hz, POC<sub>Ar</sub>); 147.2 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 13.7$  Hz, PCC<sub>thioph</sub>); 138.4 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 130.3 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 129.9 (d,  $^4J_{\text{CP}} = 4.0$  Hz,  $C_{\text{Ar}}$ ); 129.6 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 127.5 (d,  $^5J_{\text{CP}} = 3.0$  Hz,  $C_{\text{thioph}}^5$ ); 127.1 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 7.6$  Hz,  $C_{\text{thioph}}^3$ ); 126.0 (d,  $^4J_{\text{CP}} = 4.0$  Hz,  $C_{\text{thioph}}$ ); 125.6 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 125.5 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 121.2 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 120.8 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 4.2$  Hz,  $C_{\text{Ar}}$ ); 120.5 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 3.9$  Hz,  $C_{\text{Ar}}$ ); 115.5 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 107.1 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 104.7 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 100.4 ( $C_{\text{Ar}}$ ); 55.2 (Ar-OCH<sub>3</sub>); 52.0 (d,  $^1J_{\text{CP}} = 161.2$  Hz, CP).

<sup>31</sup>P NMR (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  13.21.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>4</sub>PS: C, 63.85; H, 4.91; N, 3.10; S, 7.10.

Found: C, 63.93; H, 4.97; N, 3.27; S, 7.04.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu-heksan = 3:1

– *N*-(4-metoksyfenylo)amino(2-tienylo)metylofosfonian difenylo (**6f**)

**Wydajność** = 74% (3.35 g) kremowy osad, (Metoda A)

**Temp. topnienia** = 87–91 °C

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.29–7.23 (m, 6H, ArH); 7.17–7.10 (m, 4H, ArH); 7.00–6.98 (m, 3H, ArH); 6.77–6.76 (m, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 6.69–6.67 (m, 2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 5.32 (d, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 23.7 Hz, 1H, CHP); 4.41 (broad s, 1H, NH); 3.73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 156.1 (C<sub>Ar</sub>); 153.5 (C<sub>Ar</sub>); 150.5 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.9 Hz, POC<sub>Ar</sub>); 150.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.8 Hz, POC<sub>Ar</sub>); 139.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 14.9 Hz, PCC<sub>thioph</sub>); 129.9 (d, <sup>4</sup>J<sub>CP</sub> = 3.0 Hz, C<sub>Ar</sub>); 129.6 (C<sub>Ar</sub>); 128.4 (C<sub>Ar</sub>); 127.4 (d, <sup>5</sup>J<sub>CP</sub> = 2.3 Hz, C<sup>5</sup><sub>thioph</sub>); 127.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.6 Hz, C<sup>3</sup><sub>thioph</sub>); 126.0 (d, <sup>4</sup>J<sub>CP</sub> = 4.0 Hz, C<sub>thioph</sub>); 125.6 (C<sub>Ar</sub>); 125.5 (C<sub>Ar</sub>); 120.8 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 3.7 Hz, C<sub>Ar</sub>); 120.5 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 4.3 Hz, C<sub>Ar</sub>); 120.4 (C<sub>Ar</sub>); 116.0 (C<sub>Ar</sub>); 115.5 (C<sub>Ar</sub>); 115.0 (C<sub>Ar</sub>); 55.8 (Ar-OCH<sub>3</sub>); 53.2 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub> = 161.8 Hz, CP).

**<sup>31</sup>P NMR** (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13.52.

**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>4</sub>PS: C, 63.85; H, 4.91; N, 3.10; S, 7.10. Found: C, 63.46; H, 5.06; N, 3.04; S, 6.96.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu - heksan = 3:1

Powyższe wyniki, dotyczące aminofosfonianów **6 a-f**, zostały opublikowane przez Rogacz i in. w 2019 r [157].

#### – *N*-furfuryloamino(2-tienylo)metylofosfonian dibenzylu (**7**)

**Wydajność** = 62% (2.81 g), żółty olej, (Metoda A)

**<sup>1</sup>H NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): δ 7.36–7.32 (m, PhH, 10H), 7.25–7.23 (m, H<sub>5</sub><sup>thioph</sup>, H<sub>5</sub><sup>fur</sup>, 1H), 7.11–7.09 (m, H<sub>3</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 7.03–7.02 (m, H<sub>4</sub><sup>thioph</sup>, 1H), 6.33–6.31 (m, H<sub>3</sub><sup>fur</sup>, 1H), 6.15–6.14 (m, H<sub>4</sub><sup>fur</sup>, 1H), 5.10–5.02 (Part AB of ABX system, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 7.5 and 8.8 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, POCH<sub>2</sub>Ph, CHP, 2H), 5.00 (Part A of AMX system, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 7.2 and <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.8 Hz, POCH<sub>2</sub>Ph, 1H), 4.90 (Part M of AMX system, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 8.2 and <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.8 Hz, POCH<sub>2</sub>Ph, 1H), 4.43 (d, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub> = 19.3 Hz, CHP, 1H), 3.92 and 3.69 (2d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.6 Hz, CH<sub>2</sub>Fur, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR**(150 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 152.60 (C<sub>arom</sub>), 142.12 (C<sub>arom</sub>), 138.67 (d, J = 4.8 Hz, C<sub>arom</sub>), 136.32 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 6.0 Hz, C<sub>arom</sub>), 136.19 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 6.3 Hz, C<sub>arom</sub>), 128.48 (d, J = 6.5 Hz, C<sub>arom</sub>), 128.34 (C<sub>arom</sub>), 128.28 (C<sub>arom</sub>), 128.00 (C<sub>arom</sub>), 127.84 (C<sub>arom</sub>), 127.36

(C<sub>arom</sub>), 127.30 (C<sub>arom</sub>), 126.92 (d,  $J = 2.4$  Hz, C<sub>arom</sub>), 125.82 (d,  $J = 3.5$  Hz, C<sub>arom</sub>), 110.14 (C<sub>arom</sub>), 107.92 (C<sub>arom</sub>), 68.58 and 68.18 (2d,  $^2J_{CP} = 40.6$  Hz, POC), 55.11 (d,  $^1J_{CP} = 159.8$  Hz, PC), 43.72 (d,  $^3J_{CP} = 16.4$  Hz, NC).

**<sup>31</sup>P NMR** (243 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  22.19.

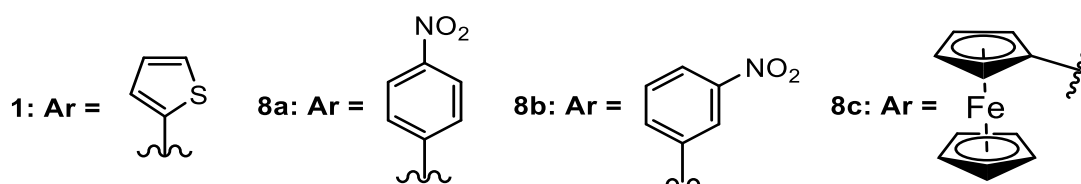
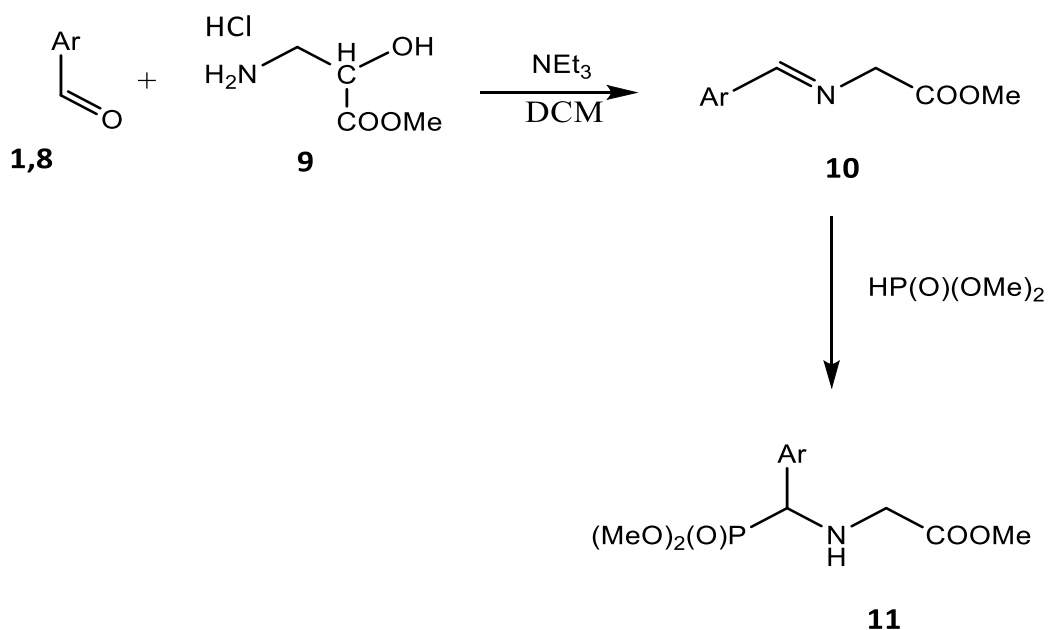
**Analiza elementarna:** obliczona dla C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>4</sub>PS <sup>1</sup>/<sub>10</sub> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: C, 62.66, H, 5.28, N, 3.03. Found: C, 62.77, H, 5.03, N, 3.05.

**Rozpuszczalnik:** octan etylu- heksan = 3:2

Wyniki, dotyczące aminofosfonianu **7**, zostały opublikowane przez Lewkowski i in. w 2016 r. [179].

Kluczowym wątkiem planowanych prac syntetycznych było otrzymanie C- podstawionych pochodnych *N*-fosfonometyloglicyny, z wykorzystaniem wcześniej opisanych doświadczeń na polu syntezy amino(tienylo)metylofosfonianów (Schemat 32). W pierwszym etapie skoncentrowano się na otrzymaniu pochodnych glicyny- estrów metylowych kwasów 2-((arylometylideno)amino)octowych, wychodząc z chlorowodoru estru metylowego glicyny oraz wybranych, aromatycznych aldehydów. Syntezę imin prowadzono w chlorku metylenu w obecności trietyloaminy oraz siarczanu (VI) magnezu.

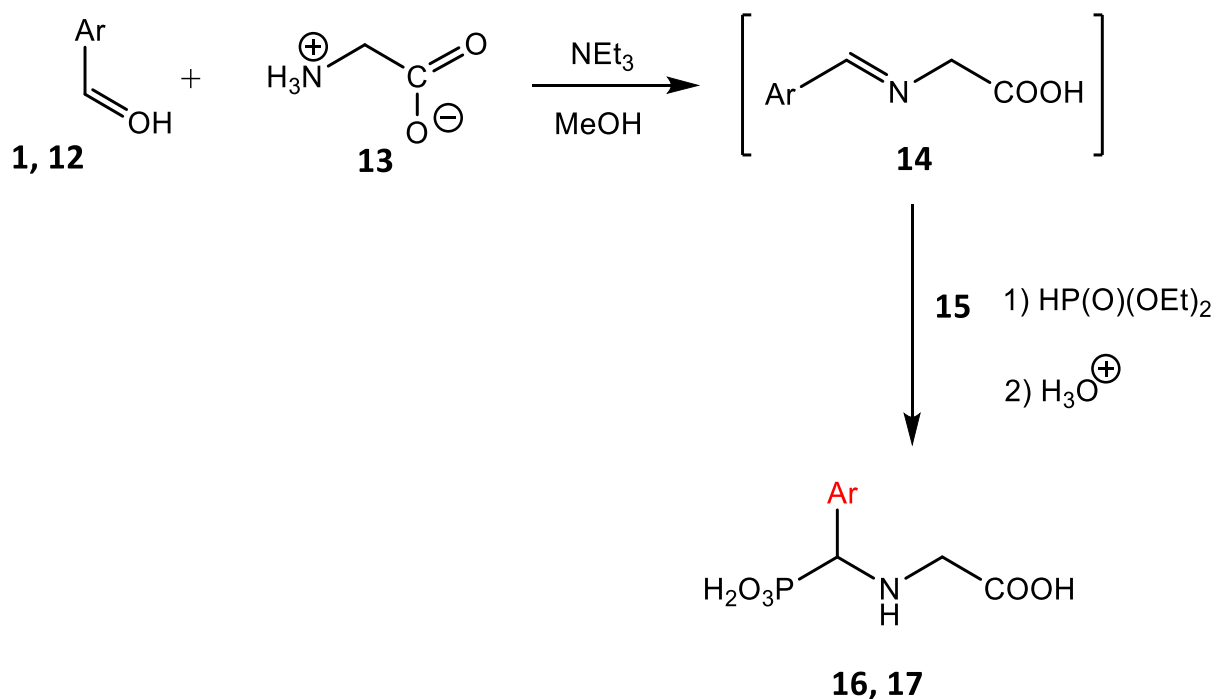
Uzyskane wyniki nie spełniły oczekiwań. Najlepsze rezultaty uzyskano w przypadku reakcji z aldehydem *p*-nitrobenzoesowym (60%), oraz tiofeno-2-karboaldehydem (70%). W pozostałych przypadkach, ilość otrzymywanej iminy były niezadowalające. Podjęte próby transformacji otrzymanych arylo-metylenopochodnych glicyny w odpowiednie aminofosfoniany nie przebiegały zbyt optymistycznie. Formowanie oczekiwanych produktów obserwowano w widmach NMR, jednakże ich izolacja w czystej formie okazała się mało efektywna. Również zastosowanie trójskładnikowej reakcji Kabachnika – Fieldsa, w przypadku syntezy pochodnych glicyny, nie dostarczyło oczekiwanych produktów.



**Schemat 32.** Schemat syntezy aminotienylometylofosfonianów.

Niepowodzenie tego etapu prac syntetycznych, spowodowało poszukiwania w bibliotece dostępnych związków, układów spełniających wymagania, strukturalne, jako pochodnych glifosatu. Ostatecznie wybór padł na serię *N*-[(arylo)(fosfono)metylo] pochodnych glicyny (Schemat 33), zsyntezowanych na Wydziale Chemii UŁ [176, 181]. Ogólna strategia syntezy tego typu połączeń obejmowała 3 etapy, działając na glicynę wybranym aldehydem aromatycznym, w obecności trietyloaminy w metanolu, jako rozpuszczalniku, generowana była w imina. Dodanie w następnym etapie fosfonianu dietylu, prowadziło po hydrolizie kwasowej (stężony kwas solny) do otrzymania oczekiwanych *N*-[(arylo)(fosfono)metylo] pochodnych glicyny.

Wszystkie spośród syntezowanych związków **5-7**, jak i włączonych do badań pochodnych **16**, zostały w następnej kolejności poddane serii badań biologicznych, opisanych w dalszej części pracy. Dodatkowo do badań włączono również glifosat, jako modelowy (referencyjny) układ w badaniach.



Związek	Ar	Związek	Ar
<b>16a</b> <b>16 (3-Py)</b>		<b>16e</b> <b>16 (3-MeOC6H4)</b>	
<b>16b</b> <b>16 (2-Tienyl)</b>		<b>16f</b> <b>16 (4-OHC6H4)</b>	
<b>16c</b> <b>16 (4-MeOC6H4)</b>		<b>16g</b> <b>16 (4-ClC6H4)</b>	
<b>16d</b> <b>16 (4-OH-3-MeO-C6H3)</b>		<b>17</b> <b>17 (glifosat)</b>	H

**Schemat 33.** Synteza C-podstawionych pochodnych *N*-fosfonometyloglicyny (glifosatu).

Charakterystyka fizykochemiczna związków **16 a-g**, została już opublikowana, w związku z czym, nie podano tych informacji w niniejszej pracy.

## 4.2. Badania fitotoksyczności aminofosfonianów 5-7, 16, 17

### 4.2.1. Wpływ aminofosfonianów na wysokość pędu, długość korzeni i świeżą masę badanych roślin z uwzględnieniem wartości $EC_{50}$ , jako wskaźnika stopnia oddziaływania aminofosfonianów na rośliny

Intensyfikacja produkcji rolniczej, wynikająca ze wzrastającego zapotrzebowania na żywność, a także chęci uzyskania większych dochodów przez jej producentów, niesie ze sobą duże zagrożenie dla środowiska naturalnego. Wszelkiego rodzaju ksenobiotyki, które są związkami chemicznymi, niewystępującymi naturalnie w środowisku i żywych organizmach, jak np. środki ochrony roślin, stosowane do zwalczania chwastów, poza zamierzonym efektem, mogą wywoływać także niekorzystne i trudne do przewidzenia skutki. Jednymi z najbardziej narażonych organizmów są rośliny w ekosystemach lądowych. Produkują tlen i pożywienie dla innych żywych organizmów, a także są regulatorami kluczowych procesów i przemian ekosystemowych, w związku z tym, różne gatunki roślin są wykorzystywane, jako wskaźniki biologiczne w badaniach ekotoksyczności gleb [182].

Oddziaływanie ksenobiotyków, powstałe w skutek intoksykacji gleb np. na skutek splukiwania oprysku dolistnego, lub jako herbicyd doglebowy, może przybierać różne formy, zależne m.in. od gatunku rośliny. W związku z tym, niektóre rośliny będą charakteryzować się zdolnością do akumulacji tych zanieczyszczeń, poprzez wbudowanie ich w strukturę własnych komórek, natomiast inne mogą pobierać i metabolizować toksyny, jako efekt przystosowania się do trudnych warunków bytowania w skażonym środowisku. Różnice we wpływie danej substancji na roślinę, mogą być związane z przynależnością do jeden z dwóch grup roślin, tzn. jednoliściennych i dwuliściennych. Rośliny należące do jednoliściennych, charakteryzuje: jeden liścień w zarodku, wiązkowy system korzeniowy, z korzeniami przybyszowymi, trójdzielność kwiatów (lub wielokrotność tej liczby), bezogonkowe liście o wydłużonej blaszce liściowej z równoległym unerwieniem, a także naprzeciwległe, zamknięte wiązki przewodzące, rozrzucone po całej powierzchni przekroju łodygi. W przypadku roślin dwuliściennych: nasiono posiada dwa liścienie w zarodku, palowy system korzeniowy z korzeniami bocznymi, kwiaty cztero- lub pięciodzielne (lub ich wielokrotność), ogonki liściowe, a także otwarte, ułożone na przekroju łodygi



koncentrycznie (w pierścien) wiązki przewodzące [183]. Każda roślina, niezależnie od grupy, jest narażona na zanieczyszczenia bezpośrednio przez korzenie, gdzie substancje te, wywołują pierwsze toksyczne objawy [184]. Do ogólnych objawów wpływu substancji na system korzeniowy roślin należy np. naruszenie wzrostu i rozwoju całego systemu korzeniowego, które w dalszej kolejności ogranicza pobór składników pokarmowych przez roślinę. Może również dochodzić do deformacji korzeni – najpierw korzenia głównego, a potem bocznych, co przejawia się ich grubieniem, łamliwością i skróceniem, czy brunatnienia stożków wzrostu i ich zamierania. Zmiany anatomiczne, obejmują uszkodzenia tkanek w strefie merystematycznej, jak i strefie wzrostu, a w pierwszej kolejności zniszczeniu ulegają komórki epidermy. Z kolei w wewnętrznych warstwach, pojawiają się zagłębienia i szczeliny, które sięgają do kory pierwotnej. W niektórych przypadkach, gdzie toksyczność substancji jest bardzo wysoka, nekroza endodermy, może prowadzić do oddzielenia się walca osiowego i powodować zahamowanie transportu wody oraz soli mineralnych [185, 186].

Działanie ksenobiotyków, jak np. środki ochrony roślin, oparte jest nie tylko na wpływie danej substancji bezpośrednio na korzenie, ale i na nadziemne (zielone) części roślin. Substancja rozpylona na powierzchnię liścia, może być włączona do metabolizmu rośliny, a związki chemiczne przenikać do tkanek roślin przez naskórek, jak i aparaty szparkowe na liściach i łodygach. Aparaty szparkowe, to struktury bezpośrednio zaangażowane w różne procesy fizjologiczne, takie jak wymiana gazowa, transpiracja i efektywność wykorzystania wody i niezbędne do utrzymania aktywności metabolicznej i przeprowadzania fotosyntezy roślin. Największą chłonność posiadają młode liście, a w szczególności ich dolna strona, ze względu na większą ilość tych struktur na spodniej części liścia [187, 188]. Istotna jest także obecność tkanki merystematycznej rośliny, która determinuje selektywność chwastobójczą. U jednoliściennych, stożki wzrostu (merystemy wierzchołkowe), umieszczone są bocznie, w dolnych częściach międzywęzli i są chronione przed substancją w formie oprysku, przez otaczające je liście, podczas gdy stożki wzrostu u roślin dwuliściennych stanowią element pąka szczytowego [189]. Spośród wyselekcjonowanych do badań roślin, proponowanych przez przewodnik OECD 208, owies jest przedstawicielem roślin jednoliściennych i charakteryzuje się stosunkowo słabo rozwiniętym systemem korzeniowym, ale ze względu na silne i liczne rozgałęzienia korzeni przybyszowych, pobiera wodę i składniki odżywcze w sposób intensywny [190]. W przypadku dwuliściennej rzodkiewki, posiadającej palowy, ale płytki system korzeniowy, jest ona narażona na zanieczyszczenia obecne w wodzie glebowej warstwy uprawnej. Biorąc pod uwagę

znaczenie korzeni dla rośliny, ich kondycja jest ściśle związana ze wzrostem części nadziemnych roślin, których jakość znajduje odzwierciedlenie w plonie roślin [191].

Charakterystyczną wartością, dzięki której możliwe jest określenie toksyczności badanych związków, jak również porównania między sobą wartości z różnych badań, jest m.in. wartość  $EC_{50}$  (stężenie, które powoduje wystąpienie 50% reakcji toksycznej, im niższe- tym dana substancja jest bardziej toksyczna). Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji UE, określenie tej wartości jest wymogiem stawianym substancjom czynnym, odnośnie wprowadzania ich do obrotu, jako środków ochrony roślin [192, 193]. Wszelkiego rodzaju opublikowane badania, prowadzone z udziałem testów fitotoksyczności podają wartość  $EC_{50}$ , jako istotną w określeniu wpływu badanych substancji na poszczególne części roślin (nadziemne i podziemne). Wartości stężenia  $EC_{50}$  dla roślin jednoliściennych i dwuliściennych mogą się różnić ze względu na różnice w budowie strukturalnej badanych roślin, a co za tym idzie - ich metabolizmie [194–196]. Wartości  $EC_{50}$ , w dalszej części pracy podawano w mg/kg suchej masy gleby.

Często obserwowanym efektem u roślin poddawanych działaniu różnych związków chemicznych, jest zmiana struktury komórek powierzchniowych, którym towarzyszą różnice w zabarwieniu fragmentów liści, dobrze widoczne między kontrolą, a roślinami dotkniętymi wpływem danej substancji. Chlorotyczne odbarwienia nerwów i blaszki liściowej, mogą sięgać do tkanek głębiej położonych, obecnych w wiązce przewodzącej i miększu liści, a po kilku dniach przechodzić w ciemne nekrozy. Również ograniczanie wzrostu, liczne deformacje liści i pędów oraz więdnienie roślin to istotny powód do przeprowadzenia wizualnej oceny roślin, dokumentującej tego typu zmiany [168, 197, 198].

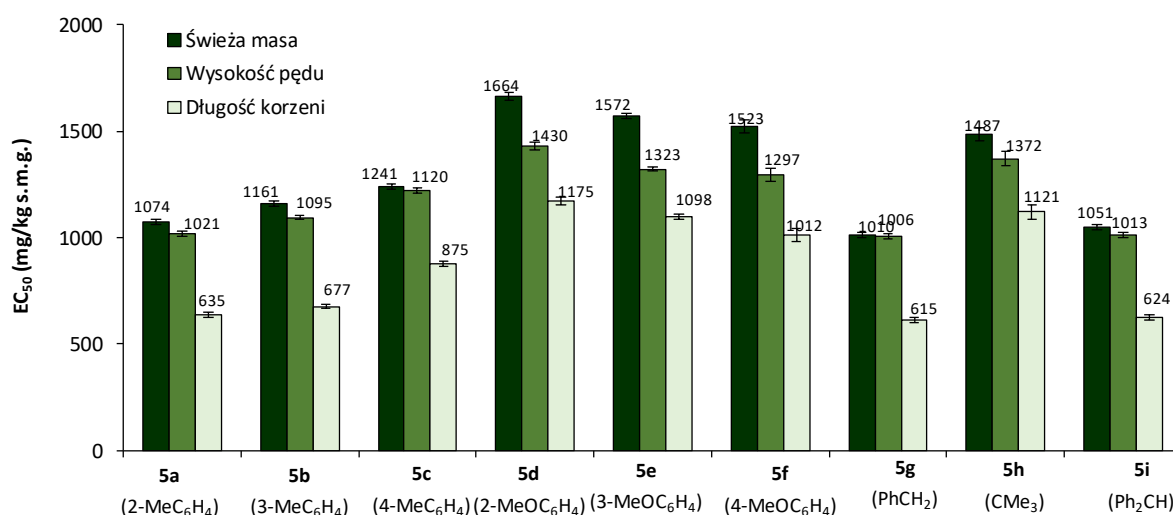
#### 4.2.1.1. Aminofosfoniany dimetylowe **5 a-i**

Wartości procentowego zahamowania wzrostu (GI%) wysokości pędu i świeżej masy dla rzodkiewki i owsa, a także wartości  $EC_{50}$ , poddanych działaniu aminofosfonianów dimetylowych **5 a-i**, zostały opublikowane w badaniach Lewkowskiego i in. w 2016 r. [179].

##### a) Wpływ aminofosfonianów dimetylowych **5 a-i** na owies zwyczajny (*A. sativa*)

Wpływ pochodnych dimetylowych **5 a-i**, na świeżą masę, wysokość pędu i długość korzeni owsa w porównaniu z kontrolą, przedstawiono w tab. 5. Z badań wynika, że aminofosfoniany **5 a-i**, wykazywały nieco silniejszy wpływ na korzenie badanych roślin, niż

na świeżą masę czy wysokość pędu. Aminofosfoniany z grupą metylofenylową (**5 a-c**), biorąc pod uwagę zarówno zahamowanie świeżej masy, wysokości pędu i długości korzenia, przy najwyższym zastosowanym stężeniu (1000 mg/kg s.m.g.), charakteryzowała następująca tendencja fitotoksyczności: **5a** (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) > **5b** (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) > **5c** (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Z kolei w przypadku pochodnych z grupą metoksyfenylową (**5 d-f**), najwyższą toksyczność wykazał związek **5f** (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), następnie **5e** (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) oraz **5d** (2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Porównując działanie substancji **5 g-i**, pochodną **5g** (PhCH<sub>2</sub>) cechowała największa fitotoksyczność i zbliżone działanie do **5a**. Aminofosfonian **5h** (CMe<sub>3</sub>), wykazywał nieco wyższą toksyczność niż związek z podstawnikiem 4- metoksyfenylowym – **5f**. Graficznym potwierdzeniem tych wyników, są uzyskane wartości EC<sub>50</sub> dla wysokości pędu, długości korzenia i świeżej masy owsa, przedstawione na rys. 25.



**Rysunek 25.** Wartości EC<sub>50</sub> dla świeżej masy, pędu i korzenia owsa po ekspozycji na aminofosfoniany **5 a-i**.

SD oznacza odchylenie standardowe (SD, n=3 oznaczenia).

**Tabela 5.** Wpływ aminofosfonianów dimetylowych **5 a-i**, na świeżą masę, wysokość pędu i długość korzenia siewek owsa (*A. sativa*) w porównaniu z kontrolą (średnia ± SD).

Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie przy  $p < 0,05$ .

Stężenie substancji [mg/kg s.m.g.]	Zahamowanie [%]								
	5a (2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	5b (3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	5c (4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	5d (2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	5e (3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	5f (4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	5g (PhCH <sub>2</sub> )	5h (CMe <sub>3</sub> )	5i (Ph <sub>2</sub> CH)
<b>Świeża masa</b>									
100	-2.1±0.8 <sup>j</sup>	1.9±0.8 <sup>i</sup>	-1.1±0.2 <sup>l</sup>	1.1±0.3 <sup>l</sup>	-0.9±0.2 <sup>j</sup>	2.1±0.6 <sup>i</sup>	2.9±1.5 <sup>i</sup>	4.5±0.2 <sup>g</sup>	2.1±0.2 <sup>l</sup>
200	5.4±2.7 <sup>g</sup>	4.1±0.9 <sup>h</sup>	-2.9±0.2 <sup>i</sup>	1.8±0.9 <sup>i</sup>	2.0±0.4 <sup>i</sup>	9.4±1.7 <sup>f</sup>	0.9±0.7 <sup>g</sup>	11.2±0.4 <sup>e</sup>	3.7±0.8 <sup>h</sup>
400	2.2±2.6 <sup>c</sup>	4.7±0.6 <sup>g</sup>	1.2±0.8 <sup>f</sup>	3.4±0.7 <sup>h</sup>	3.1±0.5 <sup>h</sup>	15.9±0.8 <sup>e</sup>	31.8±0.4 <sup>b</sup>	12.8±0.6 <sup>e</sup>	18.3±0.6 <sup>d</sup>
800	23.7±0.3 <sup>d</sup>	22.1±0.3 <sup>d</sup>	5.2±0.3 <sup>g</sup>	4.2±0.4 <sup>g</sup>	8.0±0.8 <sup>f</sup>	24.3±0.2 <sup>d</sup>	30.5±0.9 <sup>b</sup>	18.1±0.4 <sup>d</sup>	21.6±0.3 <sup>d</sup>
1000	34.2±0.9 <sup>b</sup>	29.6±2.6 <sup>a</sup>	19.2±0.9 <sup>d</sup>	8.2±0.9 <sup>f</sup>	18.3±0.3 <sup>d</sup>	29.3±0.3 <sup>c</sup>	42.1±0.7 <sup>a</sup>	38.2±0.4 <sup>a</sup>	32.2±0.5 <sup>b</sup>
<b>Wysokość pędu</b>									
100	1.2±0.9 <sup>i</sup>	2.2±0.6 <sup>i</sup>	-0.1±0.2 <sup>l</sup>	0.1±0.6 <sup>l</sup>	0.1±0.6 <sup>l</sup>	1.2±0.9 <sup>i</sup>	1.2±0.2 <sup>i</sup>	1.7±0.5 <sup>j</sup>	1.0±0.3 <sup>l</sup>
200	4.4±0.1 <sup>h</sup>	3.9±0.3 <sup>h f</sup>	-0.9±0.2 <sup>j</sup>	1.2±0.1 <sup>i</sup>	0.4±0.3 <sup>j</sup>	4.4±0.4 <sup>h</sup>	2.1±0.2 <sup>g</sup>	8.2±0.8 <sup>f</sup>	2.1±0.9 <sup>h</sup>
400	6.6±0.4 <sup>f</sup>	8.2±0.8 <sup>f</sup>	3.8±0.2 <sup>f</sup>	2.3±0.7 <sup>h</sup>	4.2±0.8 <sup>h</sup>	9.4±0.2 <sup>g</sup>	12.3±0.9 <sup>c</sup>	10.3±0.7 <sup>g</sup>	15.3±0.6 <sup>e</sup>
800	21.2±0.5 <sup>b</sup>	19.3±0.7 <sup>b</sup>	11.9±0.8 <sup>e</sup>	4.4±0.3 <sup>h</sup>	5.4±0. <sup>f</sup>	10.8±0.8 <sup>f</sup>	22.4±0.7 <sup>b</sup>	14.7±0.8 <sup>e</sup>	18.6±0.3 <sup>c</sup>
1000	34.2±0.9 <sup>a</sup>	28.6±0.1 <sup>a</sup>	17.8±0.3 <sup>d</sup>	11.2±0.9 <sup>g</sup>	16.2±0.6 <sup>e</sup>	19.7±0.7 <sup>d</sup>	36.1±0.3 <sup>a</sup>	18.3±0.5 <sup>d</sup>	28.2±0.7 <sup>b</sup>
<b>Długość korzenia</b>									
100	8.8±2.3 <sup>h</sup>	2.3±0.2 <sup>j</sup>	2.1±2.5 <sup>j</sup>	1.4±0.2 <sup>j</sup>	4.1±0.2 <sup>i</sup>	5.0±0.2 <sup>i</sup>	5.8±0.9 <sup>i</sup>	5.5±0.6 <sup>i</sup>	4.0±0.2 <sup>l</sup>
200	11.4±0.7 <sup>g</sup>	8.1±0.9 <sup>h</sup>	7.5±1.6 <sup>h</sup>	7.7±0.3 <sup>h</sup>	9.4±0.4 <sup>h</sup>	12.2±0.3 <sup>g</sup>	14.2±0.7 <sup>g</sup>	11.2±0.3 <sup>g</sup>	12.7±0.3 <sup>g</sup>
400	21.0±0.5 <sup>d</sup>	20.6±1.2 <sup>d</sup>	19.2±0.9 <sup>f</sup>	9.5±0.7	12.2±0.2 <sup>h</sup>	13.8±0.3 <sup>g</sup>	17.7±0.7 <sup>f</sup>	21.5±0.3 <sup>g</sup>	23.3±0.4 <sup>d</sup>
800	27.1±0.3 <sup>d</sup>	26.3±0.2 <sup>d</sup>	24.9±0.2 <sup>d</sup>	17.4±2.4 <sup>h</sup>	14.4±0.3 <sup>h</sup>	16.3±0.3 <sup>f</sup>	37.5±0.9 <sup>c</sup>	28.1±0.4 <sup>d</sup>	26.8±0.2 <sup>d</sup>
1000	46.2±0.9 <sup>b</sup>	42.6±0.2 <sup>b</sup>	22.8±0.4 <sup>e</sup>	15.2±0.9 <sup>h</sup>	22.2±0.3 <sup>d</sup>	33.3±0.2 <sup>b</sup>	47.1±0.7 <sup>a</sup>	38.9±0.1 <sup>b</sup>	40.2±0.2 <sup>d</sup>

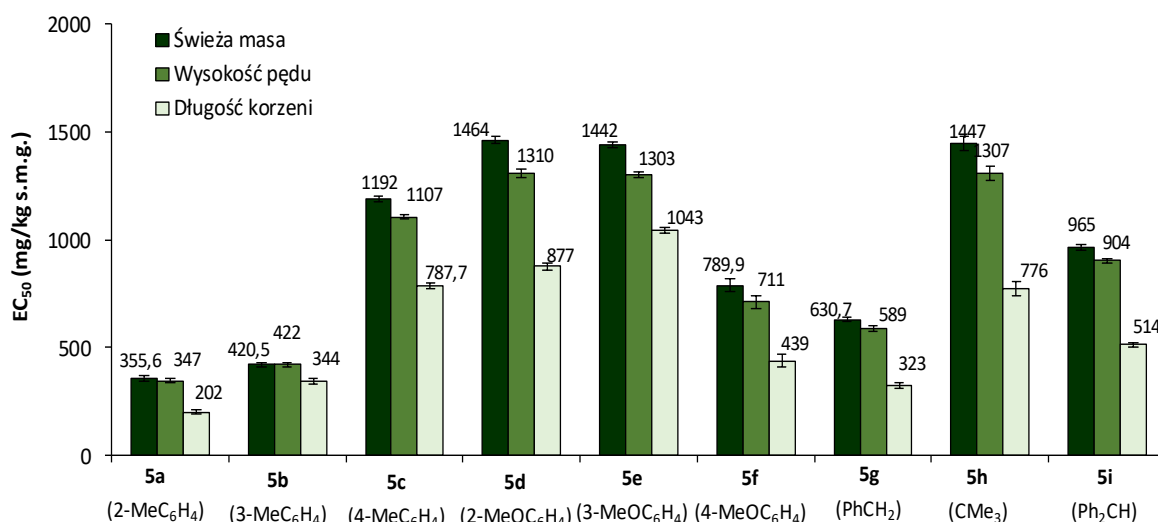
b) Wpływ aminofosfonianów dimetylowych **5 a-i** na rzodkiewkę zwyczajną (*R. sativus*)

Działanie aminofosfonianów **5 a-i**, na świeżą masę, wysokość pędu i długość korzenia siewek rzodkiewki, przedstawiono w tab. 6. Wraz ze wzrostem stężenia każdej, badanej substancji w glebie, rośnie efekt oddziaływania toksycznego na roślinę, zmniejszając zawartość plonu oraz skracając długości pędów i korzeni.

Z badań wynika, że aminofosfoniany **5 a-i**, wykazywały większy wpływ na korzenie badanych roślin, niż na świeżą masę czy wysokość pędu. Biorąc pod uwagę te 3 parametry, zaobserwowano również, że związki z ugrupowaniem metylofenylowym, tj. **5a (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, **5b (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** i **5c (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, mają istotnie silniejszy wpływ na wysokość pędu, długości korzeni i świeżej masy, w porównaniu do aminofosfonianów z ugrupowaniem metoksyfenylowym: **5d (2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, **5e (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** i **5f (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**. Fitotoksyczność aminofosfonianów z grupą metylową w pierścieniu benzenowym, w pozycji *-orto*, *-meta* i *-para* (**5 a-c**), była zależna od miejsca umieszczenia tego podstawnika i układała się w następujący sposób: **5a (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** > **5b (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** > **5c (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, natomiast w przypadku grupy metoksylovej w tym pierścieniu, wyglądała następująco: **5f (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** > **5e (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** > **5d (2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**. W przypadku aminofosfonianów **5 g-i**, najbardziej toksyczny okazał się aminofosfonian **5g (PhCH<sub>2</sub>)**, mniej toksyczny był związek **5i (Ph<sub>2</sub>CH)**, z kolei najmniejszą toksyczność wykazała pochodna **5h (CMe<sub>3</sub>)**. Fitotoksyczność związków **5g (PhCH<sub>2</sub>)** oraz **5i (Ph<sub>2</sub>CH)**, była zbliżona do toksyczności aminofosfonianów z ugrupowaniem metylofenylowym: **5a (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** i **5b (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** natomiast wpływ aminofosfonianu **5h (CMe<sub>3</sub>)**, wykazywał podobną toksyczność do związku z ugrupowaniem metoksyfenylowym – **5f (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**. Wartości EC<sub>50</sub> badanych pochodnych **5 a-i**, wobec wysokości pędu, długości korzenia i świeżej masy, obliczone dla rzodkiewki przedstawiono na rys. 26.

**Tabela 6.** Wpływ aminofosfonianów dimetylowych **5 a-i**, na świeżą masę, wysokość pędu i długość korzenia siewek rzodkiewki (*R. sativus*) w porównaniu z kontrolą (średnia ± SD). Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie przy  $p < 0,05$ .

Stężenie substancji [mg/kg s.m.g.]	Zahamowanie [%]								
	5a	5b	5c	5d	5e	5f	5g	5h	5i
	(2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(PhCH <sub>2</sub> )	(CMe <sub>3</sub> )	(Ph <sub>2</sub> CH)
<b>Świeża masa</b>									
100	4.2±0.3 <sup>i</sup>	3.3±0.3 <sup>i</sup>	2.1±0.2 <sup>i</sup>	1.1±0.6 <sup>j</sup>	2.1±0.6 <sup>i</sup>	2.6±0.7 <sup>i</sup>	2.2±0.2 <sup>i</sup>	1.5±0.2 <sup>j</sup>	2.1±0.2 <sup>i</sup>
200	19.4±0.7 <sup>f</sup>	20.1±0.9 <sup>f</sup>	4.3±0.4 <sup>i</sup>	2.3±0.4 <sup>i</sup>	2.9±0.3 <sup>i</sup>	12.4±0.3 <sup>g</sup>	14.3±0.6 <sup>g</sup>	2.2±0.4 <sup>i</sup>	6.7±0.8 <sup>h</sup>
400	64.0±0.6 <sup>c</sup>	55.3±0.3 <sup>c</sup>	20.2±0.3 <sup>f</sup>	5.5±0.7 <sup>h</sup>	7.5±0.5 <sup>h</sup>	16.9±0.1 <sup>g</sup>	55.8±0.3 <sup>c</sup>	14.2±0.4 <sup>g</sup>	28.3±0.6 <sup>e</sup>
800	76.1±0.3 <sup>b</sup>	78.3±0.6 <sup>b</sup>	31.9±0.6 <sup>e</sup>	6.4±0.4 <sup>h</sup>	8.4±0.4 <sup>h</sup>	26.3±0.3 <sup>f</sup>	72.5±0.5 <sup>b</sup>	20.1±0.2 <sup>f</sup>	58.6±0.3 <sup>c</sup>
1000	88.2±0.9 <sup>a</sup>	82.6±0.2 <sup>a</sup>	44.8±0.5 <sup>d</sup>	14.2±0.9 <sup>g</sup>	19.2±0.3 <sup>f</sup>	30.3±0.4 <sup>e</sup>	89.1±0.7 <sup>a</sup>	37.2±0.1 <sup>d</sup>	74.2±0.5 <sup>b</sup>
<b>Wysokość pędu</b>									
100	2.2±0.1 <sup>i</sup>	1.2±0.3 <sup>i</sup>	0.1±0.2 <sup>i</sup>	0.1±0.6 <sup>j</sup>	1.1±0.6 <sup>i</sup>	1.6±0.7 <sup>i</sup>	12±0.2 <sup>i</sup>	1.5±0.3 <sup>j</sup>	1.1±0.3 <sup>i</sup>
200	6.4±0.1 <sup>f</sup>	5.8±0.9 <sup>f</sup>	1.3±0.3 <sup>j</sup>	1.2±0.1 <sup>i</sup>	1.2±0.2 <sup>j</sup>	5.4±0.1 <sup>g</sup>	10.2±0.2 <sup>g</sup>	1.2±0.7 <sup>i</sup>	3.1±0.2 <sup>h</sup>
400	9.0±0.2 <sup>c</sup>	10.3±0.3 <sup>c</sup>	5.2±0.2 <sup>f</sup>	2.3±0.7 <sup>h</sup>	3.5±0.2 <sup>h</sup>	10.5±0.1 <sup>g</sup>	15.8±0.4 <sup>c</sup>	10.6±0.7 <sup>g</sup>	18.3±0.6 <sup>e</sup>
800	23.1±0.3 <sup>b</sup>	20.3±0.6 <sup>b</sup>	10.9±0.6 <sup>e</sup>	4.4±0.3 <sup>h</sup>	6.4±0.4 <sup>h</sup>	11.2±0.1 <sup>f</sup>	23.4±0.5 <sup>b</sup>	16.1±0.2 <sup>f</sup>	18.6±0.2 <sup>c</sup>
1000	36.2±0.9 <sup>a</sup>	32.6±0.1 <sup>a</sup>	19.8±0.5 <sup>d</sup>	11.2±0.9 <sup>g</sup>	13.2±0.3 <sup>f</sup>	23.3±0.4 <sup>e</sup>	38.1±0.1 <sup>a</sup>	20.3±0.5 <sup>d</sup>	26.2±0.5 <sup>b</sup>
<b>Długość korzenia</b>									
100	9.2±0.3 <sup>i</sup>	3.3±0.2 <sup>k</sup>	4.1±0.5 <sup>k</sup>	2.1±0.2 <sup>k</sup>	5.1±0.6 <sup>j</sup>	7.4±0.8 <sup>j</sup>	5.2±0.9 <sup>j</sup>	6.1±0.2 <sup>j</sup>	4.1±0.3 <sup>k</sup>
200	23.4±0.7 <sup>g</sup>	22.1±0.6 <sup>g</sup>	16.5±0.2 <sup>h</sup>	9.7±0.4 <sup>i</sup>	11.2±0.7 <sup>i</sup>	17.2±0.3 <sup>h</sup>	34.2±0.4 <sup>f</sup>	12.2±0.3 <sup>i</sup>	21.7±0.3 <sup>h</sup>
400	64.0±0.6 <sup>d</sup>	57.6±0.2 <sup>d</sup>	32.2±0.3 <sup>f</sup>	11.5±0.3	20.2±0.2 <sup>h</sup>	21.8±0.8 <sup>h</sup>	65.2±0.3 <sup>d</sup>	23.5±0.3 <sup>g</sup>	37.3±0.3 <sup>f</sup>
800	77.1±0.3 <sup>c</sup>	79.3±0.6 <sup>c</sup>	46.6±0.2 <sup>e</sup>	17.4±0.4 <sup>h</sup>	18.4±0.4 <sup>h</sup>	31.3±0.3 <sup>f</sup>	74.5±0.4 <sup>c</sup>	29.1±0.2 <sup>f</sup>	62.6±0.2 <sup>d</sup>
1000	89.2±0.9 <sup>b</sup>	87.6±0.2 <sup>b</sup>	47.8±0.5 <sup>e</sup>	20.2±0.9 <sup>h</sup>	26.2±0.3 <sup>g</sup>	34.3±0.4 <sup>f</sup>	90.1±0.7 <sup>a</sup>	40.2±0.1	78.2±0.5 <sup>c</sup>



**Rysunek 26.** Wartości EC<sub>50</sub> dla świeżej masy, pędu i korzenia rzodkiewki po ekspozycji na aminofosfoniany **5 a-i**. SD oznacza odchylenie standardowe (SD, n=3 oznaczenia).

Analizując położenie grup metylowych i metoksyowych w pierścieniu benzenowym, w pozycji *orto*-, *meta*- i *para*- odnotowano, że w przypadku substancji **5 a-c** z grupą metylofenylową, fitotoksyczność układała się w następujący sposób: **5a** (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) > **5b** (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) > **5c** (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Natomiast w przypadku związków metoksyfenylowych (**5 d-f**), tendencja była odwrotna: **5f** (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) > **5e** (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) > **5d** (2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Oznacza to, że spośród związków **5 a-c**, najbardziej fitotoksyczny był związek z podstawnikiem 2-metylofenylowym (**5a**), a wśród aminofosfonianów **5 d-f**, pochodna z podstawnikiem 4-metoksyfenylowym. Jest to trudne do jednoznacznego wyjaśnienia, nie mniej jednak tego rodzaju fitotoksyczne oddziaływanie grup metylowej i metoksyowej, zależne od ich podstawienia w pierścieniu benzenowym w literaturze, były już opisywane. Ara i in. (2007) wykazali słabsze zahamowanie wzrostu roślin, w przypadku *orto* i *meta* podstawionych ligandów, z kolei najsilniejsze działanie fitotoksyczne, wykazywało podstawienie w pozycji *para* [199]. Podstawienie *orto*, *meta* i *para*, w związku chemicznym może wywołać różne efekty na roślinach, zarówno pod względem toksyczności, jak i wpływu na ich wzrost i rozwój. Podstawienie *orto* w związku chemicznym może zwiększać jego toksyczność dla roślin, z uwagi na łatwiejsze wnikanie do tkanek roślinnych, co prowadzi do większego stężenia substancji w roślinie i potencjalnie szkodliwego działania. Może to również zakłócać procesy metaboliczne roślin, takie jak fotosynteza, oddychanie i podziały komórkowe. Skutkiem może być hamowanie wzrostu roślin, uszkodzenie tkanek oraz zaburzenia funkcji biologicznych [200]. Z kolei niektóre związki z podstawieniem *meta* mogą nie mieć żadnego wpływu na rośliny, lub wpływ ten może być minimalny, podczas gdy inne mogą wykazywać działanie toksyczne [201]. Wpływ

podstawienia *meta* zależy od specyficznych interakcji między związkiem chemicznym a biologicznymi procesami roślinnymi [202]. Podstawienie *para* jest często najmniej reaktywne chemicznie spośród tych trzech rodzajów podstawienia i może mieć mniejszy wpływ na rośliny w porównaniu do *orto* lub *meta*, jednak również zależy od konkretnego związku chemicznego [203, 204].

Porównując obie grupy związków **5 a-c** z **5 d-f**, zauważono, że zdecydowanie wyższą toksycznością wobec parametrów: długość pędów, korzeni i świeżej masy roślin, wykazały aminofosfoniany z podstawnikiem metylofenylowym. Zgodnie z literaturą, grupa metylowa jest bardziej reaktywna chemicznie i może łatwiej wpływać na struktury biologiczne, takie jak białka, enzymy i lipidy [205, 206]. Może to prowadzić do zakłóceń w procesach metabolicznych roślin i prowadzić u nich do toksycznych efektów. Również substancje chemiczne z grupą metylową mogą łatwiej gromadzić się w tkankach roślinnych, w tym korzeniach, co również może być powodem większej koncentracji toksycznych związków w tych częściach i wywoływać silniejsze efekty toksyczne w porównaniu do grupy metoksylowej. Nie mniej jednak, wpływ ten może różnić się w zależności od konkretnego związku chemicznego, dawki, ekspozycji i wielu innych czynników. W związku z czym, zawsze ważne jest przeprowadzanie odpowiednich badań i analiz, aby ocenić toksyczność substancji wobec roślin oraz ich wpływu na różne jej części.

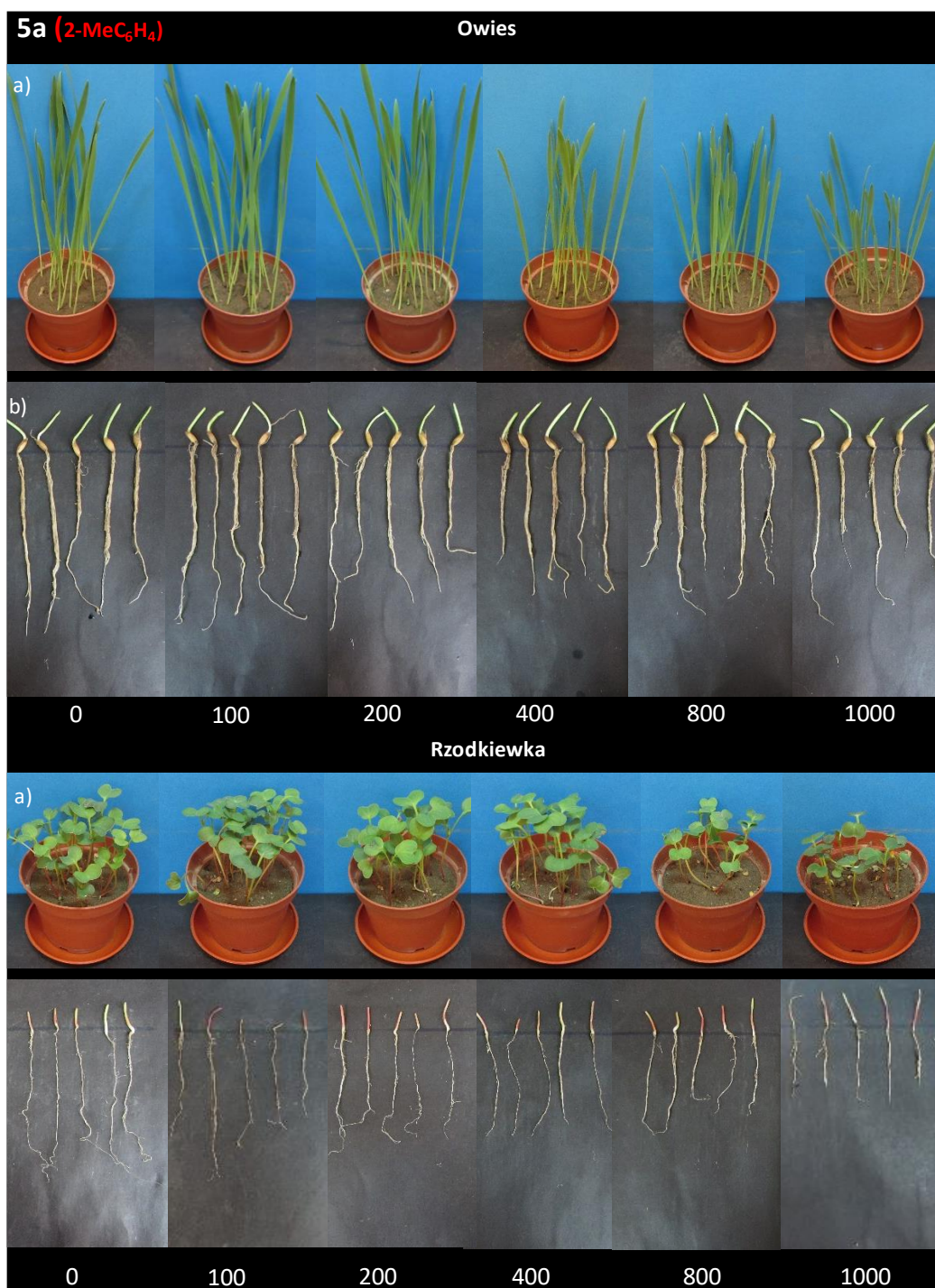
Porównując działanie dimetylowych aminofosfonianów **5 a-i** na obie rośliny, zarówno wobec owsa, jak i rzodkiewki najbardziej toksycznym aminofosfonianem okazał się związek **5g (PhCH<sub>2</sub>)**, natomiast najmniej pochodna **5d (2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**. Opierając się na kryteriach ekotoksyczności, wobec roślin lądowych, zaproponowanych przez Carbonella i in. (1997) gdzie [207]:

- EC<sub>50</sub> > 10000 mg/kg – nietoksyczne,
- EC<sub>50</sub> = 1000 – 10000 mg/kg – niska toksyczność,
- EC<sub>50</sub> = 100 – 1000 mg/kg – lekka toksyczność,
- EC<sub>50</sub> = 10 – 100 mg/kg – umiarkowana toksyczność,
- EC<sub>50</sub> = 1 – 10 mg/kg – toksyczne,
- EC<sub>50</sub> < 1mg/kg – bardzo toksyczne.

Wszystkie substancje (**5 a-i**), wobec każdego parametru zarówno owsa, jak i rzodkiewki, znajdowały się w przedziale EC<sub>50</sub> = 100 – 1000 mg/kg, co oznaczało lekką toksyczność, lub w przedziale EC<sub>50</sub> = 1000 – 10000 mg/kg, gdzie toksyczność można było uznać za niską.



Ocenę wizualną wpływu badanych substancji, w rosnących stężeniach (100, 200, 400, 800, 1000 mg/kg s.m.g.), przedstawiono na rys. 27, dla substancji **5a** (**2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**). Z uwagi na obszerną dokumentację fotograficzną badanych roślin, w pracy zawarto tylko wybrane zdjęcia. Pozostałe fotografie znajdują się w publikacji lub jej suplemencie.



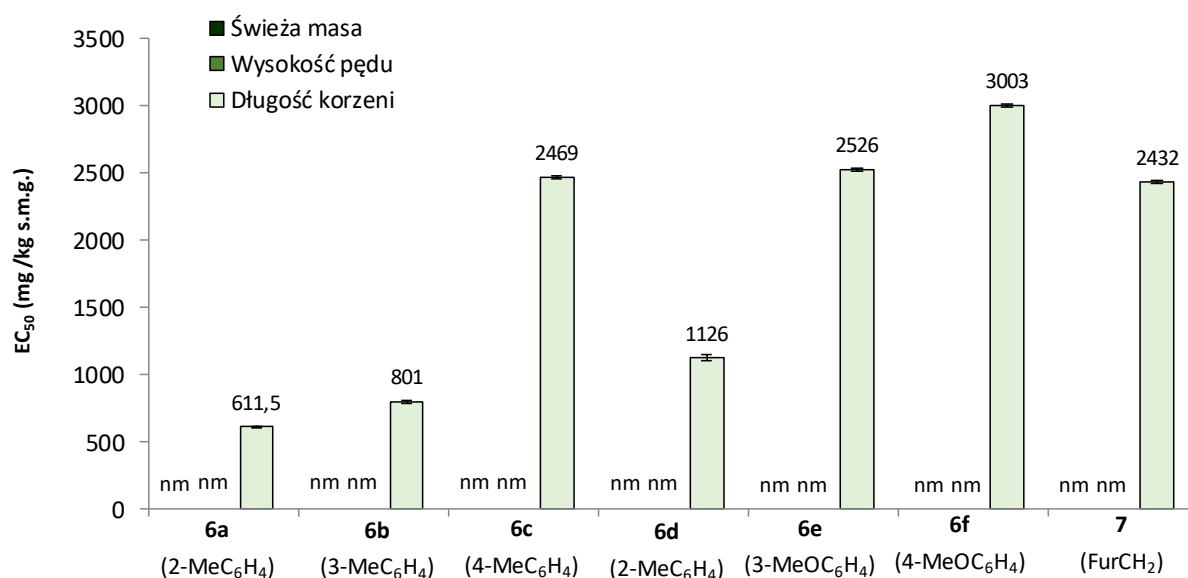
**Rysunek 27.** Zdjęcia cyfrowe owsa i rzodkiewki: a) pędy, b) korzenie, traktowane aminofosfonianem **5a** (**2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**) dla stężeń: 0, 100, 200, 400, 800, 1000 mg/kg s.m.g., w 14 dniu wzrostu rośliny.

#### 4.2.1.2. Aminofosfoniany difenylowe **6 a-f** i aminofosfonian dibenzylowy **7**

Wpływ difenylowych pochodnych **6 a-f** na badane rośliny opublikowano w 2019 r., przez Rogacz i in. [157].

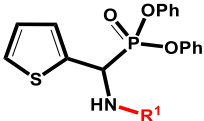
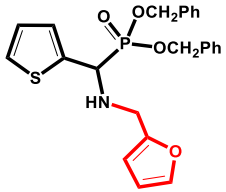



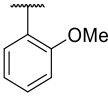
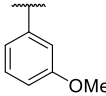

- a) Wpływ aminofosfonianów difenylowych **6 a-f** oraz aminofosfonianu dibenzylowego **7** na owies zwyczajny (*A. sativa*)

Dane dotyczące wpływu aminofosfonianów **6 a-f** i **7** na wysokość pędów, długość korzeni i świeżą masę siewek owsa, przedstawiono w tab. 7. Na ich podstawie stwierdzono, że wrażliwość na te związki wykazały jedynie korzenie owsa. Wpływ substancji **6 a-f** i **7** na zielone części tej rośliny był znikomy. Porównując działanie aminofosfonianów z ugrupowaniem metylofenylowym wobec korzeni, najbardziej toksyczny okazał się związek **6a** (2-**MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), nieco mniej pochodna **6b** (3-**MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), a najmniej **6c** (4-**MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**). Taka sama tendencja utrzymywała się również w przypadku aminofosfonianów z grupą metoksyfenylową: **6d** (2-**MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**) > **6e** (3-**MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**) > **6f** (4-**MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**). Porównując te dwie grupy związków, stwierdzono silniejsze działanie aminofosfonianów z grupą metylofenylową. Toksyczność aminofosfonianu dibenzylowego **7** (**FurCH<sub>2</sub>**), była podobna do tej, prezentowanej przez związek **6c** (4-**MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**). Wartości EC<sub>50</sub> badanych aminofosfonianów **6 a-f** i **7** wobec owsa, przedstawiono na rys. 28.



**Rysunek 28.** Wartości EC<sub>50</sub> dla świeżej masy, pędu i korzenia owsa, po ekspozycji na aminofosfoniany **6 a-f** i **7**, (nm- nie mierzalne). SD oznacza odchylenie standardowe (SD, n=3 oznaczenia).

**Tabela 7.** Wpływ aminofosfonianów difenylowych **6 a-f**, oraz aminofosfonianu dibenzylowego **7**, na świeżą masę, wysokość pędu i długość korzenia siewek owsa (*A. sativa*) w porównaniu z kontrolą (średnia  $\pm$  SD). Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie przy  $p < 0,05$ .

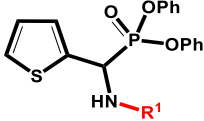
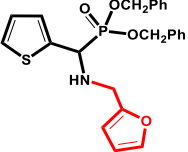
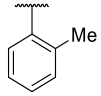
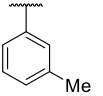

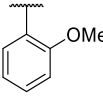
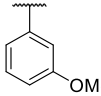

Zahamowanie [%]							
Stężenie substancji [mg/kg s.m.g.]							 <b>7 (FurCH<sub>2</sub>)</b>
	<b>6a</b> (2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>6b</b> (3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>6c</b> (4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>6d</b> (2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>6e</b> (3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>6f</b> (4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	
							
Świeża masa							
100	-0.4 $\pm$ 0.2 <sup>h</sup>	0.4 $\pm$ 0.2 <sup>g</sup>	-0.4 $\pm$ 0.4 <sup>h</sup>	0.2 $\pm$ 0.1 <sup>g</sup>	0.2 $\pm$ 0.0 <sup>g</sup>	1.6 $\pm$ 0.4 <sup>f</sup>	0.2 $\pm$ 0.1 <sup>g</sup>
200	2.9 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>	-0.5 $\pm$ 0.1 <sup>h</sup>	0.6 $\pm$ 0.4 <sup>g</sup>	0.5 $\pm$ 0.1 <sup>g</sup>	2.3 $\pm$ 0.2 <sup>f</sup>	2.9 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	1.0 $\pm$ 0.7 <sup>g</sup>
400	5.0 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	0.6 $\pm$ 0.1 <sup>g</sup>	1.2 $\pm$ 0.1 <sup>f</sup>	2.2 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	1.5 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	3.4 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>	3.2 $\pm$ 0.7 <sup>d</sup>
800	5.7 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	3.5 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>	4.1 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>	3.7 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>	2.6 $\pm$ 0.1 <sup>d</sup>	1.8 $\pm$ 0.1 <sup>f</sup>	2.8 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>
1000	8.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	4.7 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	1.6 $\pm$ 0.3 <sup>e</sup>	6.1 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	3.7 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	1.5 $\pm$ 0.1 <sup>f</sup>	4.4 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>
Wysokość pędów							
100	0.4 $\pm$ 0.6 <sup>e</sup>	0.4 $\pm$ 0.5 <sup>e</sup>	-0.4 $\pm$ 0.6 <sup>f</sup>	0.5 $\pm$ 1.0 <sup>e</sup>	0.5 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	1.3 $\pm$ 0.6 <sup>d</sup>	0.7 $\pm$ 0.7 <sup>e</sup>
200	-0.5 $\pm$ 1.2 <sup>f</sup>	-0.2 $\pm$ 0.7 <sup>f</sup>	0.5 $\pm$ 0.8 <sup>e</sup>	0.9 $\pm$ 0.6 <sup>e</sup>	2.9 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	2.9 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	1.9 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>
400	1.6 $\pm$ 1.0 <sup>d</sup>	1.8 $\pm$ 0.9 <sup>d</sup>	1.8 $\pm$ 0.8 <sup>d</sup>	3.8 $\pm$ 0.5 <sup>c</sup>	1.8 $\pm$ 0.4 <sup>d</sup>	3.1 $\pm$ 0.5 <sup>c</sup>	1.7 $\pm$ 0.4 <sup>d</sup>
800	3.1 $\pm$ 0.6 <sup>c</sup>	3.3 $\pm$ 1.4 <sup>c</sup>	3.8 $\pm$ 0.8 <sup>c</sup>	4.6 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	2.4 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>	1.3 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	3.2 $\pm$ 0.4 <sup>c</sup>
1000	5.8 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>	4.4 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	2.0 $\pm$ 1.0 <sup>d</sup>	6.0 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	5.5 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	0.5 $\pm$ 0.5 <sup>e</sup>	4.6 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>
Długość korzeni							
100	3.5 $\pm$ 0.1 <sup>i</sup>	2.4 $\pm$ 0.2 <sup>i</sup>	4.0 $\pm$ 0.5 <sup>h</sup>	6.7 $\pm$ 0.8 <sup>g</sup>	5.9 $\pm$ 0.8 <sup>g</sup>	0.5 $\pm$ 0.7 <sup>j</sup>	1.2 $\pm$ 0.4 <sup>j</sup>
200	17.4 $\pm$ 0.6 <sup>e</sup>	21.1 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	7.8 $\pm$ 0.6 <sup>f</sup>	9.6 $\pm$ 0.3 <sup>f</sup>	5.3 $\pm$ 0.7 <sup>g</sup>	4.3 $\pm$ 0.3 <sup>h</sup>	5.4 $\pm$ 0.2 <sup>g</sup>
400	43.9 $\pm$ 0.7 <sup>c</sup>	29.4 $\pm$ 0.3 <sup>d</sup>	8.8 $\pm$ 0.7	18.2 $\pm$ 0.2 <sup>e</sup>	9.6 $\pm$ 0.3 <sup>f</sup>	9.9 $\pm$ 0.6 <sup>f</sup>	4.1 $\pm$ 0.6 <sup>h</sup>
800	51.1 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>	42.0 $\pm$ 0.8 <sup>c</sup>	11.8 $\pm$ 0.6	28.1 $\pm$ 0.4 <sup>d</sup>	16.8 $\pm$ 0.7 <sup>e</sup>	18.4 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	21.2 $\pm$ 0.7 <sup>d</sup>
1000	68.7 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	63.4 $\pm$ 4.8 <sup>a</sup>	30.5 $\pm$ 0.6 <sup>d</sup>	53.7 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	28.6 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>	21.7 $\pm$ 0.7 <sup>d</sup>	39.6 $\pm$ 1.2 <sup>c</sup>

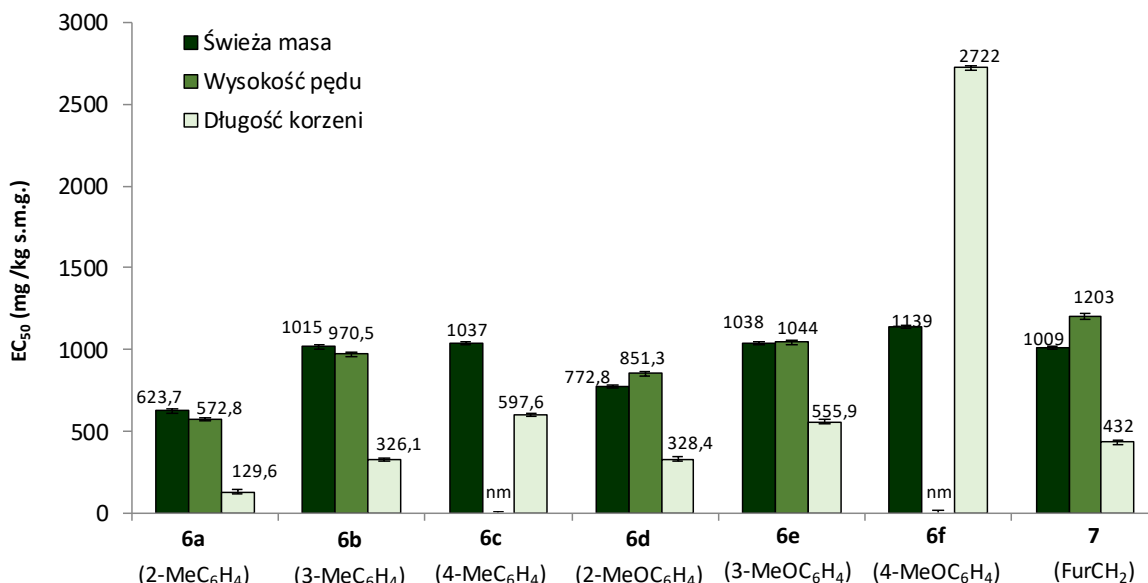
- a) Wpływ aminofosfonianów difenylowych **6 a-f** oraz aminofosfonianu dibenzylowego **7** na rzodkiewkę zwyczajną (*R. sativus*)

Wpływ difenylowych pochodnych **6 a-f** i **7**, na wysokość pędów, długość korzeni i świeżą masę siewek rzodkiewki przedstawiono w tab. 8. Zarówno, jak miało to miejsce w przypadku aminofosfonianów dimetylowych, aminofosfoniany difenylowe są również bardziej toksyczne dla korzeni rzodkiewki, niż dla jej pędów i świeżej masy. Spośród aminofosfonianów z ugrupowaniem metylofenylowym (**6 a-c**), najbardziej toksyczny zarówno w przypadku zahamowania wzrostu korzeni, jak i świeżej masy wobec rzodkiewki, przy najwyższym zastosowanym stężeniu (1000 mg/kg s.m.g.), okazał się związek **6a** (**2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), następnie **6b** (**3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**) oraz **6c** (**4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), (odpowiednio w położeniu *o*-, *m*- i *p*-). Taka sama tendencja utrzymywała się również w przypadku aminofosfonianów z grupą metoksyfenylową: **6d** (**2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**) > **6e** (**3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**) > **6f** (**4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**). W tym przypadku również wpływ związków z ugrupowaniem metylofenylowym był silniejszy, w porównaniu do tych z ugrupowaniem metoksyfenylowym. Aminofosfonian dibenzylowy **7** (**FurCH<sub>2</sub>**), wykazywał umiarkowany wpływ na rzodkiewkę, a jego toksyczność była zbliżona do związku **6f** (**4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**).

Wartości EC<sub>50</sub> aminofosfonianów difenylowych **6 a-f** i **7**, dla rzodkiewki zaprezentowano na rys. 29. W przypadku aminofosfonianów z grupą metylową i metoksyową w pierścieniu benzenowym pozycji *para* - **6c** i **6f**, EC<sub>50</sub> wobec wysokości pędów nie było obliczone z powodu braku toksycznego wpływu tych związków na ten parametr, co może być związane z odmiennymi procesami absorpcji, translokacji i retencji tej substancji w różnych częściach rośliny. Jednak dokładne poznanie mechanizmu oddziaływania pochodnej 4-metylofenylowej i 4-metoksyfenylowej, wymaga dalszych, bardziej wnikliwych badań biochemiczno- toksykologicznych.

**Tabela 8.** Wpływ aminofosfonianów difenylowych **6 a-f**, oraz aminofosfonianu dibenzylowego **7**, na świeżą masę, wysokość pędu i długość korzenia siewek rzodkiewki (*R. sativus*) w porównaniu z kontrolą (średnia ± SD). Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie przy  $p < 0,05$ .

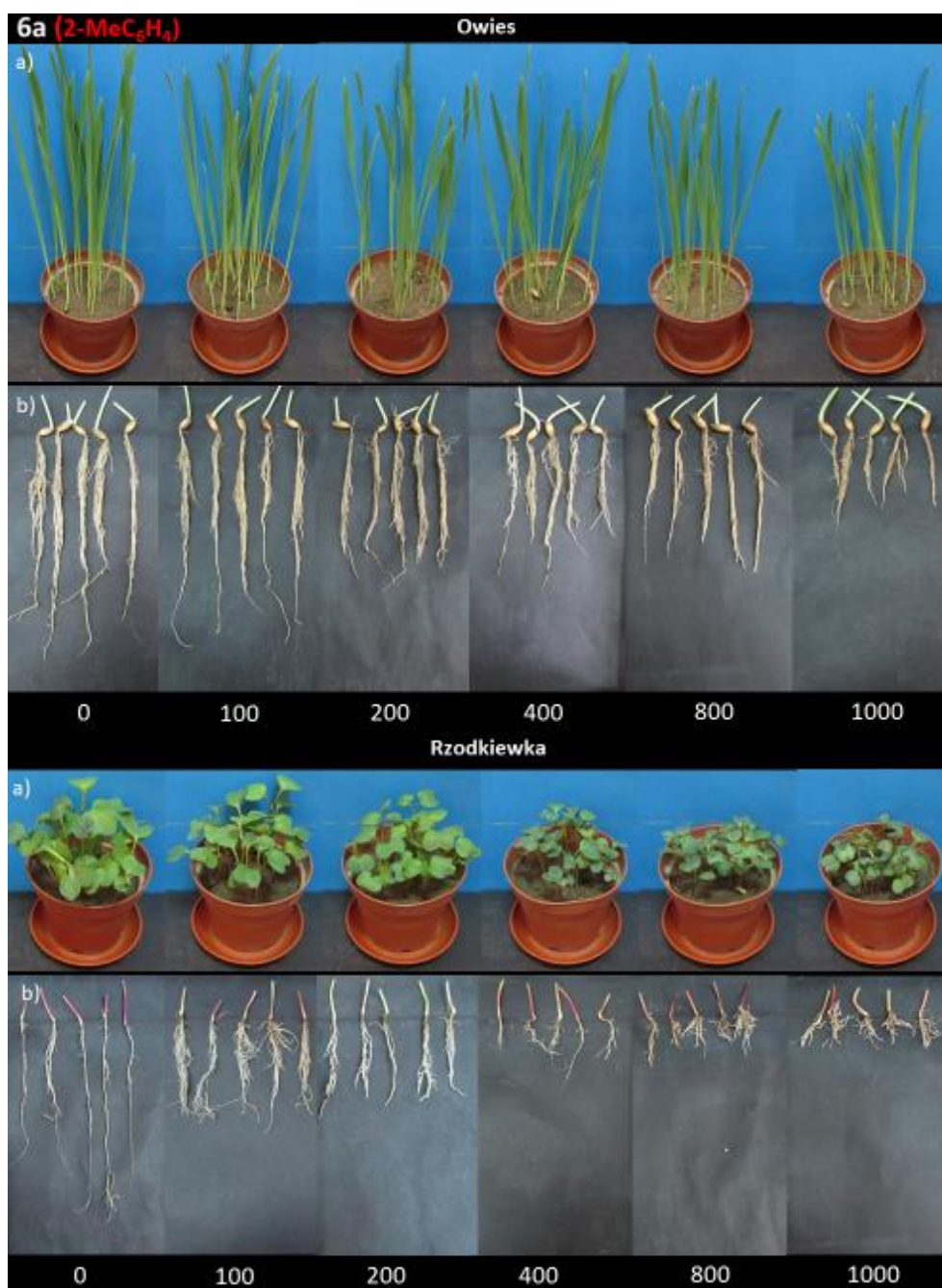
Zahamowanie [%]							
Stężenie substancji [mg/kg s.m.g.]							 <b>7 (FurCH<sub>2</sub>)</b>
	<b>6a</b> (2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>6b</b> (3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>6c</b> (4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>6d</b> (2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>6e</b> (3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	<b>6f</b> (4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	
							
Świeża masa							
100	3.9±0.2 <sup>i</sup>	-0.8±0.1 <sup>k</sup>	0.1±0.1 <sup>k</sup>	2.9±0.2 <sup>i</sup>	4.4±0.2 <sup>i</sup>	-1.5±0.2 <sup>k</sup>	0.9±0.1 <sup>j</sup>
200	10.3±0.1 <sup>g</sup>	0.9±0.1 <sup>i</sup>	1.3±0.2 <sup>j</sup>	5.6±0.1 <sup>h</sup>	5.8±0.1 <sup>h</sup>	1.1±0.1 <sup>i</sup>	1.2±0.1 <sup>j</sup>
400	48.2±0.1 <sup>b</sup>	8.5±0.1 <sup>g</sup>	9.3±0.1 <sup>g</sup>	41.5±0.1 <sup>c</sup>	5.1±0.2 <sup>h</sup>	8.0±0.2 <sup>g</sup>	8.3±0.4 <sup>g</sup>
800	53.8±0.0 <sup>b</sup>	26.2±0.0 <sup>d</sup>	21.8±0.1 <sup>e</sup>	49.0±0.1 <sup>b</sup>	14.3±0.2 <sup>f</sup>	19.8±0.2 <sup>e</sup>	13.8±0.2 <sup>f</sup>
1000	63.4±0.1 <sup>a</sup>	48.9±0.0 <sup>b</sup>	47.4±0.1 <sup>b</sup>	55.6±0.0 <sup>b</sup>	43.8±0.1 <sup>c</sup>	41.0±0.1 <sup>c</sup>	38.4±0.1 <sup>c</sup>
Wysokość pędów							
100	3.6±0.7 <sup>i</sup>	-2.8±0.2 <sup>k</sup>	0.6±0.5 <sup>j</sup>	3.5±0.2 <sup>i</sup>	3.4±0.7 <sup>i</sup>	-0.9±0.4 <sup>j</sup>	1.4±0.3 <sup>j</sup>
200	12.3±0.2 <sup>f</sup>	0.3±0.5 <sup>j</sup>	0.9±0.8 <sup>i</sup>	5.4±0.6 <sup>h</sup>	5.4±0.6 <sup>h</sup>	-1.3±0.3 <sup>j</sup>	4.4±0.7 <sup>h</sup>
400	49.8±0.5 <sup>c</sup>	9.5±0.7 <sup>g</sup>	2.2±0.9 <sup>i</sup>	38.2±0.4 <sup>d</sup>	5.7±0.8 <sup>h</sup>	-1.9±0.2 <sup>k</sup>	6.7±0.2 <sup>h</sup>
800	56.5±0.4 <sup>b</sup>	21.5±0.2 <sup>e</sup>	-0.6±0.3 <sup>j</sup>	46.7±0.9 <sup>c</sup>	13.2±0.3 <sup>f</sup>	-3.2±0.7 <sup>i</sup>	12.2±0.1 <sup>f</sup>
1000	66.9±0.4 <sup>a</sup>	55.2±0.3 <sup>b</sup>	-1.6±0.3 <sup>j</sup>	52.4±0.4 <sup>b</sup>	42.6±0.9 <sup>c</sup>	-4.1±0.2 <sup>i</sup>	23.6±0.1 <sup>e</sup>
Długość korzeni							
100	48.6±0.2 <sup>d</sup>	0.8±0.6 <sup>i</sup>	-0.6±0.2 <sup>i</sup>	2.0±0.3 <sup>h</sup>	2.2±0.6 <sup>h</sup>	3.4±0.7 <sup>h</sup>	2.4±0.1 <sup>h</sup>
200	53.7±0.4 <sup>c</sup>	43.8±0.3 <sup>d</sup>	-1.7±0.5 <sup>i</sup>	35.7±0.6 <sup>e</sup>	15.7±0.6 <sup>f</sup>	5.4±0.6 <sup>g</sup>	7.4±0.2 <sup>g</sup>
400	72.8±0.7 <sup>b</sup>	64.9±0.6 <sup>b</sup>	27.0±0.7 <sup>e</sup>	68.8±0.4 <sup>b</sup>	30.6±0.4 <sup>e</sup>	5.7±0.6 <sup>g</sup>	8.7±0.3 <sup>g</sup>
800	86.2±0.1 <sup>a</sup>	71.1±0.2 <sup>b</sup>	69.1±0.4 <sup>b</sup>	73.9±1.0 <sup>b</sup>	70.2±0.3 <sup>b</sup>	13.2±0.3 <sup>f</sup>	16.2±0.2 <sup>f</sup>
1000	89.0±0.8 <sup>a</sup>	76.1±0.5 <sup>b</sup>	76.0±0.6 <sup>b</sup>	79.2±1.0 <sup>b</sup>	74.0±0.5 <sup>b</sup>	42.6±0.5 <sup>d</sup>	39.6±0.2 <sup>d</sup>



**Rysunek 29.** Wartości EC<sub>50</sub> dla świeżej masy, pędu i korzenia rzodkiewki, po ekspozycji na aminofosfoniany **6 a-f** i **7**, (nm- nie mierzalne).

Porównując wpływ wszystkich badanych aminofosfonianów **6 a-f** oraz **7**, na wysokość pędów, długość korzeni i świeżą masę siewek obu roślin, stwierdzono większą wrażliwość dwuliściennej rzodkiewki na te związki, niż miało to miejsce w przypadku jednoliściennego owsa. Biorąc pod uwagę ich wpływ na mierzone parametry, najbardziej wrażliwym organem roślinnym były korzenie. Porównując działanie związków z ugrupowaniem metylofenylowym – **6 a-c** i metoksyfenylowym – **6 d-f**, stwierdzono, że grupa metylofenylova, podwyższa toksyczność tych związków wobec roślin. Fitotoksyczność badanych pochodnych, była również związana z pozycją podstawienia grupy metylowej i metoksylowej w pierścieniu benzenowym: *o*- > *m*- > *p*-. Fitotoksyczność aminofosfonianu dibenzylowego **7** (FurCH<sub>2</sub>), była zbliżona do działania pochodnej 4- metylofenylowej (**6a**) i 4-metoksyfenylowej (**6d**).

Zgodnie z danymi, jakie podał Carbonell i in. (1997), toksyczność aminofosfonianów **6 a-f** i **7**, można określić, jako niską (EC<sub>50</sub> = 1000-10000 mg/kg), lub lekką (EC<sub>50</sub> = 100-1000 mg/kg) [207]. Cyfrowe zdjęcia siewek owsa i rzodkiewki, obrazujące wpływ badanych związków na rośliny, w 14 dniu wzrostu, przedstawiono na rys. 30, na przykładzie aminofosfonianu **6a** (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Z uwagi na obszerną dokumentację fotograficzną badanych roślin, w pracy zawarto tylko wybrane zdjęcia. Pozostałe fotografie znajdują się w publikacji lub jej suplemencie [157].



**Rysunek 30.** Zdjęcia cyfrowe owsa i rzodkiewki: a) pędy, b) korzenie, traktowane aminofosfonianem **6a** ( $2\text{-MeC}_6\text{H}_4$ ) dla stężeń: 0, 100, 200, 400, 800, 1000 mg/kg s.m.g., w 14 dniu wzrostu rośliny.

#### 4.2.1.3. *N*-fosfonometylo pochodne glicyny **16 a-g**, **17**

Wzrastające stężenie związków **16 a-g** w glebie nie powodowało istotnych zmian w długości pędów owsa, w przeciwieństwie do glifosatu **17**, który powodował takie działanie. Uzyskane wartości GI% były porównywalne z wartościami uzyskanymi dla owsa dla tych samych stężeń, co potwierdza nieselektywne działanie glifosatu na rośliny. Spośród wszystkich

badanych związków, największe i statystycznie istotne zahamowanie wzrostu pędów rzodkiewki spowodowała pochodna **16c** (**4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**). Analiza danych dotyczących rozwoju korzeni, wykazała niekorzystne działanie wobec obu rodzajów roślin, w całym zakresie stężeń. Procentowe zmiany zahamowania wzrostu korzeni dla rzodkiewki były wyższe niż dla owsa. Natomiast, niezależnie od rodzaju i stężenia badanych pochodnych **16 a-g** w glebie, świeża masa pędów owsa była porównywalna z roślinami kontrolnymi i nie różniła się statystycznie. W przypadku rzodkiewki, zahamowanie wzrostu było zależne od stężenia i rodzaju badanej substancji. Zahamowanie rozwoju plonu dla obu roślin było niższe dla pochodnych glifosatowych **16 a-g**, w porównaniu z czystym glifosatem. Analiza hamującego działania wszystkich testowanych związków na pędy, korzenie i świeżą masę wykazała jednoznacznie, że glifosat **17** był bardziej szkodliwy niż syntezowane aminofosfoniany. Wykazał on toksyczność wobec wszystkich mierzonych parametrów owsa oraz rzodkiewki. W przypadku pędów owsa wartość EC<sub>50</sub> wynosiła 374 mg/kg, wobec rzodkiewki było to 358 mg/kg. Wartość EC<sub>50</sub> wobec świeżej masy owsa wyniosła 418 mg/kg, natomiast dla rzodkiewki -333mg/kg. Wartość ta, wobec korzeni owsa osiągnęła 557 mg/kg s.m.g., a dla rzodkiewki było to 269 mg/kg s.m.g. Wartości EC<sub>50</sub> dla glifosatu, jednoznacznie potwierdziły brak wyraźnej selektywności w oddziaływaniu tej substancji na pędy, świeżą masę i korzenie roślin jedno- i dwuliściennych. Dane literaturowe odnoszące się do wartości EC<sub>50</sub> są wyższe, niż te, uzyskane w eksperymencie, co może wynikać z reakcji samej rośliny, w zależności od jej gatunku, jak i warunków eksperymentalnych [208–210]. W przypadku połączeń *N*-fosfonometyloglicynowych i ich działania wobec jednoliściennego owsa, uzyskane wartości EC<sub>50</sub>, klasyfikują je, jako substancje lekko toksyczne (EC<sub>50</sub>= 1000-10000 mg/kg). Natomiast stężenia efektywne EC<sub>50</sub>, wobec rzodkiewki, znajdują się w przedziale 100-1000 mg/kg, wskazując na lekką toksyczność lub 1000-10000 mg/kg, co oznaczało niską toksyczność tych substancji [207].

W przypadku powszechnie znanego, nieselektywnego sposobu działania herbicydów fosfonianowych na rośliny, jak np. glifosat, wstępnie otrzymane wyniki dla tych aminofosfonianów są bardzo obiecujące, ponieważ wykazują selektywne działanie na rośliny, poprzez wyraźny wpływ na dwuliścienną rzodkiewkę i znikomy na jednoliścienny owies, przez co mogą być alternatywą dla toksycznie działającego glifosatu przy zachowaniu swojej skuteczności działania, co wymaga dalszych, bardziej wnikliwych badań. Szerszy opis wpływu badanych układów **16 a-g** i **17** na rośliny został opublikowany w 2020, przez Rogacz i in. [152].



Według doniesień literaturowych, zarówno zahamowanie wzrostu korzeni roślin, a także ich części nadziemnych, należą do najbardziej oczywistych symptomów toksycznego wpływu substancji chemicznych na rośliny oraz są objawem stresu abiotycznego i biotycznego u roślin [190, 211, 212]. Uzyskane w toku badań wyniki odnośnie wpływu aminofosfonianów na rośliny dwuliścienne, zależności pomiędzy strukturą chemiczną, a wpływem na aktywność, a także rodzajem podstawnika, znajdują potwierdzenie w dostępnej literaturze. Wartości  $EC_{50}$  dla wysokości pędu, długości korzenia i świeżej masy, obliczone dla rzodkiewki i owsa wskazywały, bardziej toksyczne działanie na dwuliścienne rzodkiewkę, co pokrywa się z dotychczas opublikowanymi badaniami przez Lewkowskiego i in. (2017) [213, 214]. Taki efekt zauważalny był również w badaniach Manmeeta i in. (2012), którzy badali toksyczność triklosanu (TCS) – substancji o właściwościach bakteriobójczych na jedno i dwuliścienne [215]. Najniższe wartości  $EC_{50}$  zaobserwowano wobec długości korzenia tych roślin, co świadczy o najsilniejszym wpływie badanych aminofosfonianów **5 a-i**, **6 a-f**, **7**, **16 a-g** i **17** na ten parametr. Już w 1989 r., Kafarski i in. [216] wykazali, że nowo syntezowane pochodne aminofosfonowe wyraźnie wpływały na wzrost korzeni roślin dwuliściennych, a struktura danej substancji korelowała z jej wpływem na roślinę. Również Lewkowski i in. (2017 i 2018) w swoich pracach wykazali, że reakcje roślin na badane związki, zależne są od jego dawki – im wyższe zastosowane stężenie aminofosfonianu, tym większe zahamowanie wzrostu pędu, świeżej masy i korzenia [213, 217]. Jest to, zatem zgodne z wynikami fitotoksyczności dla związków **5 a-i**, **6 a-f**, **16 a-g** i **17**. Istnieją również doniesienia o istotnym wpływie aminofosfonianów na rośliny jednoliścienne. Maleckis i in. w 2023, dowiedli toksycznego wpływu benzantronowych pochodnych aminofosfonianów na wzrost jednoliściennej pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) [218].

#### 4.2.2. Wpływ aminofosfonianów na zmiany wartości NOEC i LOEC

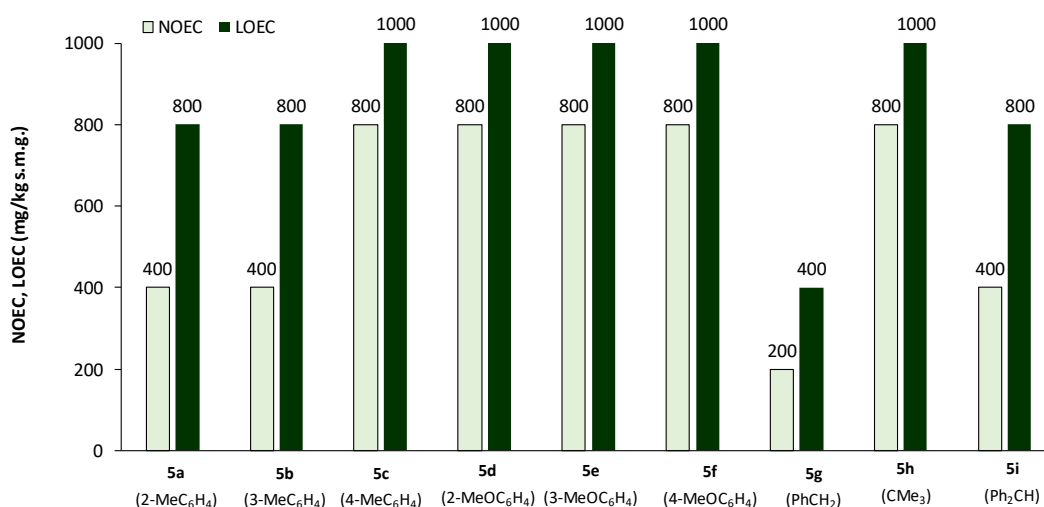
Korelacja pomiędzy odpowiedzią organizmu, a dawką substancji, ma na celu określenie takiego stężenia ksenobiotyku i czasu ekspozycji na ten czynnik, dla którego wystąpienie efektów toksycznych jest możliwie jak najniższe. Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji UE, ustanawiającej wymogi dotyczące danych dla substancji czynnych i wprowadzania ich do obrotu, jako środków ochrony roślin, konieczne jest określenie wartości NOEC i LOEC. Najniższe stężenie substancji użytej w badaniu, przy którym obserwuje się istotny wpływ na wzrost roślin w porównaniu z kontrolą, określane jest, jako LOEC. Bezpośrednio poniżej

LOEC, znajduje się wartość NOEC - czyli najwyższe stężenie, niewywołujące zauważalnych skutków [192, 193]. Wartości NOEC i LOEC, oznaczano na podstawie uzyskanych plonów roślin.

#### 4.2.2.1. Aminofosfoniany dimetylowe **5 a-i**

##### a) Owies zwyczajny (*A. sativa*)

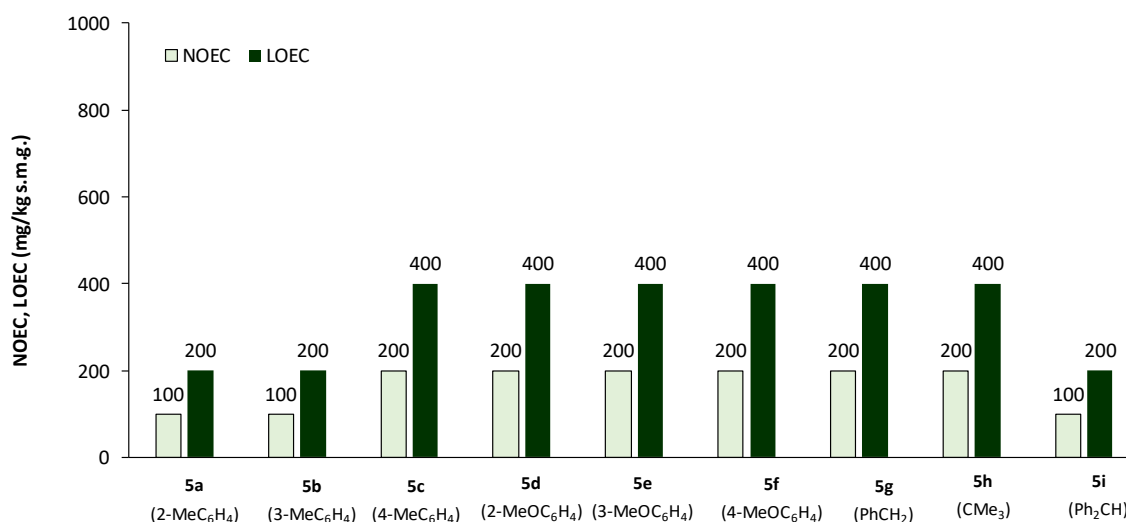
Wartości NOEC i LOEC dla owsa, traktowanych badanymi aminofosfonianami przedstawiono na rys. 31. Wartości NOEC, dla pochodnych z ugrupowaniem metylofenylowym- **5a** (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) i **5b** (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) wobec świeżej masy, wynosiły 400 mg/kg s.m.g., z kolei dla **5c** (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) było to 800 mg/kg s.m.g. Natomiast wartość LOEC dla tych związków wynosiła 800 mg/kg s.m.g. (dla **5a** i **5b**) i 1000 mg/kg s.m.g. (dla **5c**). W przypadku aminofosfonianów podstawionych grupą metoksyfenylową (**5 d-f**), wartości NOEC wynosiły 800 mg/kg s.m.g., natomiast wartości LOEC wynosiły 1000 mg/kg s.m.g. W przypadku związku **5g** (PhCH<sub>2</sub>), wartości NOEC i LOEC wynosiły odpowiednio 200 i 400 mg/kg s.m.g., wskazując na najwyższą toksyczność tej pochodnej wobec owsa. Podobnie jak dla aminofosfonianu **5c** (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) oraz związków z ugrupowaniem metoksyfenylowym (**5 d-f**), wartości NOEC i LOEC dla pochodnej **5h** (CMe<sub>3</sub>), wynosiły 800 i 1000 mg/kg s.m.g. Z kolei wartości NOEC i LOEC dla związku **5i** (Ph<sub>2</sub>CH), wynosiły 400 i 800 mg/kg s.m.g., co było podobne do działania pochodnych **5a** (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) i **5b** (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>).



**Rysunek 31.** Wartości NOEC i LOEC odnoszące się do świeżej masy owsa, po ekspozycji na aminofosfoniany **5 a-i**.

b) Rzodkiewka zwyczajna (*R. sativus*)

Wartości NOEC i LOEC dla rzodkiewki, traktowanej badanymi aminofosfonianami przedstawiono na rys. 32. Wartości NOEC, dla pochodnych z ugrupowaniem metylofenylowym (**5 a-c**) wynosiły 100 mg/kg s.m.g. dla **5a** (2- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) i **5b** (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) oraz 200 mg/kg s.m.g. dla **5c** (4- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Te same substancje, dla LOEC wykazywały 200 mg/kg s.m.g. (dla **5a** i **5b**), oraz 400 mg/kg s.m.g. (dla **5c**). W przypadku aminofosfonianów **5 d-f**, wartości NOEC były wyższe w porównaniu do związków **5 a-c** i wynosiły 200 mg/kg s.m.g, natomiast wartości LOEC - 400 mg/kg s.m.g. Wartość NOEC i LOEC aminofosfonianu **5g** (PhCH<sub>2</sub>) oraz **5h** (CMe<sub>3</sub>), była taka sama jak aminofosfonianów **5 c-f**, a pochodnej **5i** (Ph<sub>2</sub>CH) jak **5a** i **5b**.



**Rysunek 32.** Wartości NOEC i LOEC odnoszące się do świeżej masy rzodkiewki, po ekspozycji na aminofosfoniany **5 a-i**.

Porównując wartości NOEC i LOEC dla wszystkich aminofosfonianów wobec rzodkiewki i owsa, zaobserwowano, że obydwa stężenia, są niższe dla rzodkiewki, co również potwierdza większą wrażliwość tej rośliny na badane związki.

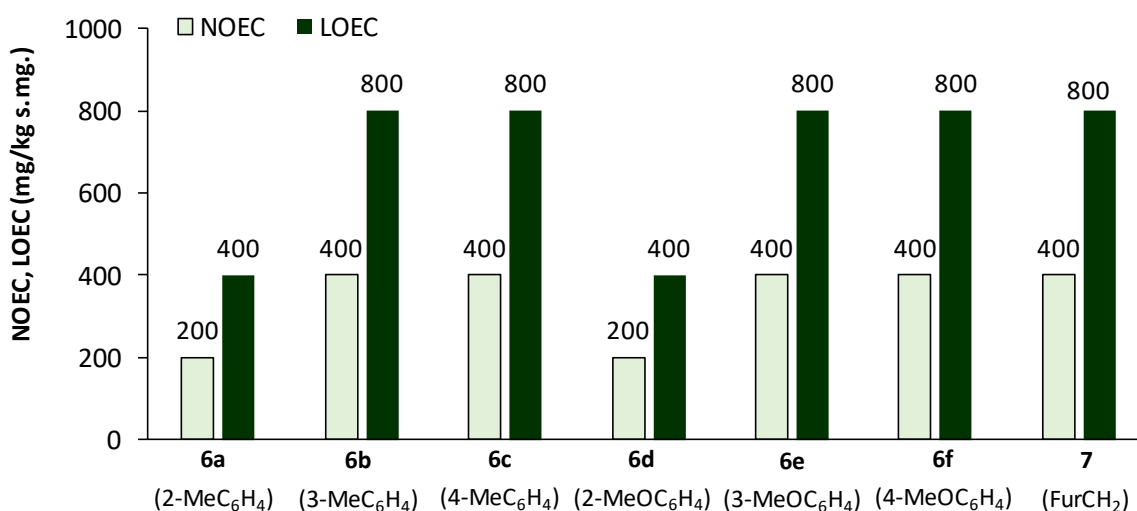
4.2.2.2. Aminofosfoniany difenyłowe **6 a-f** i aminofosfonian dibenzylowy **7**

a) Owies zwyczajny (*A. sativa*)

Wartości NOEC i LOEC, w przypadku owsa nie zostały wyznaczone, ponieważ przekraczały 1000 mg/kg s.m.g.

b) Rzodkiewka zwyczajna (*R. sativus*)

Wartości  $EC_{50}$  aminofosfonianów difenylowych **6 a-f** i **7**, dla rzodkiewki zaprezentowano na rys. 33. Wartości NOEC aminofosfonianów z ugrupowaniem metylofenylowym (**6 a-c**) wobec rzodkiewki wynosiły 200 mg/kg s.m.g. dla **6a** (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) oraz 400 mg/kg s.m.g. dla **6b** (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) i **6c** (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), z kolei LOEC dla tych samych substancji wynosił 400 (**6a**) oraz 800 mg/kg s.m.g. (**6b**, **6c**). Podobną tendencję zaobserwowano dla aminofosfonianów **6 d-f**. Takie wyniki potwierdzają toksyczny wpływ pozycji *ortho* w pierścieniu benzenowym aminofosfonianów z grupą metylową i metoksyową. W przypadku aminofosfonianu **7** (FurCH<sub>2</sub>), wartości NOEC i LOEC wynosiły kolejno 400 i 800 mg/kg s.m.g., co wskazywało na podobną toksyczność do związków z podstawnikiem 3- i 4-metylofenylowym oraz 3- i 4-metoksyfenylowym.



**Rysunek 33.** Wartości NOEC i LOEC odnoszące się do świeżej masy rzodkiewki po ekspozycji na aminofosfoniany **6 a-f** i **7**.

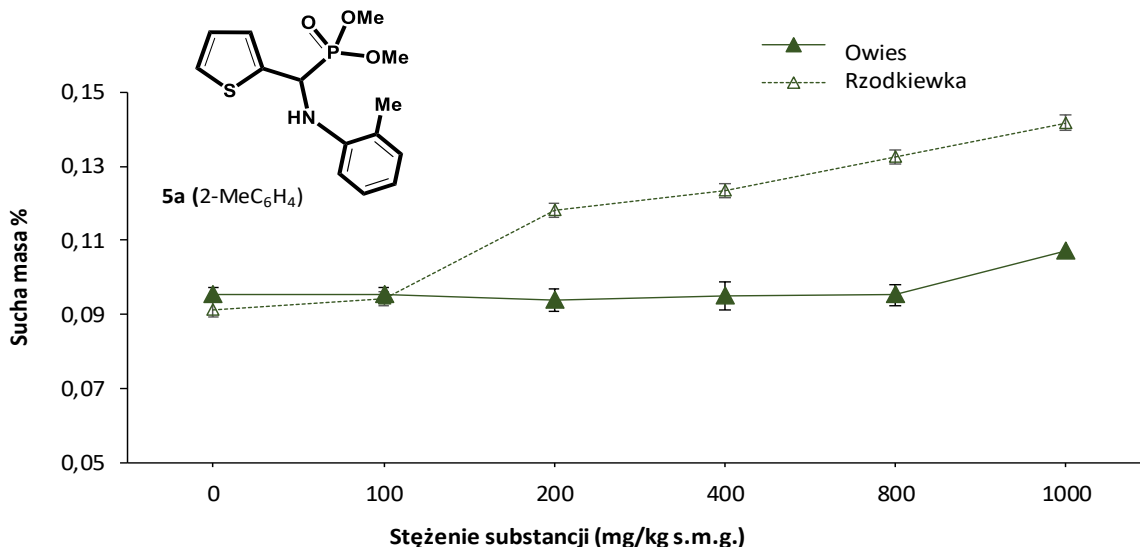
4.2.2.3. *N*-fosfonometylo pochodne glicyny **16 a-g**, **17**

Wartości NOEC i LOEC, dla związków **16 a-g** nie mogły zostać wyznaczone, ponieważ przekraczały 1000 mg/kg s.m.g. W przypadku *N*-fosfonometyloglicyny **17** było to 100 mg/kg (NOEC) oraz 200 mg/kg s.m.g., (LOEC). W przypadku rzodkiewki, wartości NOEC osiągnęły wartość 400 mg/kg dla **16a**, 800 mg/kg dla **16b** i **16 d-g**, oraz 200 mg/kg dla **16c**, z kolei dla glifosatu było to 100 mg/kg s.m.g. Natomiast wartości NOEC to 800 mg/kg dla **16a**, 1000 mg/kg dla **16b** i **16d-g**, 400 mg/kg dla **16c**, a dla **17** - 200 mg/kg s.m.g.

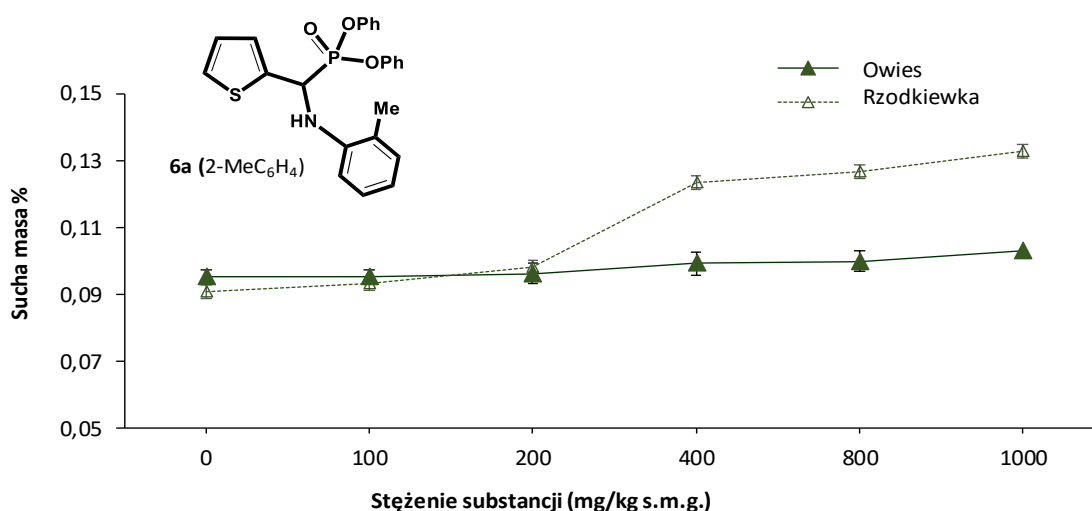
#### 4.2.3. Wpływ aminofosfonianów na zawartość suchej masy

Wpływ aminofosfonianów na zawartość suchej masy roślin może być zróżnicowany i zależy od wielu czynników, takich jak gatunek rośliny, stężenie aminofosfonianów, czas ekspozycji, warunki hodowlane itp. Substancje te, mogą wpływać na zawartość suchej masy rośliny poprzez hamowanie wzrostu i rozwoju. Działanie to, może prowadzić do zmniejszenia akumulacji biomasy rośliny, zarówno w częściach nadziemnych, jak i podziemnych. Warto również zauważyć, że wpływ aminofosfonianów na rośliny może być specyficzny dla poszczególnych gatunków roślin i zależeć od ich wrażliwości na daną substancję. Ostateczne efekty mogą być różne w zależności od wielu czynników i wymagają szczegółowych badań naukowych dla konkretnych gatunków roślin i aminofosfonianów. Nie mniej jednak, warunki stresowe mogą powodować u roślin procentowy wzrost omawianego parametru. Zjawisko to, jest ściśle związane z faktem pobierania przez rośliny składników pokarmowych i wody przez korzenie, a wzrost i rozwój rośliny zależy w dużym stopniu od stężenia mineralnych składników pokarmowych dostępnych w glebie. Gdy stężenie ksenobiotyków w roślinie osiągnie punkt krytyczny, jednym z mechanizmów obrony przed toksycznymi związkami jest pobranie dużej ilości wody, w celu uruchomienia procesów detoksykacyjnych, w tym metabolicznej produkcji glutationu i dysmutazy ponadtlenkowej. W czasie ekspozycji korzenie przestają się rozwijać i rosnać, wchłanianie wody staje się trudniejsze, a poziom suchej masy w roślinie zaczyna wzrastać [219, 220].

Biorąc pod uwagę wszystkie wyniki uzyskane w trakcie badań wobec owsa, stwierdzono, że procentowy udział suchej masy, w przypadku aminofosfonianów **5 a-i**, **6 a-f** oraz **7**, był równy próbie kontrolnej lub nieznacznie obniżony w porównaniu do niej (Rys. 34. – dla **5a**, rys. 35- dla **6a**). Jedynie glifosat **17**, spowodował zwiększenie procentowego udziału suchej masy tej rośliny, wraz z rosnącą koncentracją związku w glebie, w porównaniu do próby kontrolnej [152, 157, 179]. Natomiast reakcją rzodkiewki, na rosnące stężenia zastosowanych w glebie aminofosfonianów **5 a-i**, **6 a-f**, **7**, **16 a-g** oraz **17**, był wzrost zawartości suchej masy (Rys. 34. – dla **5a**, rys. 35- dla **6a**). Stężenie substancji, przy której wzrost ten zaczął być obserwowalny, było zgodne z wartościami NOEC i LOEC, opisywanymi powyżej.



**Rysunek 34.** Procentowy udział suchej masy rzodkiewki i owsa, na skutek działania aminofosfonianu **5a**.



**Rysunek 35.** Procentowy udział suchej masy rzodkiewki i owsa, na skutek działania aminofosfonianu **6a**.

Różnice w zawartości suchej masy pomiędzy roślinami jednoliściennymi a dwuliściennymi są wynikiem różnic w ich strukturze, fizjologii i wzorcach wzrostu. W przypadku łądź i pędów, rośliny dwuliścienne mają tendencję do tworzenia bardziej rozbudowanych i masywnych struktur w porównaniu do roślin jednoliściennych. To może prowadzić do większej zawartości suchej masy, co mogło mieć miejsce w przypadku rzodkiewki. Również rozpuszczalność ksenobiotyków w wodzie może mieć wpływ na ich dostępność i pochłanianie przez korzenie roślin [219, 221, 222]. Należy zauważyć także, że zdolność roślin do pochłaniania substancji zależy nie tylko od rozpuszczalności w wodzie,

ale także od ich struktury chemicznej, obecności odpowiednich transporterów w komórkach korzeniowych i innych czynników fizjologicznych [223, 224]. Wykresy, związane ze zmianą zawartości suchej masy w roślinach, na skutek działania aminofosfonianów przedstawiono w publikacjach Lewkowskiego i in. (2016) oraz Rogacz i in. (2019, 2020) [152, 157, 179].

#### 4.2.4. Wpływ aminofosfonianów na kiełkowanie roślin

Kiełkowanie to kolejny ważny element oceny wpływu substancji chemicznej na nasiona roślin. Niektóre substancje chemiczne, jak np. inhibitory kiełkowania, w znacznym stopniu mogą hamować proces kiełkowania nasion, np. na skutek blokowania aktywacji enzymów niezbędnych do tego celu, czy zakłócać procesy metaboliczne, takie właściwości posiadają niektóre związki fenolowe [225, 226]. Aminofosfoniany, które stosuje się jako herbicydy, mogą wpływać na kiełkowanie roślin w sposób zróżnicowany, zależny od gatunku rośliny, ich stężenia oraz warunków hodowlanych. Aminofosfoniany mogą hamować kiełkowanie nasion roślin poprzez zahamowanie wzrostu zarodka lub spowolnienie procesów metabolicznych związanych z kiełkowaniem. Mogą również zakłócać biosyntezę hormonalną i procesy enzymatyczny, a także powodować stres oksydacyjny [180].

Efekt aminofosfonianów na kiełkowanie roślin może być zależny również od ich stężenia. W niektórych przypadkach niskie stężenia aminofosfonianów mogą pobudzać kiełkowanie roślin poprzez stymulację procesów fizjologicznych, takich jak rozwój korzeni czy aktywacja enzymów [227, 228]. Jednak wysokie stężenia aminofosfonianów często prowadzą do hamowania kiełkowania. Również rośliny mogą reagować w różny sposób na obecność aminofosfonianów. Niektóre gatunki mogą wykazywać większą wrażliwość na działanie aminofosfonianów, co zahamuje procesy kiełkowania, podczas gdy inne mogą być bardziej odporne i mniej narażone na negatywne skutki aminofosfonianów [229]. Istnieją również doniesienia o wpływie grup chemicznych na zdolność kiełkowania. Grupa metylowa może pełnić rolę donorów w procesach metabolicznych, takich jak metylacja DNA, aminokwasów lub hormonów roślinnych. Te procesy mogą wpływać na regulację ekspresji genów związanych z kiełkowaniem. Z kolei grupa metoksyłowa może wpływać na rozpuszczalność substancji chemicznych, a zatem ich biodostępność dla roślin, co może wpływać na jej przyswajalność przez nasiona i kiełkowanie [230].

Analizując wpływ związków **5 a-i** na kiełkowanie rzodkiewki i owsa, w przypadku aminofosfonianów dimetylowych, stwierdzono, że proces ten zależał głównie od gatunku rośliny oraz stężenia badanych substancji. Procent kiełkowania przy najwyższym stężeniu (1000 mg/kg s.m.g), dla owsa wahał się w granicach 70-90%, a dla rzodkiewki było to 61-86%. Największy wpływ na kiełkowanie obu roślin zaobserwowano w przypadku związku **5g (PhCH<sub>2</sub>)**, (kiełkowanie owsa–70%, kiełkowanie rzodkiewki–61%). Porównując wschody owsa w przypadku aminofosfonianów difenylowych **6 a-f**, stwierdzono, że proces ten zależny był, podobnie jak w przypadku aminofosfonianów dimetylowych **5 a-i**, od rodzaju rośliny i jej stężenia w glebie. Z kolei największy wpływ na kiełkowanie rzodkiewki miały aminofosfoniany po ekspozycji na aminofosfoniany z grupą metylową i metoksyłową w pierścieniu benzenowym w pozycji *para*: **6c (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** oraz **6f (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**. W przypadku aminofosfonianów difenylowych **6 a-f** oraz aminofosfonianu dibenzylowego **7**, przy najwyższym stężeniu ksenobiotyku w glebie, kiełkowanie owsa osiągnęło wartości rzędu 97-98%, a rzodkiewki 70-96%. Natomiast dla glifosatu i jego pochodnych (**16 a-g**, **17**), kiełkowanie owsa oznaczono na poziomie 86-97%, a rzodkiewki 65-86%. Biorąc pod uwagę wszystkie badane aminofosfoniany, im wyższe było ich stężenie w glebie, tym silniejsze było ich niekorzystne działanie na wschody i kiełkowanie roślin.

Ocena kiełkowania zarówno jednoliściennej owsa, jak i dwuliściennej rzodkiewki wykazała również, że rzodkiewka jest znacznie bardziej wrażliwa na wszystkie testowane związki **5 a-i**, **6 a-f**, **7**, **16 a-g** i **17**, niż ma to miejsce w przypadku owsa. Wpływ działania aminofosfonianów **5 a-i**, **6 a-f**, **7**, **16 a-g** i **17** na kiełkowanie roślin opisano w publikacjach Lewkowskiego i in. (2016) oraz Rogacz i in. (2019, 2020) [152, 157, 179].

#### 4.2.5. Wpływ aminofosfonianów na barwniki asymilacyjne

Substancje chemiczne mogą mieć różnorodny wpływ na zawartość, syntezę i funkcję barwników fotosyntetycznych w roślinach. Chlorofil jest zielonym barwnikiem, który pełni kluczową rolę w fotosyntezie, umożliwiającą roślinom przekształcanie światła słonecznego w energię chemiczną [231]. Niektóre substancje chemiczne, takie jak np. związki azotowe, mogą stymulować syntezę chlorofilu w roślinach. Z kolei inne substancje chemiczne, takie jak inhibitory biosyntezy aminokwasów lub makro- i mikroelementów, mogą wpływać hamująco na syntezę chlorofilu. Brak niezbędnych składników odżywczych, jak i obecność



substancji hamujących enzymy zaangażowane w syntezę chlorofilu może prowadzić do obniżenia poziomu chlorofilu w roślinach [232].

Również stres oksydacyjny, wywołany np. przez nadmiar światła lub niekorzystne warunki środowiskowe, czy działanie patogenów mogą prowadzić do uszkodzeń, obniżających jego zawartość. Ksenobiotyki, takie jak pestycydy mogą powodować zmianę fluorescencji chlorofilu, co może wskazywać na stres roślin, a w następstwie zmiany w fotosyntezie lub uszkodzenie struktur chloroplastów. Pojawienie się na liściach roślin objawów chlorozy, takich jak żółknięcie i bielenie normalnie zielonej tkanki roślinnej, świadczy o zmniejszeniu ilości chlorofilu, powodującego chorobę (chlorozę) lub niedobór składników pokarmowych [233, 234].

Innymi barwnikami, obecnymi w roślinach są karotenoidy, które pełnią ważne funkcje, takie jak absorbowanie światła, ochrona przed stresem oksydacyjnym oraz udział w przemianach metabolicznych [235]. Tak samo jak w przypadku chlorofilu, również obecność karotenoidów może być zależna od rodzaju substancji chemicznej, która wpływa na roślinę [236].

Obecność niektórych składników odżywczych, takich jak azot, magnez czy żelazo, może wpływać na zwiększenie syntezy karotenoidów, natomiast niektóre herbicydy lub inhibitory prekursorów karotenoidów, mogą wpływać limitująco na poziom karotenoidów w roślinach. Stosunek chlorofilu do karotenoidów jest kluczowym czynnikiem odpowiedzialnym za właściwe przeprowadzanie fotosyntezy [237, 238]. Pigmenty karotenoidowe są istotne dla przetrwania rośliny, dlatego ich skład i ilość jest zależna od warunków fizjologicznych, w których rosną, a jednym z najważniejszych czynników środowiskowych wpływających na poziom i metabolizm karotenoidów jest stres oksydacyjny, który występuje, gdy zaabsorbowana energia przekracza możliwości aparatu fotosyntetycznego rośliny [239–242].

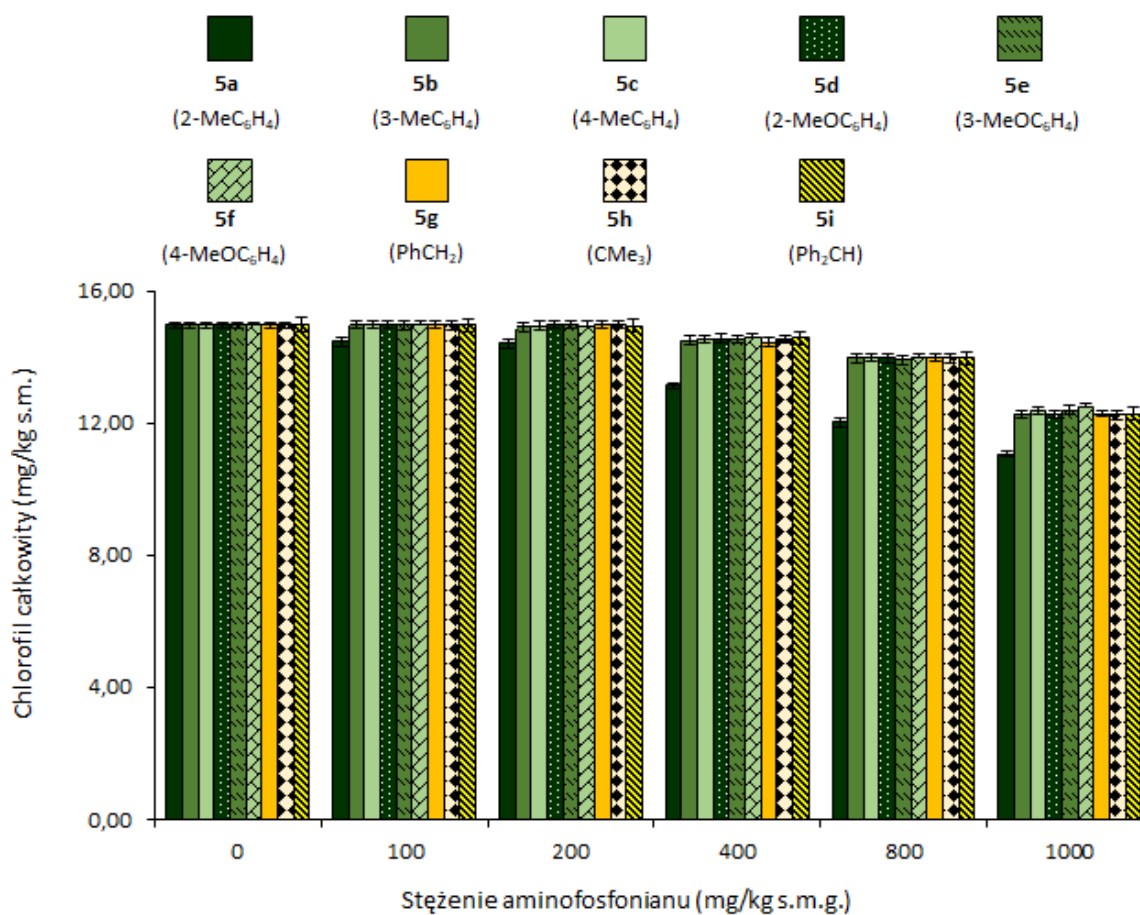
#### 4.2.5.1. Aminofosfoniany dimetylowe **5 a-i**

##### a) Owies zwyczajny (*A. sativa*)

Poziom chlorofilu całkowitego, jak i karotenoidów w liściach owsa, poddanych działaniu aminofosfonianów **5 a-i**, był porównywalny z poziomem tego barwnika w roślinach kontrolnych.

##### b) Rzodkiewka zwyczajna (*R. sativus*)

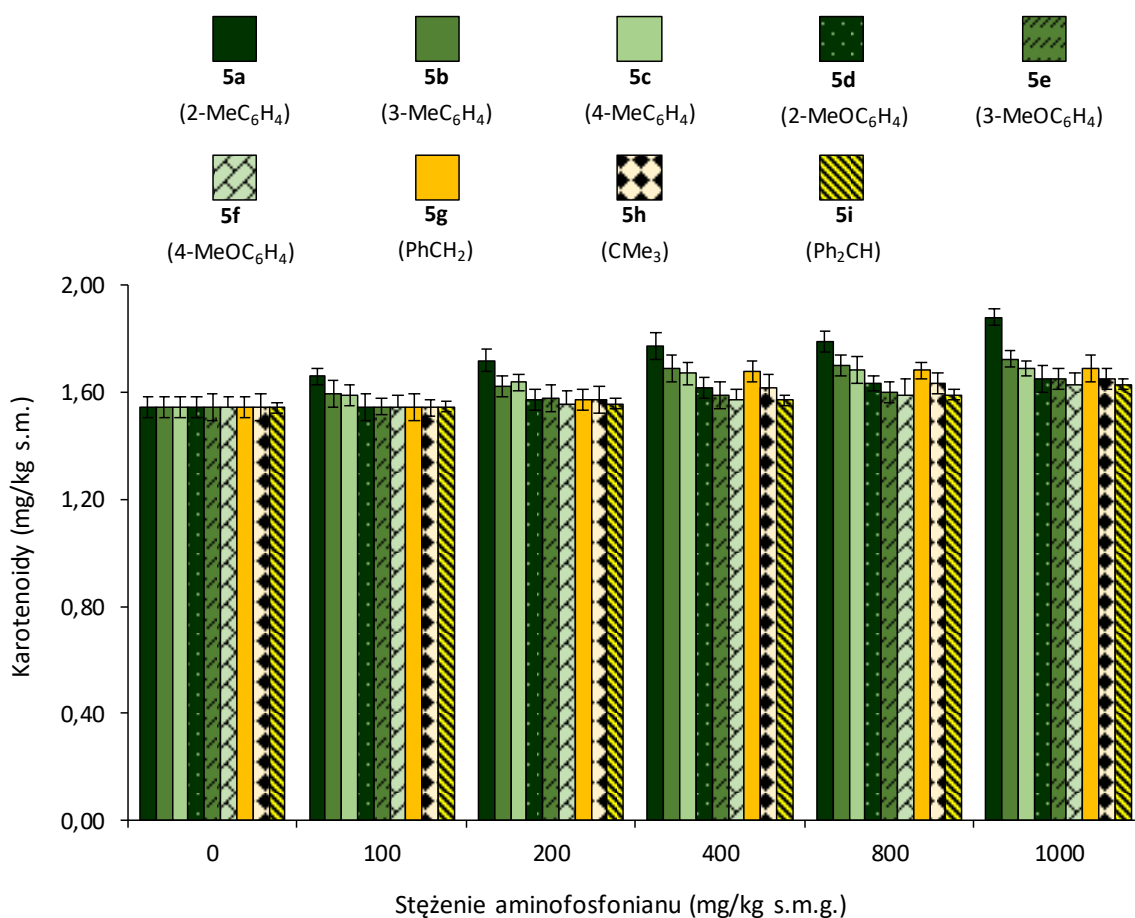
Wzrastające stężenie badanych związków **5 a-i**, w glebie powodowało obniżenie poziomu chlorofilu całkowitego w zielonych częściach roślin (Rys. 36). Spadek ten, związany był z rodzajem substancji, przy czym największy zaobserwowano w przypadku aminofosfonianu 2-metylofenylowego **5a** (**2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), przy stężeniu 100 mg/kg s.m.g. W przypadku pozostałych związków, obniżenie poziomu chlorofilu było obecne, ale nie tak wyraźne, jak przy związku **5a**.



**Rysunek 36.** Zawartości chlorofilu w siewkach rzodkiewki, traktowanej aminofosfonianami **5 a-i**. Dane są wyrażone, jako średnia  $\pm$  SD z trzech powtórzeń dla każdego stężenia.

Biorąc pod uwagę poziom karotenoidów w liściach rzodkiewki, wzrastające stężenie aminofosfonianów w glebie prowadziło do stałego wzrostu ich ilości w zielonych częściach rośliny (Rys. 37). Szczególny wzrost poziomu tych barwników miał miejsce w przypadku aminofosfonianu **5a** (**2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**). Pochodne z grupą metylofenylową (**5 a-c**), spowodowały większy spadek poziomu karotenoidów w roślinach, w porównaniu do tych, z grupą

metoksyfenylową (**5 d-f**). W przypadku związków **5 g-i**, poziom barwników był zbliżony, do tych, które wywołały aminofosfoniany **5 d-f**.



**Rysunek 37.** Zawartości karotenoidów w siewkach rzodkiewki, traktowanej aminofosfonianami **5 a-i**. Dane są wyrażone, jako średnia  $\pm$  SD z trzech powtórzeń dla każdego stężenia.

#### 4.2.5.2. Aminofosfoniany difenyłowe **6 a-f** i aminofosfonian dibenzylowy **7**

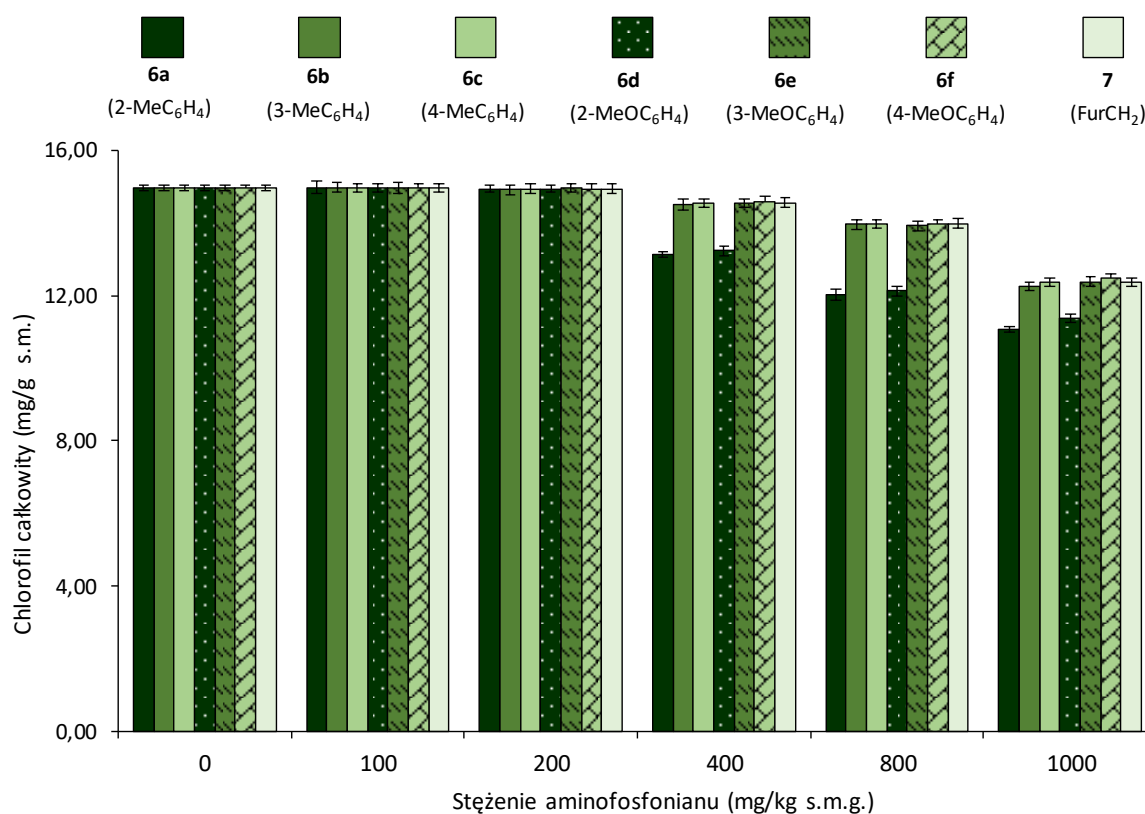
##### a) Owies zwyczajny (*A. sativa*)

Poziom chlorofilu całkowitego oraz karotenoidów w liściach owsa, traktowanych związkami **6 a-f** oraz **7**, był porównywalny z poziomem tego barwnika w roślinach kontrolnych.

##### b) Rzodkiewka zwyczajna (*R. sativus*)

Wzrastające stężenie badanych związków **6 a-f** oraz **7**, w glebie skutkowało obniżeniem poziomu chlorofilu całkowitego w liściach rzodkiewki (Rys. 38). Zawartość

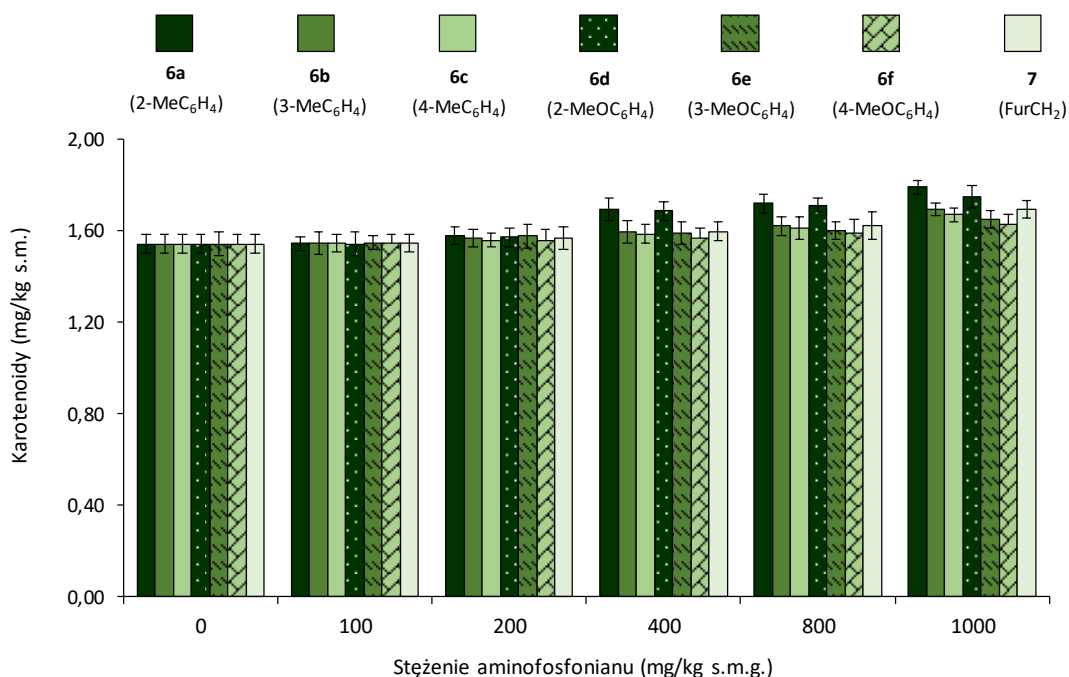
chlorofilu mierzona w liściach rzodkiewki była zależna od zastosowanego związku, przy czym najsilniejszy spadek poziomu chlorofilu w rzodkiewce obserwowano po ekspozycji na aminofosfonian z podstawnikiem 2-metylofenylowym (**6a**) i 2-metoksyfenylowym (**6d**). Istotny spadek poziomu chlorofilu spowodowany wpływem tych dwóch substancji, zaobserwowano przy stężeniu 400 mg/kg s.m.g. W przypadku pozostałych związków **6b** (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), **6c** (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), **6e** (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), **6f** (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) oraz **7** (FurCH<sub>2</sub>), spadek poziomu chlorofilu zaobserwowano również przy stężeniu 400 mg/kg s.m.g., ale nie był on tak gwałtowny. Zaobserwowano również niewielkie różnice poziomu tego barwnika w odniesieniu do rodzaju podstawnika metylofenylowego (**6 a-c**) oraz metoksyfenylowego (**6 d-f**). Pochodne **6 a-c**, powodowały nieco większy spadek chlorofilu w roślinach.



**Rysunek 38.** Zawartości chlorofilu całkowitego w siewkach rzodkiewki, traktowanej aminofosfonianami **6 a-f** oraz **7**. Dane są wyrażone, jako średnia  $\pm$  SD z trzech powtórzeń dla każdego stężenia.

Poziom karotenoidów w siewkach rzodkiewki, traktowanych wszystkimi aminofosfonianami, powodowało stały wzrost ich ilości w zielonych częściach rośliny (Rys. 39). Znaczący wzrost poziomu karotenoidów zaobserwowano w przypadku aminofosfonianu z podstawnikiem 2-metylofenylowym (**6a**) i 2-metoksyfenylowym (**6d**). Grupa metylofenylowa (**6 a-c**), spowodowała nieznacznie większy spadek poziomu

karotenoidów w roślinach, w porównaniu do tych, z grupą metoksyfenylową (**6 d-f**), szczególnie przy wyższych stężeniach aminofosfonianów w glebie.



**Rysunek 39.** Zawartości karotenoidów w siewkach rzodkiewki, traktowanej aminofosfonianami **6 a-f** oraz **7**. Dane są wyrażone, jako średnia  $\pm$  SD z trzech powtórzeń dla każdego stężenia.

#### 4.2.5.3. N-fosfonometylo pochodne glicyny **16 a-g**, **17**

##### a) Owies zwyczajny (*A. sativa*)

Wzrost stężenia badanych związków **16 a-g** i **17** w glebie skutkowało obniżeniem poziomu chlorofilu całkowitego w zielonych częściach rośliny. W przypadku zawartości karotenoidów w siewkach owsa traktowanych aminofosfonianami **16 a-g**, ich poziom był porównywalny lub nieznacznie niższy niż w roślinach kontrolnych.

##### b) Rzodkiewka zwyczajna (*R. sativus*)

Badane substancje **16 a-g** i **17**, spowodowały spadek wszystkich barwników w liściach rzodkiewki, a także wzrost ilości karotenoidów, wraz z wzrastającym stężeniem aminofosfonianów w glebie. Glyphosat **17** powodował akumulację karotenoidów w liściach obu badanych roślin. Niektóre badania sugerują, że aminofosfoniany mogą mieć korzystny wpływ na rośliny poprzez stymulację procesów metabolicznych, takich jak fotosynteza. Jednak inne badania sugerują, że nadmiar aminofosfonianów może prowadzić do

toksyczności i zakłóceń w funkcjonowaniu roślin. Biorąc pod uwagę przeprowadzone doświadczenia, stwierdzono, że rosnące stężenie aminofosfonianów **5 a-i**, **16 a-g** i **17** w glebie, powodowało obniżenie poziomu chlorofilu całkowitego w zielonych częściach roślin, wykorzystanych do badań. W przypadku rzodkiewki, zmiany te, widoczne były szybciej i następowały przy niższych stężeniach aminofosfonianów, niż miało to miejsce w przypadku owsa. Dla aminofosfonianów **6 a-h**, poziom chlorofilu całkowitego w liściach owsa, traktowanych badanymi związkami, był porównywalny z poziomem tego barwnika w roślinach kontrolnych. Natomiast wobec rzodkiewki, powodowało to obniżenie poziomu chlorofilu całkowitego w jej zielonych częściach. Poziom karotenoidów w siewkach owsa na skutek działania związków **5 a-i**, **6 a-h** oraz **16 a-g** był porównywalny lub nieco niższy od poziomu karotenoidów w roślinach kontrolnych. Natomiast w przypadku rzodkiewki stężenie badanych związków w glebie, powodowało stały spadek ilości karotenoidów w zielonych częściach rośliny. Zaobserwowano również istotną reakcję rzodkiewki na aminofosfoniany z grupą metylową w pierścieniu benzenowym w pozycji *orto*: **5a** (**2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), **6a** (**2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**) oraz metoksyową w tej samej pozycji **6d** (**2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), co miało postać znacznego obniżenia poziomu chlorofilu i wzrostu poziomu karotenoidów. Poziom karotenoidów w pędach rzodkiewki był nieznacznie większy w przypadku pochodnych z ugrupowaniem metylofenylowym niż związków podstawionych grupą metoksyfenylową, zarówno w przypadku aminofosfonianów difenylowych (**6 a-f**), jak i dimetylowych (**5a-f**). Wpływ działania aminofosfonianów **5 a-i**, **6 a-f**, **7**, **16 a-g** i **17** na poziom barwników asymilacyjnych, został opisany przez Lewkowskiego i in. (2016) oraz Rogacz i in. (2019, 2020) [152, 157, 179].

## 4.3. Ocena właściwości herbicydowych aminofosfonianów 5 a-i, 6 a-f, 7, 16 a-h

### 4.3.1. Ocena aktywności chwastobójczej w oparciu o skalę EWRC

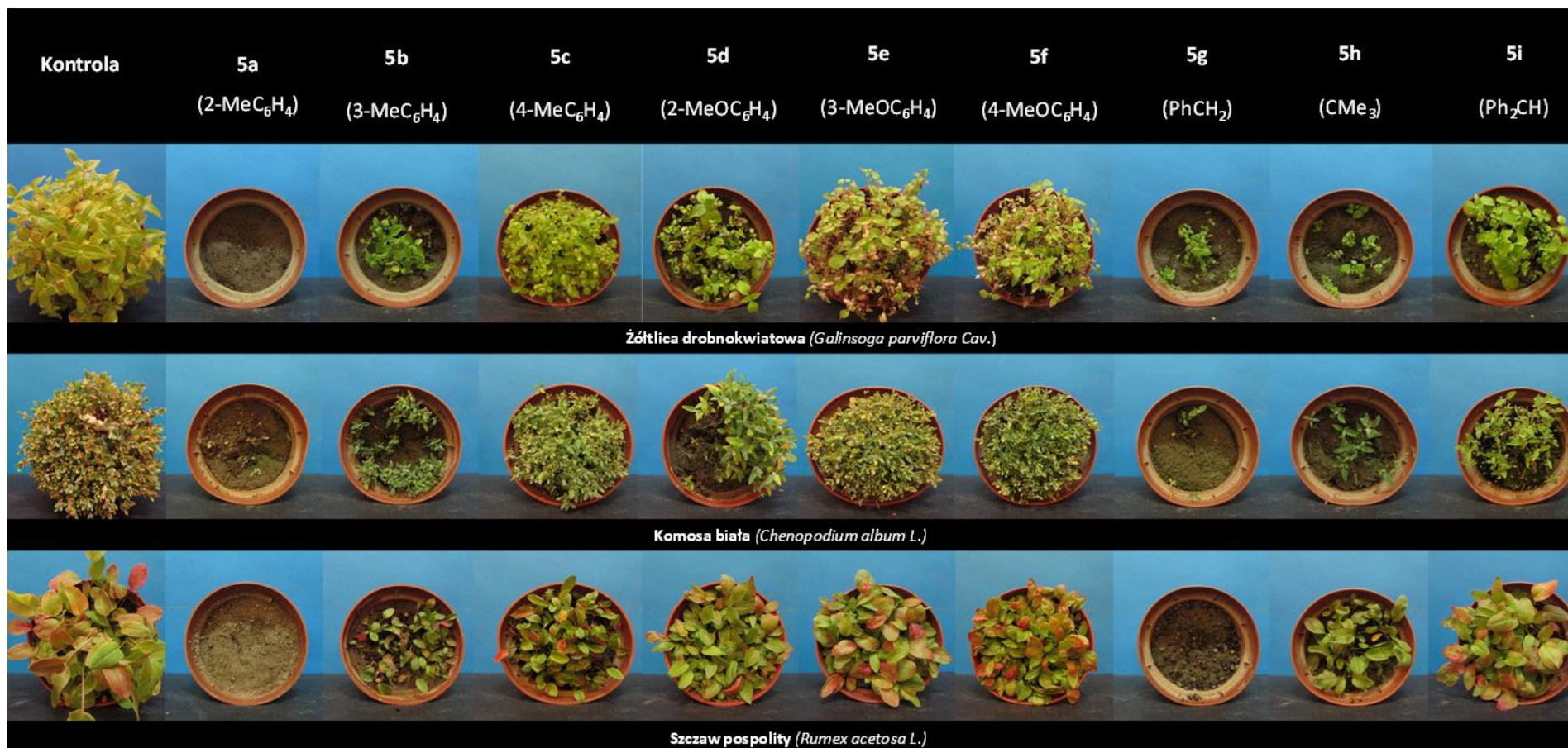
Chwasty konkurują z roślinami uprawnymi nie tylko o składniki pokarmowe czy światło, ale również o wodę. Zależnie od gatunku są w stanie pobrać do kilku razy więcej wody niż rośliny uprawne w związku, z czym muszą być skutecznie zwalczane [243]. Aktywność chwastobójcza substancji chemicznych może być determinowana przez wiele czynników. Skuteczność herbicydu może zależeć od konkretnego gatunku chwastów, na które ma być stosowany. Niektóre herbicydy wykazują dużą skuteczność w zwalczaniu określonych gatunków chwastów, a inne mogą mieć szersze spektrum działania. Związane jest to również z fazą rozwojową rośliny. Czynniki istotnie wpływającymi na skuteczność zabiegu chwastobójczego jest temperatura i wilgotność powietrza oraz wilgotność gleby [244].

Dawka herbicydu, sposób aplikacji i forma użytkowa, mogą mieć istotny wpływ na skuteczność działania. Niewłaściwa dawka może być niewystarczająca lub zbyt silna, co może wpływać na efektywność działania herbicydu. Z kolei niektóre herbicydy mogą podlegać interakcjom z glebą, co również wpływa na ich dostępność i skuteczność, ze względu na różne właściwości fizykochemiczne gleb, takie jak pH, zawartość substancji organicznych, zdolność do zatrzymywania i uwalniania substancji czynnych, które mogą wpływać na działanie herbicydów [245]. Również występowanie odporności chwastów na konkretne herbicydy może mieć istotny wpływ na skuteczność działania [246]. Komosa biała (*Ch. album*), wykazuje pewne zdolności do rozwijania oporności na niektóre herbicydy, takie jak te z grupy sulfonilomocznikowych (np. Chlorsulfuron), z grupy triazyn (np. Atrazyna) oraz herbicydy z grupy fenylokarbaminowych (np. Metolaklor). Z kolei szczaw zwyczajny (*R. acetosa*), nie jest znany z występowania oporności na jakikolwiek herbicyd. Natomiast żółtlica drobnokwiatowa (*G. parviflora*) to gatunek chwastu, który może być uciążliwy w niektórych uprawach [247].

#### 4.3.1.1. Ocena aktywności chwastobójczej aminofosfonianów dimetylowych **5 a-i**

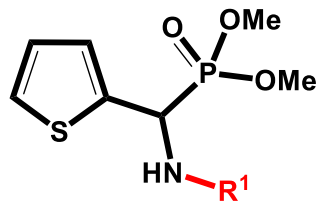
Wizualne oddziaływanie testowanych substancji **5 a-i** na badane gatunki chwastów przedstawiono na rys. 40. Oceny przypisano w oparciu o skalę Europejskiej Rady Badania Chwastów (EWRC) i przedstawiono w tab. 9. Aminofosfoniany z grupą metylofenylową **5 a-c**, wykazały większą toksyczność na badane chwasty, niż związki z grupą metoksyfenylową **5 d-f**. Biorąc pod uwagę te substancje **5 a-c** oraz **5 d-f**, najwyższą skuteczność chwastobójczą wobec wszystkich chwastów, wykazał związek z podstawnikiem 2-metylofenylowym **5a (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** i zgodnie ze skalą EWRC, jego efektywność została oceniona na nr 1, co oznaczało całkowitą śmierć roślin (100%). Związek **5b (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, okazał się drugi w kolejności, co do skuteczności chwastobójczej i zgodnie ze skalą EWRC wynik mieścił się między dobrym a akceptowalnym (ocena 4), wobec szczawiu zwyczajnego i słaby (ocena 6) wobec żóltlicy drobnokwiatowej i komosy białej. W przypadku związków **5 g-i**, ich działanie chwastobójcze, było zbliżone do działania aminofosfonianów **5 a-c**. Najwyższą skuteczność spośród wszystkich badanych aminofosfonianów dimetylowych wykazał związek **5g (PhCH<sub>2</sub>)**, który spowodował całkowitą śmierć szczawiu zwyczajnego (ocena 1 w skali EWRC), natomiast w przypadku żótlicy i komosy białej, uzyskał ocenę 3–bardzo dobry. Wyniki dobre do akceptowalnych (ocena 4) zaobserwowano dla substancji **5h (CMe<sub>3</sub>)** w przypadku żótlicy i komosy, natomiast wpływ tego aminofosfonianu na szczaw zwyczajny oceniono, jako numer 5, co oznaczało działanie umiarkowane. Aminofosfoniany **5 c-f** oraz **5i** okazały się substancjami nieskutecznymi, jako herbicydy.





**Rysunek 40.** Zdjęcia cyfrowe żółtlicy drobnokwiatowej (*G. parviflora*), szczawiu zwyczajnego (*R. acetosa*) i komosy białej (*C. Album*), traktowanych związkami **5 a-i** (stężenie w 1000 mg/kg suchej masy gleby) w 5 tygodniu wzrostu.

Tabela 9. Ocena toksyczności aminofosfonianów dimetylowych **5 a-i**, wobec chwastów w 7 dniu wzrostu.



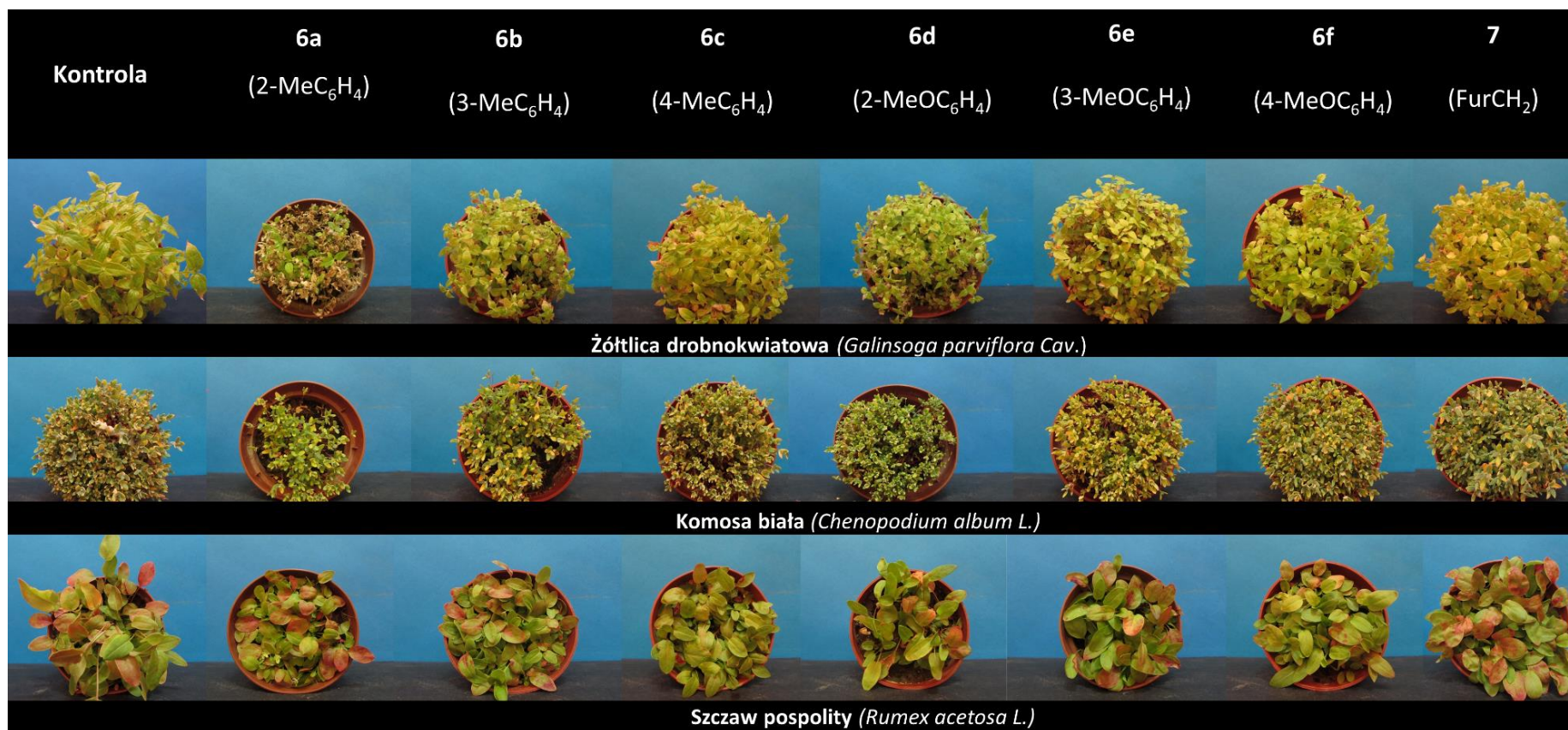
Chwasty	Substancja								
	5a	5b	5c	5d	5e	5f	5g	5h	5i
	(2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(PhCH <sub>2</sub> )	(CMe <sub>3</sub> )	(Ph <sub>2</sub> CH)
Żółtlica drobnokwiatowa ( <i>G. parviflora</i> )	1	6	7	7	9	9	3	4	6
Komosa biała ( <i>Ch. Album</i> )	1	6	8	7	8	9	3	4	6
Szczaw zwyczajny ( <i>R. acetosa</i> )	1	4	7	8	8	8	1	5	8

Ocena 1: całkowita śmierć roślin (100%); 2: doskonała (98,0 do 99,9%); 3: bardzo dobra (95,0 do 97,9%); 4: dobra do akceptowalnej (90 do 94,9%); 5: umiarkowana (82,0 do 89,9%); 6: słaba (70,0 do 81,9%); 7: zła (55,0 do 69,9%); 8: bardzo zła (30 do 54,9%); i 9: brak działania (0,0 do 29,9%)

#### 4.3.1.2. Aminofosfoniany difenyłowe **6 a-f** i aminofosfonian dibenzylowy **7**

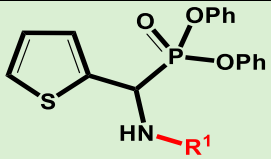
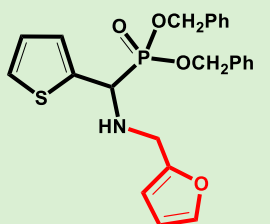
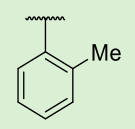
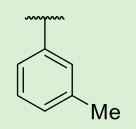
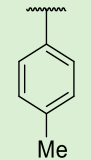
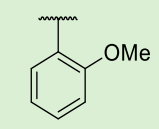
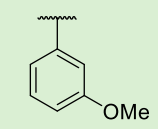
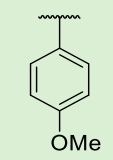
Oddziaływanie badanych aminofosfonianów **6 a-f** i **7** na żóltlicę drobnokwiatową, szczaw zwyczajny i komosę białą przedstawiono na rys. 41, natomiast liczbową ocenę, w oparciu o skalę Europejskiej Rady Badań nad Chwastami (EWRC) i przedstawiono w tab.10. Najsilniejsze działanie na chwasty, wśród aminofosfonianów z grupą metylofenylową (**6 a-c**), a zarazem wszystkich badanych związków, zaobserwowano dla aminofosfonianu z podstawnikiem 2-metylofenylowym **6a**. Zgodnie ze skalą European Weed Research Council, ocena skuteczności wynosiła 7, co oznaczało złą skuteczność tej substancji wobec żóltlicy drobnokwiatowej, szczawiu zwyczajnego i komosy białej. Stwierdzono również nieznacznie silniejszy wpływ pochodnych metylofenylowych **6 a-c** na rośliny, niż metoksyfenylowych **6 d-f**.

Stwierdzono, że aminofosfoniany te są całkowicie nieskuteczne, jako herbicydy i zostały sklasyfikowane w skali EWRC na poziomie 7-9 (EWRC: 7 = zły, 55,0 do 69,9%; 8 = bardzo zły, 30 do 54,9%; 9 = brak działania, 0,0 do 29,9%).



**Rysunek 41.** Zdjęcia cyfrowe żółtlicy drobnokwiatowej (*G. parviflora*), komosy białej (*Ch. album*) i szczawiu zwyczajnego (*R. acetosa*), traktowanych związkami **6 a-f** i **7** (stężenie w 1000 mg/kg suchej masy gleby) w 5 tygodniu wzrostu.

**Tabela 10.** Ocena toksyczności aminofosfonianów difenylowych **6 a-f** oraz **7**, wobec chwastów po 7 dniach od oprysku.

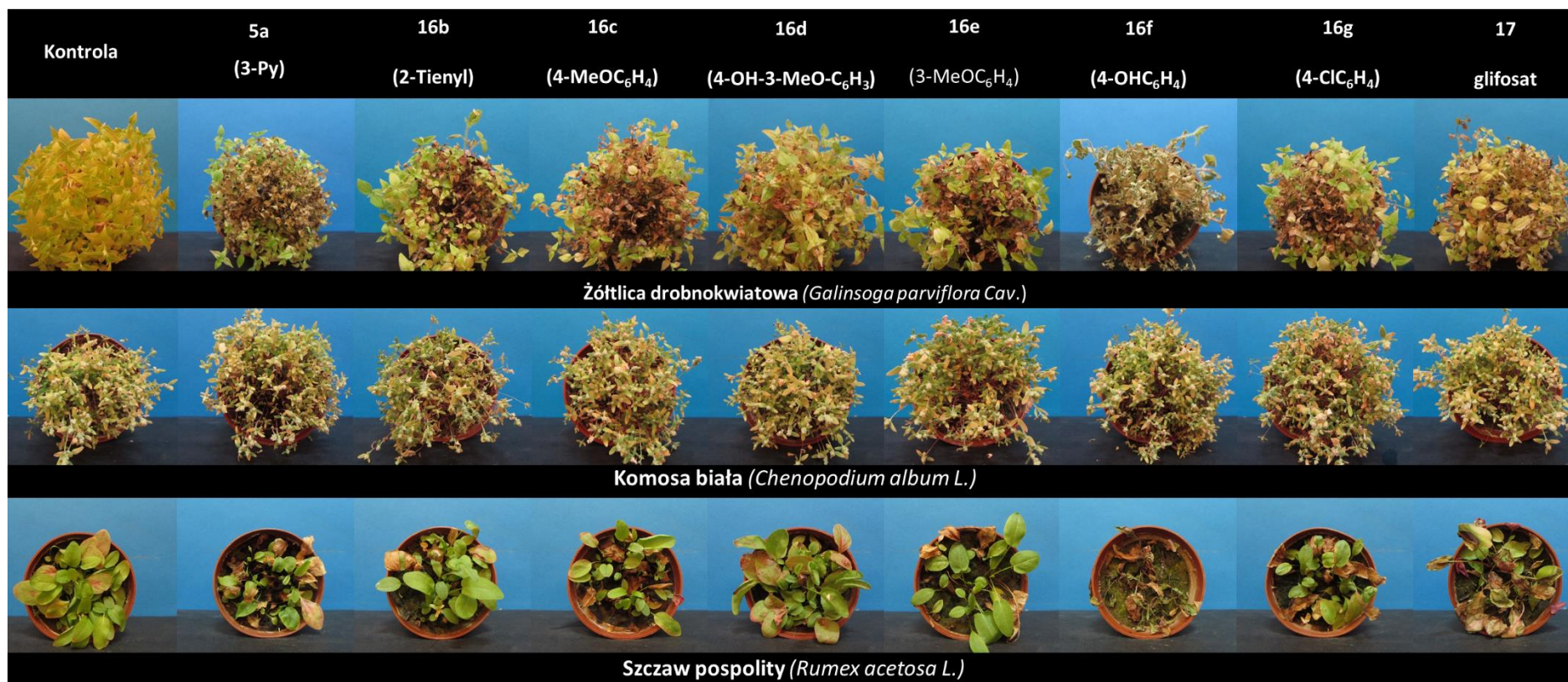
Chwasty	Substancja						
							
	6a	6b	6c	6d	6e	6f	
	6 (2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	6 (3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	6 (4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	6 (2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	6 (3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	6 (4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	
							
Żóttlica drobnokwiatowa ( <i>G. parviflora</i> )	7	8	8	8	8	9	8
Komosa biała ( <i>Ch. album</i> )	7	8	8	8	8	9	8
Szczaw zwyczajny ( <i>R. acetosa</i> )	7	8	8	8	8	8	8

**Ocena 1:** całkowita śmierć roślin (100%); **2:** doskonała (98,0 do 99,9%); **3:** bardzo dobra (95,0 do 97,9%); **4:** dobra do akceptowalnej (90 do 94,9%); **5:** umiarkowana (82,0 do 89,9%); **6:** słaba (70,0 do 81,9%); **7:** zła (55,0 do 69,9%); **8:** bardzo zła (30 do 54,9%); **9:** brak działania (0,0 do 29,9%)

#### 4.3.1.3. N-fosfonometylo pochodne glicyny **16 a-g**, **17**

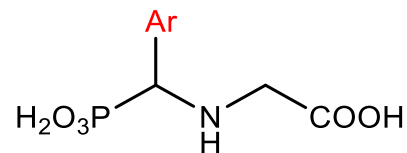
Oddziaływanie substancji **16 a-g** i **17** na chwasty przedstawione zostały na rys. 42, natomiast ocenę liczbową w skali EWRC pokazano w tab.11. W przypadku szczawiu zwyczajnego i żółtlicy drobnokwiatowej, toksyczne działanie aminofosfonianów obserwowano prawie dla każdej substancji **16 a-g**, jednak najwyższą skuteczność zaobserwowano dla substancji **16f (4-OHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**. Według skali z European Weed Research Council ocena procentowa wynosiła 1: całkowita śmierć roślin (100%). Związki **16 a-c** i komercyjny glifosat **17**, wyrażały umiarkowane działanie na szczaw i żółticę (ocena 5: 82,0-89,9%). Pochodna **16e (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** okazała się substancją całkowicie nieskuteczną, jako herbicyd; ocena w skali EWRC wynosiła 8: bardzo zła (30-54,9%) dla żółtlicy i 9: żadna (0,0-29,9%) dla szczawiu zwyczajnego. Jedynie związek **16g (4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** okazał się wystarczająco toksyczny dla żółtlicy i szczawiu zwyczajnego, uzyskując ocenę 1 w skali EWRC (całkowita śmierć roślin).

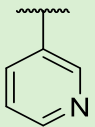
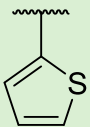
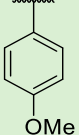
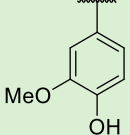
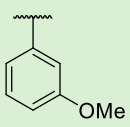
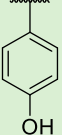
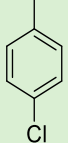
Badanie wykazało jednoznacznie, że żadna z badanych pochodnych aminofosfonowych nie oddziaływała na komosę białą. W przypadku wszystkich związków **16 a-g** oraz dla glifosatu **17**, ocena w skali EWRC dla tej rośliny wynosiła 9, co oznaczało brak oddziaływania (0,0-29,9%). Może być to związane z bardzo niską wrażliwością komosy białej na herbicydy [248, 249]. Jej budowa anatomiczna (włoski na łodygach i liściach), uniemożliwiła utrzymanie się na niej kropli cieczy, użytej do oprysku. Warto zauważyć, że glifosat w formie kwasu (nie soli) również wykazywał umiarkowaną aktywność chwastobójczą. Główną przyczyną tego fenomenu są surfaktanty, które zmieniają właściwości herbicydu. Pestycydy są zawsze stosowane w formułacjach, jako mieszaniny substancji czynnej z adiuwantami [250, 251]. Niewątpliwie brak adiuwantów w formułacji herbicydowej drastycznie obniża jej skuteczność, co spowodowane jest przede wszystkim substancją czynną, która często nie posiada właściwości adhezyjnych. Badania pokazały, że czysty glifosat **17** nie jest toksyczny dla użytych w doświadczeniu chwastów. Gdyby jednak posiadał postać herbicydową, np. jako sól izopropylaminowa, wraz z polioksyetylenaminą (POEA) jako adiuwantem, z pewnością wykazywałby działanie toksyczne [252]. Z kolei minofosfonowa pochodna **16g (4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** nie wymagała dodatku żadnego adiuwanta, aby być skutecznie toksyczną wobec dwóch z trzech badanych chwastów, co stanowi jej przewagę nad glifosatem **17**.



**Rysunek 42.** Fotografie cyfrowe żółtlicy drobnokwiatowej (*G. parviflora*), szczawiu zwyczajnego (*R. acetosa*) i komosy białej (*C. Album*) w 5 tygodniu wzrostu, po oprysku 20% wodnymi roztworami aminofosfonianów **16 a-g** i **17**.

**Tabela 11.** Ocena toksyczności aminofosfonianów **16 a-g** i **17**, po 7 dniach od wykonania oprysku.



Chwasty	Substancja							
	16a	16b	16c	16d	16e	16f	16g	17
	(3-Py)	(2-Tienyl)	(4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(4-OH-3-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> )	(3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(4-OHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(glifosat)
								H
<b>Żółtlica drobnokwiatowa (<i>G. parviflora</i>)</b>	7	5	5	5	8	6	1	5
<b>Komosa biała (<i>Ch. album</i>)</b>	9	9	9	9	9	9	9	9
<b>Szczaw zwyczajny (<i>R. acetosa</i>)</b>	7	5	5	5	9	6	1	5

**Ocena 1:** całkowita śmierć roślin (100%); **2:** doskonała (98,0 do 99,9%); **3:** bardzo dobra (95,0 do 97,9%); **4:** dobra do akceptowalnej (90 do 94,9%); **5:** umiarkowana (82,0 do 89,9%); **6:** słaba (70,0 do 81,9%); **7:** zła (55,0 do 69,9%); **8:** bardzo zła (30 do 54,9%); i **9:** brak działania (0,0 do 29,9%).



## 4.4. Ocena ekotoksyczności aminofosfonianów z wykorzystaniem biotestów

### 4.4.1. Oznaczanie toksyczności ostrej – Microtox

Test Microtox opiera się na pomiarze luminescencji emitowanej przez bakterie *A. fischeri*. Jeśli próbka jest toksyczna dla tych bakterii, ich metabolizm zostaje zakłócony, co prowadzi do zmniejszenia emisji światła. Hamowanie luminescencji może być spowodowane działaniem substancji toksycznych, takich jak metale ciężkie, pestycydy, czy związki organiczne. Toksyczność może być spowodowana również różnymi mechanizmami, takimi jak uszkodzenie struktury komórkowej bakterii lub zakłócenie syntezy białek [253]. Takie czynniki stresowe jak np. zmiany pH, wysokie temperatury, niedobór tlenu lub innych składników odżywczych, również mogą zakłócać normalne funkcjonowanie komórek bakterii i wpływać na produkcję lucyferazy, enzymu odpowiedzialnego za luminescencję. Jest to reakcja chemiczna, w której energia chemiczna jest przekształcana w energię świetlną. Proces luminescencji, w którym uczestniczy lucyferaza, ma miejsce w obecności lucyferyny, która jest substratem reakcji. Jest ona utleniana przez enzym lucyferazę, co prowadzi do emisji światła. Energia chemiczna, która jest uwalniana podczas reakcji utleniania substratu, jest przekształcana w energię świetlną. Proces ten jest zazwyczaj bardzo efektywny, co oznacza, że większość energii chemicznej jest zamieniana w światło. Emisja światła może mieć różne długości fal, co jest związane z charakterystycznymi właściwościami lucyferyny i reakcji enzymatycznej. Niektóre substancje chemiczne mogą działać, jako inhibitory metaboliczne, zakłócając szlaki metaboliczne w komórkach *A. fischeri* [254]. To może prowadzić do hamowania produkcji energii, syntezy białek, kwasów nukleinowych i innych procesów niezbędnych do utrzymania normalnego funkcjonowania i luminescencji bakterii [255].

#### 4.4.1.1. Aminofosfoniany dimetylowe **5 a-i**

Przydatność badanych aminofosfonianów, jako herbicydów zweryfikowano poprzez ocenę ich ekotoksyczności. Zgodnie z zaleceniami ECHA, wyrażonymi w procedurze REACH Zaleca się ocenę ekotoksyczności każdej nowo zsyntetyzowanej substancji o potencjalnym zastosowaniu biobójczym. Wartości  $EC_{50}$  obliczone za pomocą programu Microtox Analityzer przedstawiono w tabeli 12. W celu ułatwienia porównania, wartości  $EC_{50}$  dla *A. fischeri* przeliczono na mg/kg s. m. g. Wyniki oceny toksyczności z wykorzystaniem *A. fischeri*, jako badanych organizmów wykazały zróżnicowaną toksyczność badanych związków **5 a-i**, wahającą się od około 294 - 1775 mg/kg s. m. g.

Najmniejszą toksyczność spośród aminofosfonianów z podstawioną grupą metylofenylową, wykazał związek **5a (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, następnie **5c (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, natomiast największą **5b (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**. Za to toksyczność związków z grupą metoksyfenylową, począwszy od najmniej toksycznego, przedstawiała się następująco: **5d (2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** < **5e (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** < **5f (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**. Biorąc pod uwagę pochodne **5 g-i**, bakterie *A. fischeri* były najbardziej wrażliwe na działanie substancji **5i (Ph<sub>2</sub>CH)**. Związek **5g (PhCH<sub>2</sub>)**, wykazywał toksyczność zbliżoną do **5f**, z kolei pochodna **5h (CMe<sub>3</sub>)** do **5c**. Według Hernando i in. (2007), kategorie toksyczności wobec *A. fischeri* to [256]:

- "bardzo toksyczne dla organizmów wodnych",  $EC_{50} < 1$  mg/L),
- "toksyczne",  $EC_{50} = 1-10$  mg/L,
- "szkodliwe",  $EC_{50} = 10-100$  mg/L,
- "nieszkodliwe",  $EC_{50} < 10-100$  mg/L.

W takim ujęciu żaden z aminofosfonianów **5 a-i** nie może być uznany za toksyczny dla *A. fischeri*. Jednakże, jeśli herbicyd zostanie uwolniony do środowiska w wysokich stężeniach, może wpływać na ekosystemy wodne, w których występują te bakterie, i może mieć pośredni wpływ na ich populacje i funkcjonowanie. Niektóre herbicydy mogą wykazywać selektywność w działaniu na rośliny i nie wywierać bezpośredniego wpływu na bakterie *A. fischeri*. Zauważono, że aminofosfoniany posiadające grupę metylową lub metoksyłową w pierścieniu benzenowym w pozycji *orto*: **5a (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)** i **5d (2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, cechowały się mniejszą toksycznością wobec bakterii, niż aminofosfoniany z tymi grupami w pierścieniu benzenowym w pozycji *meta* i *para* (**5b, 5c, 5e, 5f**). Jest to odmienny wpływ niż ten, jaki zaobserwowano wobec roślin, u których związek **5a (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, był jednym z najbardziej toksycznych. Odmienny jest również sposób działania tych substancji, w zależności, czy są to aminofosfoniany z ugrupowaniem

metylofenylowym, czy metoksyfenylowym. W przypadku roślin, połączenia z ugrupowaniem metoksyfenylowym (**5 d-f**) miały łagodniejszy wpływ, niż z metylofenylowym (**5 a-c**), natomiast dla *A. fischeri*, toksyczność ta jest odwrotna. Podobnie, w przypadku aminofosfonianu **5i (Ph<sub>2</sub>CH)**, toksyczność wobec roślin była umiarkowana, natomiast wobec badanych bakterii wykazywała największą toksyczność, spośród wszystkich badanych aminofosfonianów.

Te same aminofosfoniany (jak również inne związki chemiczne), mogą mieć różny wpływ na mikroorganizmy, w porównaniu do roślin, ze względu na różnice w ich strukturze, metabolizmie i mechanizmach działania. Bakterie i rośliny mają różne struktury komórkowe i skład chemiczny. Są jednokomórkowymi organizmami prokariotycznymi, podczas gdy rośliny są wielokomórkowymi organizmami eukariotycznymi. Różnice w budowie komórki i obecność specyficznych struktur, takich jak ściana komórkowa i organella, mogą wpływać na sposób oddziaływania substancji chemicznych. Różnią się również metabolizmem. Bakterie wykazują zdolność do szybkiego przystosowywania się do zmieniających się warunków środowiskowych, a także często wykazują wysoką tolerancję na ksenobiotyki [257, 258]. Natomiast rośliny cechują się bardziej złożonym metabolizmem, obejmującym takie procesy takie jak: fotosynteza, synteza związków organicznych, czy oddychanie, czego efektem jest inna od bakterii reakcja roślin na substancje chemiczne. Również mechanizmy działania tych dwóch grup na daną substancję mogą być inne. Środki ochrony roślin mogą wpływać na fotosyntezę, syntezę białek, rozwój korzeni lub inne procesy specyficzne dla roślin, natomiast u bakterii, mogą wpływać na enzymy, procesy metaboliczne lub struktury komórkowe, które są charakterystyczne dla bakterii. Dlatego też, badanie wpływu substancji chemicznych powinno uwzględniać specyficzne cechy i potrzeby zarówno bakterii, jak i roślin [259].

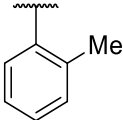
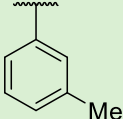
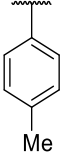
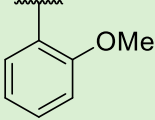
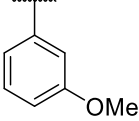
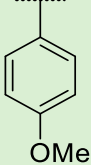
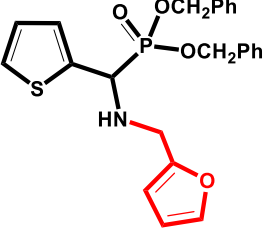
**Tabela 12.** Wartości EC<sub>50</sub> (mg/kg s.m.g.) po ekspozycji luminescencyjnych bakterii morskich *A. fischeri* na aminofosfoniany dimetylowe **5 a-i**.

Związek	R <sup>1</sup>	EC <sub>50</sub> (dolna granica; górną granica [mg/L])	EC <sub>50</sub> (dolna granica; górną granica [mg/kg s.m.g])	Współczynnik determinacji (R <sup>2</sup> )
<b>5a</b> ( <b>2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b> )		1345 (1169; 1546)	1775.4 (1543.1; 2040.7)	0.888
<b>5b</b> ( <b>3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b> )		399.4 (334.1; 477.5)	527.2 (441.0; 630.3)	0.962
<b>5c</b> ( <b>4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b> )		651.5 (542.1; 783.1)	859.9 (715.8; 1033.7)	0.947
<b>5d</b> ( <b>2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b> )		1085 (1009; 1166)	1432.2 (1331.9; 1539.12)	0.9937
<b>5e</b> ( <b>3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b> )		420 (317.0; 556.5)	554.4 (418.4; 734.6)	0.905
<b>5f</b> ( <b>4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b> )		308.4 (211.7; 449.4)	407.1 (279.4; 593.2)	0.839
<b>5g</b> ( <b>PhCH<sub>2</sub></b> )		349.9 (328,2; 373,2)	461.9 (433.2; 492.6)	0.994
<b>5h</b> ( <b>CMe<sub>3</sub></b> )		747.5 (665.5; 839.6)	986.7 (878.5; 1108.3)	0.984
<b>5i</b> ( <b>Ph<sub>2</sub>CH</b> )		222.6 (174.1; 283.7)	293.8 (229.8; 374.5)	0.927

#### 4.4.1.2. Aminofosfoniany difenyłowe **6 a-f** i aminofosfonian dibenzylowy **7**

Wyniki oceny toksyczności z wykorzystaniem bakterii *A. fischeri*, jako badanych organizmów wykazały zróżnicowane działanie badanych związków **6 a-f** i **7** na organizmy testowe. Porównując wartości  $EC_{50}$  (Tab. 13), stwierdzono, że aminofosfoniany posiadające grupę metylofenylową **6 a-c**, okazały się mniej szkodliwe dla bakterii, niż aminofosfoniany z grupą metoksyfenylową **6 d-f** (podobnie jak w przypadku aminofosfonianów dimetylowych). Spośród pochodnych **6 a-c**, najmniej szkodliwy dla bakterii okazał się związek **6c** (**4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), następnie **6b** (**3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), a największą toksyczność wykazał związek **6a** (**2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**). Z kolei w grupie pochodnych **6 d-f**, najmniejszy wpływ na bakterie *A. fischeri*, posiadała pochodna **6f** (**4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), większy - **6e** (**3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), a najsilniejszy- **6d** (**2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**). Różnice w działaniu zaobserwowano również porównując pozycję grupy metylowej bądź metoksylowej w pierścieniu benzenowym. Tendencja toksyczności wobec bakterii była następująca: *orto* > *meta* > *para*, co było podobne do działania tych związków na rośliny. Działanie aminofosfonianu **7** (**FurCH<sub>2</sub>**) było zbliżone do wpływu substancji **6f** na mikroorganizmy testowe. Biorąc pod uwagę kategorie toksyczności opisywane według Hernando i in. (2007), aminofosfoniany **6 a-c**, **6 e-f** oraz **7**, uznano za nieszkodliwe [256]. Jedynie substancja **6d** (**2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**) wykazała "szkodliwość" dla *A. fischeri* ( $EC_{50}$  =105,8 mg/L).

**Tabela 13.** Wartości EC<sub>50</sub> (mg/kg s.m.g.) po ekspozycji luminescencyjnych bakterii morskich *A. fischeri* na aminofosfoniany difenyłowe **6a-f** i aminofosfonian dibenzylowy **7**.

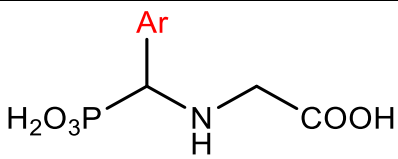
Związek	R <sup>1</sup>	EC <sub>50</sub> (dolna granica; górna granica [mg/L])	EC <sub>50</sub> (dolna granica; górna granica [mg/kg s.m.g])	Współczynnik determinacji (R <sup>2</sup> )
<b>6a</b> <b>6 (2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)</b>		410.3 (356.1;472.7)	541.6 (470;623.9)	0.9746
<b>6b</b> <b>6 (3-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)</b>		422.5 (365.9;487.9)	557.7 (219.6;644)	0.9750
<b>6c</b> <b>6 (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)</b>		1201 (1065;1354)	1585.3 (1405.8;1787.3)	0.0979
<b>6d</b> <b>6 (2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)</b>		105.8 (69.99;159.9)	139.6 (92.4;211.1)	0.8167
<b>6e</b> <b>6 (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)</b>		232.9 (182.7;296.9)	307.4 (241.2;391.9)	0.9290
<b>6f</b> <b>6 (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)</b>		538.9 (483.7;600.6)	710.9 (638.5;792.7)	0.9836
<b>7</b> <b>7 (FurCH<sub>2</sub>)</b>		541.3 (446.9; 655.1)	714.5 (589.9; 864.7)	0.9468

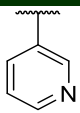
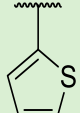
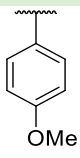
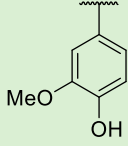
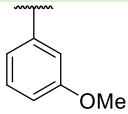
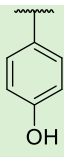
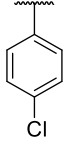
#### 4.4.1.3. N-fosfonometylo pochodne glicyny **16 a-g**, **17**

Wartości EC<sub>50</sub> dla aminofosfonianów **16 a-g** i **17** przedstawiono w tab. 14. Wyniki oceny toksyczności wobec bakterii *A. fischeri* wykazały zróżnicowany wpływ badanych układów **16 a-g** i **17** na te mikroorganizmy. Wartości EC<sub>50</sub> znajdowały się w z zakresie od 298 dla związku **16b (2-Tienyl)** do 3985 mg/kg s.m.g dla **16g (4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, a także 5050 mg/kg s.m.g dla czystego glifosatu.

Bonnet i in. (2007), wykazali, że wartość EC<sub>50</sub> dla samego glifosatu, mierzona w różnych warunkach przez system Microtox, przy użyciu *A. fischeri* po 15 min kontaktu wynosiła 18,23 mg/L [260]. Wyniki te były podobne do wartości uzyskanej przez Tsui i Chu (EC<sub>50</sub> = 17,5 mg/L) [140]. Również Hernando i in. (2007), podali, że w badaniach z *A. fischeri* przeprowadzonych na systemie BioFix® Lumi wartość EC<sub>50</sub> wyniosła 43,8 mg/L po 15 min kontaktu [256]. Podobnie, ocena przeprowadzona dla głównego metabolitu glifosatu - kwasu aminometylofosfonowego wykazała toksyczność wobec *A. fischeri* na poziomie EC<sub>50</sub> = 53,43 mg/L [260]. Biorąc to pod uwagę, stwierdzono, że uzyskana w toku badań wartość EC<sub>50</sub> = 3826 mg/L dla glifosatu, stosując test fazy stałej Microtox® (MSPT) nie była odpowiednią procedurą dla tej substancji, ze względu na jej stosunkowo dobrą rozpuszczalność w wodzie (w przeciwieństwie do związków **16 a-g**, które są praktycznie nierozpuszczalne). Jednakże, gdy toksyczność czystego glifosatu została określona przy użyciu standardowego testu fazy ciekłej analizatora Microtox® M500, stwierdzono, że wynosi ona 42,64 mg/L zgodnie z wcześniej opublikowanymi danymi literaturowymi [256]. Na podstawie testu Microtox wszystkie badane związki **16 a-g** zostały sklasyfikowane, jako nieszkodliwe dla bakterii luminescencyjnych *A. fischeri*. Na uwagę zasługuje działanie pochodnej **16g (4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, nietoksycznej wobec bakterii, a wykazującej potencjalne działanie herbicydowe wobec niektórych chwastów. Wpływ działania aminofosfonianów **5 a-i**, **6 a-f**, **7**, **16 a-g** i **17** na bakterie *A. fischeri* opisano w publikacjach Rogacz i in. (2018, 2019, 2020) [152, 157, 181].

**Tabela 14.** Wartości EC<sub>50</sub> (mg/kg s.m.g.) po ekspozycji luminescencyjnych bakterii morskich *A. fischeri* na pochodne N-[arylo(fosfono)metylo]glicyny **16a-g** oraz komercyjny glifosat **17**.



Związek	R <sup>1</sup>	EC <sub>50</sub> (dolna granica; górna granica [mg/L])	EC <sub>50</sub> (dolna granica; górna granica [mg/kg s.m.g])	Współczynnik determinacji (R <sup>2</sup> )
<b>16a</b> ( <b>3-Py</b> )		1741 (1077;2816)	2298.1 (1421.6;3717.1)	0.8749
<b>16b</b> ( <b>2-Tienyl</b> )		225.4 (166.4;305.4)	297.5 (219.6;403.1)	0.9851
<b>16c</b> ( <b>4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b> )		1748 (1073;2845)	2307.3 (1416.3;3755.4)	0.8240
<b>16d</b> ( <b>4-OH-3-MeO-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub></b> )		1117 (850.5;1468)	1474.4 (1122.7;1937.8)	0.9461
<b>16e</b> ( <b>3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b> )		460.7 (394;538.7)	608.1 (520;711)	0.9799
<b>16f</b> ( <b>4-OHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b> )		329.6 (267.6;405.9)	435.1 (353.2;535.8)	0.9572
<b>16g</b> ( <b>4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b> )		3019 (2255;4044)	3985 (2976.6;5257.2)	0.9625
<b>17</b> ( <b>glifosat</b> )	H	3826 (2271;5380)	5050.3 (2997.7;7101.6)	0.9333
	H	42.64* (37.32; 48.71)	56.28 (49.26; 64.30)	0.9930

\* test fazy ciekłej



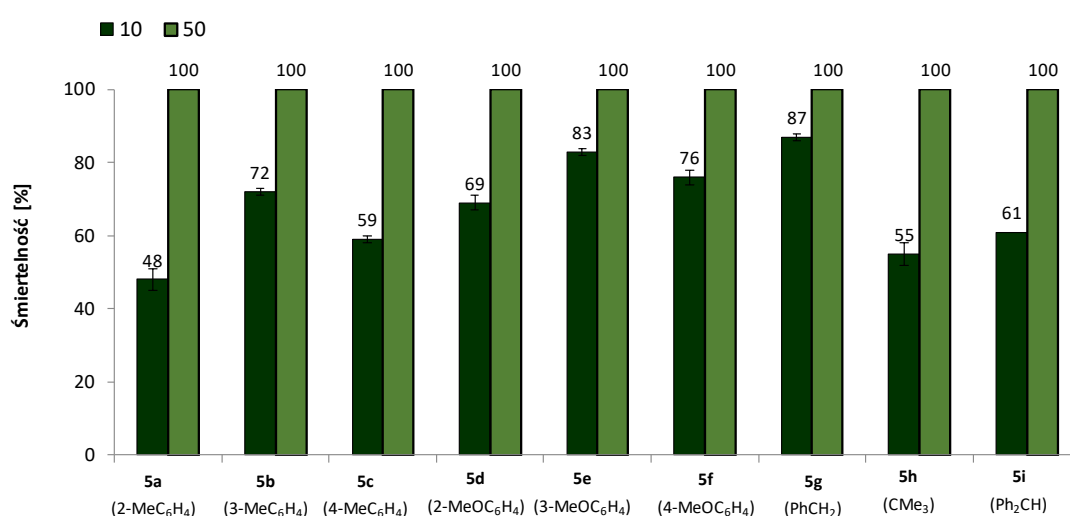
#### 4.4.2. Oznaczanie toksyczności chronicznej – Ostracodotxkit F

Badanie osadów dennych ma duże znaczenie dla oceny stanu ekosystemów wodnych. Przez analizę składu chemicznego osadów można identyfikować substancje zanieczyszczające i monitorować ich stężenia. Skład gatunkowy bentosu pozwala ocenić wpływ substancji chemicznych na populacje bezkręgowców, które są istotnym elementem ekosystemu. Obecność substancji chemicznych w osadach może mieć negatywne skutki dla ekosystemu, prowadząc do selekcji gatunkowej i zakłóceń w procesach biologicznych. Wyeliminowanie populacji bentosu może mieć efekty uboczne na inne składniki ekosystemu, wpływając na przepływ energii, produktywność i biodegradację [3]. Żyjące w osadzie dennym, skorupiaki *H. incongruens* to gatunek małżoraczka, który jest często wykorzystywany, jako organizm wskaźnikowy w badaniach toksykologicznych i ekologicznych [261]. Substancje chemiczne, po dotarciu do rzek i jezior mogą mieć różny wpływ na ten gatunek, w zależności od rodzaju substancji, jej stężenia oraz czasu ekspozycji. Skorupiaki mogą wykazywać zmiany w ich zachowaniu, rozwoju, reprodukcji i przeżyciu. Niektóre substancje chemiczne mogą być toksyczne dla *H. incongruens* w sposób bezpośredni, powodując śmierć lub zmniejszając przeżywalność organizmów. Natomiast inne substancje chemiczne, poprzez ciągły wpływ, mogą rzutować na rozwój skorupiaków, prowadząc do deformacji, opóźnień w rozwoju lub zmniejszenia wielkości organizmów [262]. Możliwy jest również wpływ na zdolność rozrodczą tych słodkowodnych skorupiaków, zmniejszając liczbę lub jakość produkowanych jaj, a także wpływając na rozwój embrionów. Pod wpływem działania różnych substancji, obserwowano u tych skorupiaków również zaburzenia behawioralne – zmiany w ich aktywności, położeniu, reakcjach na bodźce zewnętrzne lub kierunku ruchu. Wpływ substancji chemicznych na *H. incongruens* może być również zależny od warunków środowiskowych, takich jak temperatura, pH, dostępność pokarmu i innych czynników [263].

##### 4.4.2.1. Aminofosfoniany dimetylowe 5 a-i

Ocena toksyczności aminofosfonianów dimetylowych **5 a-i** wobec skorupiaków *H. incongruens* wykazała, że wszystkie testowane związki były bardzo toksyczne dla tego rodzaju organizmów. Biorąc pod uwagę wzrastające stężenie aminofosfonianów i całkowitą śmiertelność *H. incongruens*, przy stężeniu 50 mg/kg s.m.g, na wykresie przedstawiono jedynie wyniki dla dwóch stężeń: 10 oraz 50 mg/kg s.m.g. (Rys. 43). Przy najniższym

zastosowanym stężeniu (10 mg/kg s.m.g.), śmiertelność skorupiaków wynosiła od 48 do 87%. Pochodne z ugrupowaniem metylofenylowym **5 a-c** były mniej toksyczne niż aminofosfoniany z grupą metoksyfenylową **5 d-f**. Toksyczność ze względu na pozycję podstawienia grupy metylowej lub metoksylowej w pierścieniu benzenowym, począwszy od najmniejszej toksyczności związków **5 a-f**, była następująca: *meta* > *para* > *orto*. Spośród związków **5 g-i**, najbardziej toksyczny okazał się **5g (PhCH<sub>2</sub>)**, a jego działanie było zbliżone do **5e (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**. Z kolei wpływ aminofosfonianów **5h (CMe<sub>3</sub>)** oraz **5i (Ph<sub>2</sub>CH)** na skorupiaci, podobny był do tego, jaki prezentował związek **5c (4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**.



**Rysunek 43.** Śmiertelność (%) skorupiaków *H. incongruens*, eksponowanych na aminofosfoniany **5 a-i** w stężeniach: 10, 50 mg/kg suchej masy gleby.

Wartości EC<sub>50</sub>, obliczone w oparciu o ogólną śmiertelność skorupiaków, oceniono zgodnie z klasyfikacją toksyczności opisaną przez Hernando i in. (2007) jako [256]:

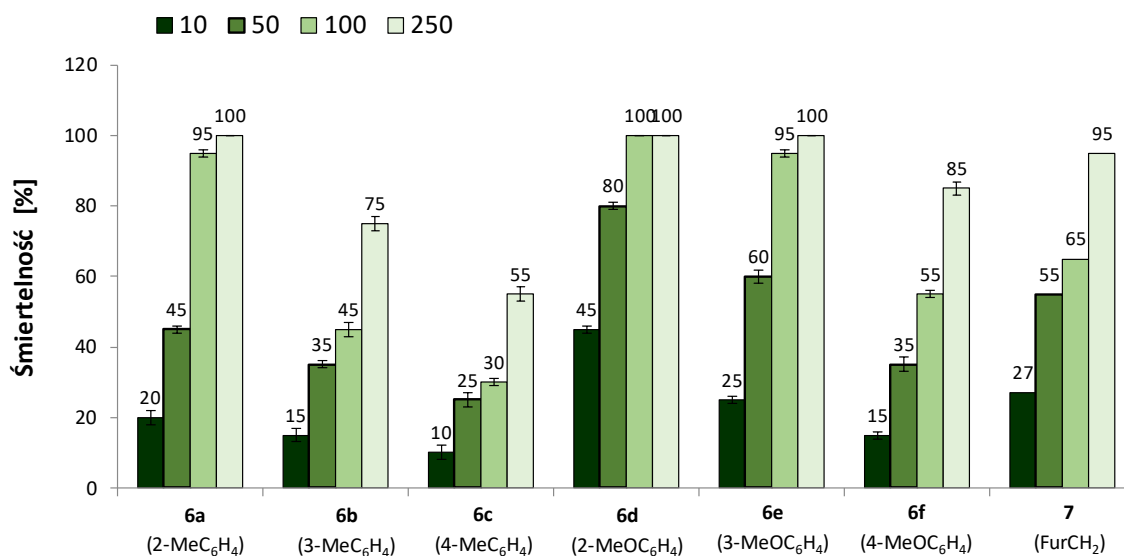
- **5a (2- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, EC<sub>50</sub> = 19.2 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **5b (3- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, EC<sub>50</sub> = 17.1 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **5c (4- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, EC<sub>50</sub> = 18.0 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **5d (2- MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, EC<sub>50</sub> = 17.9 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **5e (3- MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, EC<sub>50</sub> = 16.1 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **5f (4- MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, EC<sub>50</sub> = 17.4 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **5g (PhCH<sub>2</sub>)**, EC<sub>50</sub> = 15.7 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **5h (CMe<sub>3</sub>)**, EC<sub>50</sub> = 19.0 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **5i (Ph<sub>2</sub>CH)**, EC<sub>50</sub> = 18.2 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe".

Obok śmiertelności, drugim kryterium toksycznego działania, wskazanym przez mikrobiotest Ostracodtoxkit F™ było zahamowanie wzrostu (GI%). Kryterium to, pozwala na ocenę subletalnej toksyczności osadów. Zahamowanie wzrostu określane jest poprzez porównanie wielkości żywych skorupiaków, obecnych badanym osadzie z wielkością tych, które żyją w osadzie referencyjnym. Zgodnie z instrukcją testu Ostracodtoxkit™ zahamowanie wzrostu powinno być określane tylko dla osadów, w których śmiertelność skorupiaków jest mniejsza niż 30%, w związku z tym nie mierzono tego parametru w przypadku związków **5 a-i**.

#### 4.4.2.2. Aminofosfoniany difenylowe **6 a-f** i aminofosfonian dibenzylowy **7**

Ocena śmiertelności i inhibicji wzrostu skorupiaków *H. incongruens*, w teście Ostracodtoxkit F, wykazała, że działanie badanych substancji było różne, w zależności od ich stężenia i struktury chemicznej (Rys. 44). Wpływ badanych pochodnych aminofosfonowych na skorupiaki określono w oparciu o następujące stężenia substancji: 10, 50, 100 i 250 mg/kg s.m.g. Zgodnie z oczekiwaniami, wyższe stężenie substancji w próbkach gleby, powodowało większą śmiertelność skorupiaków.

Aminofosfoniany z grupą metylofenylową **6 a-c**, już przy najniższym zastosowanym stężeniu (10 mg/kg s.m.g.), spowodowały śmiertelność skorupiaków w zakresie od 10-20%, przy czym najmniej toksyczny okazał się związek **6c** (**4- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**), następnie **6b** (**3- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**) oraz **6a** (**2- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**). Z kolei związki z grupą metoksyfenylową **6 d-f**, przy stężeniu (10 mg/kg s.m.g.), spowodowały większą śmiertelność skorupiaków, rzędu 15- 45%, zachowując taką samą tendencję toksyczności, zależną od miejsca podstawienia jak w przypadku substancji **6 a-c**. Wrażliwość *H. incongruens*, na działanie najniższego stężenia substancji **7** (**FurCH<sub>2</sub>**), była zbliżona do wpływu aminofosfonianu **6e** (**3- MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**).



**Rysunek 44.** Śmiertelność (%) skorupiaków *H. incongruens*, eksponowanych na aminofosfoniany **6 a-f** oraz **7** w stężeniach: 10, 50, 100, 250 mg/kg suchej masy gleby.

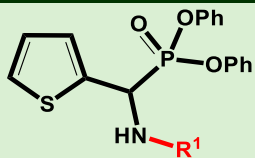
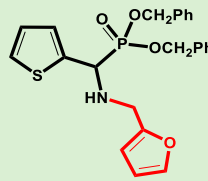
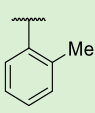
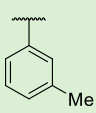
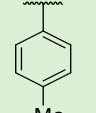
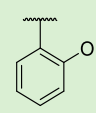
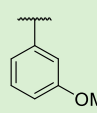
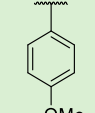
Wartości  $EC_{50}$ , obliczone na podstawie ogólnej śmiertelności skorupiaków poddano ocenie toksyczności, na podstawie klasyfikacji opisanej przez Hernando i in. (2007) [256]:

- **6a** (2- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>),  $EC_{50}$  = 58.5 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **6b** (3- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>),  $EC_{50}$  = 1408.5 mg/kg s.m.g. - "niezgodliwe",
- **6c** (4- MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>),  $EC_{50}$  = 1105.3 mg/kg s.m.g. - "niezgodliwe",
- **6d** (2- MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>),  $EC_{50}$  = 47.5 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **6e** (3- MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>),  $EC_{50}$  = 51.7 mg/kg s.m.g. - "szkodliwe",
- **6f** (4- MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>),  $EC_{50}$  = 132.3 mg/kg s.m.g. - "niezgodliwe",
- **7** (FurCH<sub>2</sub>),  $EC_{50}$  = 973.4 mg/kg s.m.g. - "niezgodliwe".

Biorąc pod uwagę zahamowanie wzrostu skorupiaków i wskazanie pomiarów jedynie w przypadku, gdy śmiertelność organizmów nie przekracza 30%, określono ten parametr tylko dla niektórych związków i stężeń (Tab. 15). Zgodnie z oczekiwaniami, im wyższe było stężenie badanego związku w glebie, tym większe było zahamowanie wzrostu organizmów. Stwierdzono również, oba parametry: śmiertelność i zahamowanie wzrostu w danej próbce, były ze sobą w silnej korelacji. Biorąc pod uwagę hamowanie wzrostu *H. incongruens* na skutek działania pochodnych **6 a-c**, najmniejszą wrażliwość na badany związek wykazały one w przypadku aminofosfonianu z podstawnikiem 4-metylofenylowym (**6c**), następnie 3- metylofenylowym (**6b**), a największą na związek z podstawnikiem 2- metylofenylowym (**6a**). Silniejszy wpływ na ten parametr wykazały substancje **6 d-f**, spośród których najmniej hamujące działanie prezentował związek **6f** (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), a następnie **6e** (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>).

Pochodna **7** (**FurCH<sub>2</sub>**), pod względem hamowania wzrostu małżoraczek, przy stężeniu 10 mg/kg s.m.g., była podobna do **6a**. Uzyskane wyniki wskazują, że im wyższe było stężenie danej substancji, tym większy był wpływ badanych pochodnych na wzrost skorupiaków.

**Tabela 15.** Zahamowanie wzrostu (GI%) skorupiaków *H. incongruens* żyjących w osadzie z dodatkiem aminofosfonianów **6 a-f** i **7**, w stężeniach: 10, 50, 100 i 250 mg/kg suchej masy gleby. SD oznacza odchylenie standardowe (SD, n=6 oznaczeń). NM oznacza „nie mierzalny”.

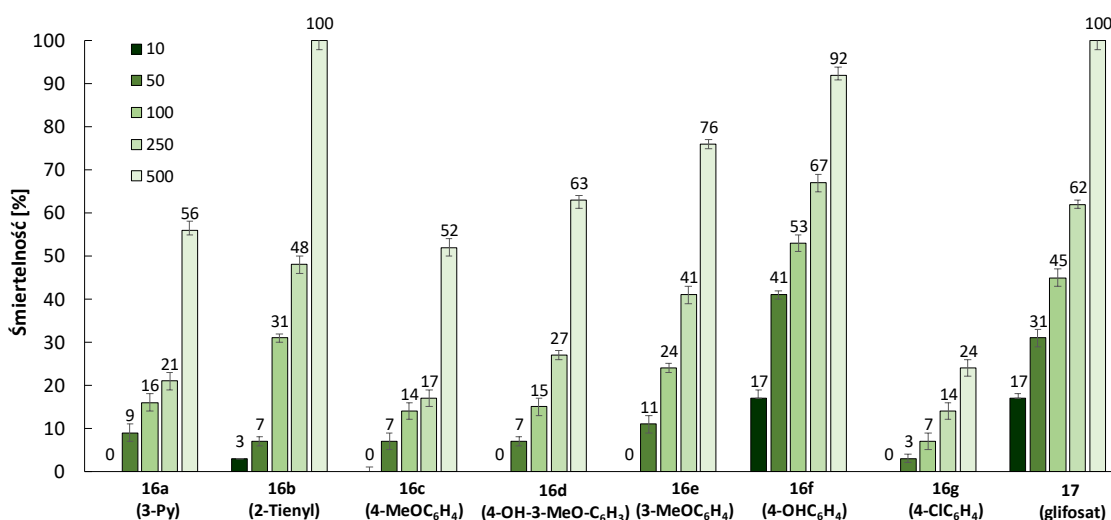
Stężenie substancji [mg/kg s.d.w.]	Zahamowanie wzrostu skorupiaków [%]						
							
	6a	6b	6c	6d	6e	6f	7
	(2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	(FurCH <sub>2</sub> )
							
10	11±2	9±1	4±1	NM	12±1	6±1	10±1
50	NM	NM	14±1	NM	NM	NM	NM
100	NM	NM	26±2	NM	NM	NM	NM
250	NM	NM	NM	NM	NM	NM	NM

#### 4.4.2.3. N-fosfonometylopochodne glicyny **16 a-g** i **17**

Ocena śmiertelności *H. incongruens* po ekspozycji na związki **16 a-g** i **17** wykazała, że działanie badanych substancji zależało od ich stężenia i struktury - im wyższe było stężenie, tym większa była śmiertelność skorupiaków (Rys. 45). Wpływ badanych pochodnych aminofosfonowych na skorupiaci określono w następujących stężeniach: 10, 50, 100, 250 i 500 mg/kg s.m.g. Porównując wpływ pochodnych **16 a-g** i glifosatu **17** na śmiertelność *H. incongruens*, należy zauważyć, że pochodne aminofosfonowe **16 a-g** wykazywały znacznie mniejszą toksyczność (lub porównywalną) do komercyjnego glifosatu. Najniższe zastosowane stężenie glifosatu **17** (10 mg/kg) spowodowało 17% śmiertelność skorupiaków, natomiast związki **16a**, **16 c-e** i **16g**, przy takim samym stężeniu, nie miały wpływu na badane organizmy. Wyższe stężenie fosfonoamino pochodnych - 50 mg/kg s.m.g., spowodowało śmiertelność w zakresie od 3% dla **16g** (**4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**) do 41% dla **16f** (**4-OHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>**).

Na podstawie klasyfikacji toksyczności organizmów wodnych, podanej przez Hernando i in. (2007), dokonano oceny układów **16 a-g** oraz **17** pod względem ich wartości  $EC_{50}$ , obliczonych w oparciu o ogólną śmiertelność skorupiaków [256]:

- **16a (3-Py)**,  $EC_{50} = 5160.1$  mg/kg s.m.g. - "nieszkodliwe",
- **16b (2-Tienyl)**,  $EC_{50} = 2029.5$  mg/kg s.m.g. - "nieszkodliwe",
- **16c (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**,  $EC_{50} = 5035.9$  mg/kg s.m.g. - "nieszkodliwe",
- **16d (4-OH-3-MeO-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>)**,  $EC_{50} = 4350.7$  mg/kg s.m.g. - "nieszkodliwe",
- **16e (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**,  $EC_{50} = 4171.5$  mg/kg s.m.g. - "nieszkodliwe",
- **16f (4-OHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**,  $EC_{50} = 1812.5$  mg/kg s.m.g. - "nieszkodliwe",
- **16g (4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**,  $EC_{50} = 5952.9$  mg/kg s.m.g. - "nieszkodliwe",
- **17**,  $EC_{50} = 1712.4$  mg/kg s.m.g. - "nieszkodliwe".

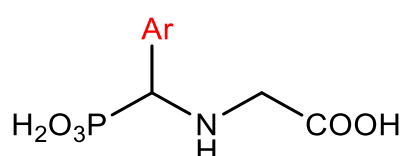


**Rysunek 45.** Śmiertelność (%) skorupiaków *H. incongruens*, eksponowanych na aminofosfony **16 a-g**, i **17** w stężeniach: 10, 50, 100, 250 i 500 mg/kg suchej masy gleby.

Biorąc pod uwagę drugi czynnik, charakteryzujący działanie toksyczne wskazane przez mikrobiotest Ostracodtoxkit, zahamowanie wzrostu organizmów było tym wyższe, im wyższe było stężenie badanego związku (Tab. 16). W stężeniu 10 mg/kg s.m.g., GI% wahało się od 3 do 6% dla związków **16 a-g**. Najmniejszy wpływ na wielkość skorupiaków odnotowano w przypadku związku **16g (4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**. Glifosat w stężeniu 10 mg/kg powodował 16% zahamowanie wzrostu *H. incongruens*, a dalszej inhibicji nie mierzono, ze względu na śmiertelność przekraczającą 30%. Tendencja zmian śmiertelności skorupiaków była podobna do zmian toksyczności, jaką zaobserwowano u bakterii *A. fischeri*. W obu

przypadkach najbardziej toksyczne okazały się pochodne **16b** (2-Tienyl) i **16f** (4-OHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), następnie **16e** (3-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), **16d** (4-OH-3-MeO-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>), **16a** (3-Py) i **16c** (4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), natomiast najmniej toksyczny był związek **16g** (4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Wartość toksycznego oddziaływania glifosatu **17** na *H. incongruens* była porównywalna z toksycznością **16f** (4-OHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>).

**Tabela 16.** Zahamowanie wzrostu (%) skorupiaków *H. incongruens* żyjących w glebie zanieczyszczonej związkami 16 a-g i 17, w stężeniach: 10, 50, 100 i 250 mg/kg suchej masy gleby. SD oznacza odchylenie standardowe (SD, n=6 oznaczeń). NM oznacza „nie mierzalny”.



Stężenie substancji [mg/kg s.d.w.]	Inhibicja wzrostu [%]							
	16a (3-Py)	16b (2-Tienyl)	16c (4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	16d (4-OH-3-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> )	16e (3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	16f (4-OHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	16g (4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	17 (glifosat)
								H
10	0	0	0	0	0	0	0	0
50	3±1	9±1	6±1	3±2	4±1	6±1	3±1	16±3
100	7±2	26±2	8±1	8±1	11±2	NM	4±2	NM
250	9±2	NM	10±2	11±2	23±2	NM	6±1	NM

Porównując wpływ badanych aminofosfonianów na skorupiaki, stwierdzono, że najbardziej toksyczne dla tej grupy organizmów były aminofosfoniany dimetylowe **5 a-i**, a w następnej kolejności pochodne difenylowe **6 a-f**. Małżorzeczki *H. incongruens* nie były wrażliwe zarówno na pochodną dibenzylową **7**, jak i na glifosatowe pochodne **16 a-g**. Reakcja skorupiaków znacznie różniła się od tej, jaką wykazały bakterie *A. fischeri*. Mikroorganizmy, nie wykazały szkodliwego wpływu na aminofosfoniany. Jedynym wyjątkiem jest difenylowa pochodna z podstawnikiem 2-metylofenylowym **6d**. Porównując działanie grupy metylofenylowej oraz metoksyfenylowej, bakterie i skorupiaki, wykazały większą wrażliwość wobec grupy metoksyfenylowej. W obu grupach organizmów, wpływ

pozycji grupy metylowej i metoksylowej w pierścieniu benzenowym aminofosfonianów dimetylowych (**5 a-i**) układał się następująco *meta* > *para* > *orto*. Natomiast dla pochodnych difenylowych (**6 a-f**) najbardziej toksyczna było umiejscowienie podstawnika w pozycji *orto*, następnie *meta*, a najmniej *para*.

Badania sugerują, że niektóre związki zawierające grupę metoksyfenylową mogą mieć potencjalne działanie rakotwórcze lub mutagenne. Jednym z przykładów jest 2- metoksyfenol, który jest metabolitem niektórych fenolowych związków aromatycznych. Wykazuje on zdolność do indukowania uszkodzeń DNA i mutacji w badaniach *in vitro*. Warto zaznaczyć, że wpływ grupy metoksyfenylowej, a także miejsca podstawienia *orto*-, *meta*- i *para*-, na skorupiaki może zależeć od wielu czynników, takich jak dawkowanie, czas ekspozycji, rodzaj substancji i indywidualne różnice genetyczne. Również istotnym aspektem jest całe środowisko, w którym występują te związki, a nie tylko pojedynczy czynnik chemiczny [264, 265].



# **PODSUMOWANIE I WNIOSKI**



Analizując wyniki uzyskane w badaniach, niezależnie od rodzaju aminofosfonianu użytego w eksperymencie, zaobserwowano, że głównym czynnikiem determinującym ekotoksyczność badanych związków jest ich stężenie w glebie. Reakcje roślin w poszczególnych testach cechowały pewne podobieństwa, a charakter zachodzących zmian miał zbliżony przebieg. Zmiany te, wraz z oceną właściwości fitotoksycznych i ekotoksycznych każdego aminofosfonianu, umieszczono w tab. 17.

Porównując wpływ wszystkich trzech grup związków (**5 a-i**, **6 a-f**, **7**, **16 a-g**) na wysokość pędu, długość korzeni i świeżą masę badanych roślin, najbardziej toksyczne działanie wobec obu rodzajów roślin wykazały aminofosfoniany dimetylowe **5 a-i**. Pochodne difenyłowe **6 a-f**, glifosatowe **16 a-g**, i dibenzylowa pochodna **7**, wykazały większą selektywność wobec roślin i były bardziej toksyczne wobec dwuliściennej rzodkiewki. Przekładało się to na procentowe zahamowanie wzrostu poszczególnych parametrów: świeżej masy, wysokości pędów oraz długości korzeni, które zawsze były najbardziej wrażliwe na działanie badanych związków. Rzodkiewka była również bardziej podatna na wzrost procentowego udziału suchej masy, co było odpowiedzią na wzrastające stężenia zastosowanych w glebie związków **5 a-i**, **6 a-f**, **7**, **16 a-g** oraz **17**. W przypadku owsa, procentowy udział suchej masy, na skutek działania aminofosfonianów **5 a-i**, **6 a-f** oraz **7**, był równy próbie kontrolnej lub nieznacznie obniżony w porównaniu do niej. Rosnące stężenia pochodnych aminofosfonowych w glebie, wpływały na kiełkowanie roślin, co było bardziej widoczne wobec rzodkiewki. Również biorąc pod uwagę wpływ związków **5 a-i**, **6 a-f**, **7**, **16 a-g** oraz **17** na barwniki asymilacyjne w jej przypadku był bardziej wyraźny, powodując obniżenie poziomu chlorofilu całkowitego i wzrost zawartości karotenoidów w zielonych częściach roślin. Również wartości NOEC i LOEC dla badanych aminofosfonianów były niższe w przypadku rzodkiewki, co świadczy o większej wrażliwości tej rośliny na badane związki. Porównując wpływ grupy metylofenylowej i metoksyfenylowej w badanych aminofosfonianach, wobec obu roślin, stwierdzono, że pochodne dimetylowe **5 a-c**, oraz difenyłowe **6 a-c** z ugrupowaniem metylofenylowym, były bardziej toksyczne niż pochodne dimetylowe **5 d-f** i difenyłowe **6 d-f** z ugrupowaniem metoksyfenylowym.

Również miejsce przyłączenia tych podstawników miało wpływ na fitotoksyczność. W przypadku aminofosfonianów dimetylowych **5 a-c** wobec owsa i difenyłowych pochodnych **6 a-f** wobec obu badanych roślin, najbardziej toksyczny wpływ miały związki, w których grupa metylowa lub metoksylova w pierścieniu benzenowym, znajdowała się w pozycji *orto*, mniejszą toksyczność wykazały związki *meta* podstawione, a najmniejszą

z podstawieniem w pozycji *para*. Inną tendencję wykazały aminofosfoniany dimetylowych **5 a-c** wobec rzodkiewki. W tym przypadku najbardziej toksyczna była pochodna z ugrupowaniem 4-metylofenylowym, następnie 3-metylofenylowym, a najmniejszą fitotoksyczność wykazał związek z podstawieniem grupy metoksyfenylowej w pozycji *orto*.

Porównując działanie chwastobójcze związków **5 a-i, 6 a-f, 7, 16 a-g**, za najbardziej skuteczne można uznać pochodne dimetylowe **5 a-f**, oraz glifosatowe **16 a-g**. Wśród pochodnych dimetylowych, bardziej skuteczne okazały się związki z podstawnikiem metylofenylowym (**5 a-c**), niż z podstawnikiem metoksyfenylowym (**5 d-f**). Miejsce podstawienia również w tym przypadku generowało następującą tendencję toksyczności: *orto* > *meta* > *para*. Nieskuteczne jako herbicydy, okazały się difenyłowe pochodne **6 a-f**, oraz aminofosfonian dibenzyłowy **7**.

W przypadku wyników uzyskanych dla bakterii *A. fischeri* w teście Microtox, spośród wszystkich badanych substancji, jedynie difenyłowa pochodna **6d (2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, wykazała szkodliwy wpływ na mikroorganizmy testowe. Porównując jednak wartości EC<sub>50</sub> wszystkich aminofosfonianów, można stwierdzić odmienne działanie aminofosfonianów z ugrupowaniem metylo i metoksyfenylowym. O ile w przypadku roślin, bardziej toksyczne były związki z grupą metylofenylową (**5 a-c, 6 a-c**), tak w przypadku bakterii, większa toksyczność cechowała te, z grupą metoksyfenylową (**5 d-f, 6 d-f**). Tendencja toksyczności względem pozycji podstawienia, dla aminofosfonianów dimetylowych (**5 a-i**) była następująca: *meta* > *para* > *orto*, natomiast dla difenyłowych (**6 a-f**) przedstawiała się w taki sposób: *orto* > *meta* > *para*.

Śród związków **5 a-i, 6 a-f, 7** oraz **16 a-g**, skorupiaki *H. incongruens* wykazały największą wrażliwość na aminofosfoniany dimetylowe **5 a-i**. Nieco mniej toksyczne okazały się na niektóre pochodne difenyłowe **6 a-f**. Pochodna dibenzyłowa **7** oraz glifosatowe pochodne **16 a-g** nie wykazały toksyczności na badane organizmy. Porównując występowanie grupy metylofenylowej w związkach **5 a-c** oraz **6 a-c**, a także metoksyfenylowej w substancjach **5 d-f** i **6 d-f**, stwierdzono większą wrażliwość małżoraczków wobec grupy metoksyfenylowej, co było podobne do reakcji bakterii w teście Microtox. W przypadku *H. incongruens*, tendencja toksyczności względem miejsca podstawienia w pierścieniu benzenowym, dla aminofosfonianów dimetylowych (**5 a-i**) była taka sama jak wobec bakterii, natomiast dla difenyłowych przedstawiała się w następujący sposób: *orto* > *meta* > *para*.

Tabela 17. Ocena właściwości fitotoksycznych i ekotoksycznych aminofosfonianów 5 a-i, 6 a-f, 7, 16 a- g i 17.

Aminofosfonian:	Ocena fitotoksyczności						Ocena chwastobójcza			Biotesty	
	Na podstawie procentowego zahamowania [GI%]: < 10% „-” 10– 30% „+” 31– 50% „++” 51– 70% „+++” 71– 90% „++++” > 90% „+++++”						Na podstawie skali EWRC: Ocena 9 „-” Ocena 8,7 „+” Ocena 6 „++” Ocena 5 „+++” Ocena 4, 3 „++++” Ocena 1, 2 „+++++”			Na podstawie klasyfikacji wg Hernando: EC <sub>50</sub> >100 mg/L, nieszkodliwe „-” EC <sub>50</sub> = 10-100 mg/L, szkodliwe „+” EC <sub>50</sub> = 1-10 mg/L, toksyczne „++” EC <sub>50</sub> < 1 mg/L, bardzo toksyczne „+++”	
	Owies zwyczajny ( <i>A. sativa</i> )			Rzodkiewka zwyczajna ( <i>R. sativus</i> )			Żółtlica drobnokwiatowa ( <i>G. parviflora</i> )	Komosa biała ( <i>C. Album</i> )	Szczaw pospolity ( <i>R. acetosa</i> )	Microtox	Ostracodtoxkit F
	Świeża masa	Wysokość pędów	Długość korzeni	Świeża masa	Wysokość pędów	Długość korzeni				Bakterie <i>A. fischeri</i>	Skorupiaki <i>H. incongruens</i>
5a (2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	++	++	++	++++	++	++++	++++	++++	++++	-	+
5b (3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	+	+	++	++++	++	++++	+++	+++	++++	-	+
5c (4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	+	+	+	++	+	++	++	+	++	-	+
Toksyczność: <i>o-,m-,p-</i>	5a>5b>5c	5a>5b>5c	5a>5b>5c	5a>5b>5c	5a>5b>5c	5a>5b>5c	5a>5b>5c	5a>5b>5c	5a>5b>5c	5b>5c>5a	5b>5c>5a
5d (2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	+	+	+	+	+	++	-	-	-	+
5e (3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
5f (4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	+	+	++	++	+	++	-	-	-	-	+
Toksyczność: <i>o-,m-,p-</i>	5f>5e>5d	5f>5e>5d	5f>5e>5d	5f>5e>5d	5f>5e>5d	5f>5e>5d	5d>5e>5f	5d>5e>5f	5d>5e>5f	5f>5e>5d	5f>5e>5d
5g (PhCH <sub>2</sub> )	++	++	++	++++	++	++++	+	+	+	-	+
5h (CMe <sub>3</sub> )	++	+	++	++	+	++	-	-	-	-	+
5i (Ph <sub>2</sub> CH)	++	++	++	++++	+	++++	-	-	-	-	+

6a (2-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	-	+++	+++	+++	++++	-	-	-	-	+
6b (3-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	-	+++	++	+++	++++	-	-	-	-	-
6c (4-MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	-	++	++	-	++++	-	-	-	-	-
Toksyczność: <i>o-,m-,p-</i>	6a>6b>6c	6a>6b>6c	6a>6b>6c	6a>6b>6c	6a>6b>6c	6a>6b>6c	6a>6b>6c	6a>6b>6c	6a>6b>6c	6a>6b>6c	6a>6c>6b
6d (2-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	-	+++	+++	+++	++++	-	-	-	+	+
6e (3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	-	+	++	++	++	-	-	-	-	+
6f (4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	-	+	++	-	++	-	-	-	-	-
Toksyczność: <i>o-,m-,p-</i>	6d>6e>6f	6d>6e>6f	6d>6e>6f	6d>6e>6f	6d>6e>6f	6d>6e>6f	6d>6e>6f	6d>6e>6f	6d>6e>6f	6d>6e>6f	6d>6e>6f
7 (FurCH <sub>2</sub> )	-	-	++	++	+	++	-	-	-	-	-
16a (3-Py)	-	-	++	++	+	+++	+	-	+	-	-
16b (2-Tienyl)	-	-	++	++	+	+++	+++	-	+++	-	-
16c (4-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	-	++	+++	++	+++	+++	-	+++	-	-
16d (4-OH-3-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> )	-	-	++	++	+	+++	+++	-	+++	-	-
16e (3-MeOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	-	++	++	+	+++	+	-	-	-	-
16f (4-OHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	-	++	+++	++	+++	++	-	++	-	-
16g (4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	-	-	++	+++	++	+++	++++	-	++++	-	-
17 (H)	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	-	+++	+/-	-

## WNIOSKI:

Na podstawie wyników badań otrzymanych w trakcie realizacji rozprawy doktorskiej, sformułowano następujące wnioski:

- Zsyntezowano grupę dimetylowych i difenylowych pochodnych tiofeno-2-karboaldehydu, zawierających podstawniki metylo lub metoksyfenyłowe, w których grupy metylo i metoksylo były położone w pozycji *orto-*, *meta-* lub *para-* pierścienia benzenowego (**5 a-f**, **6 a-f**).
- Dodatkowo, dla porównania zsyntezowano również grupę dimetylowych pochodnych tiofeno-2-karboaldehydu, podstawionych grupami: benzyłową, *tert*-butylową oraz benzhydryłową (difenyłometyłową) (**5 g-i**), a także dibenzyłową pochodną z podstawnikiem furfurylowym (**7**).
- Spośród wszystkich badanych aminofosfonianów najbardziej szkodliwe wobec badanych roślin okazały się aminofosfoniany **5 a-i**. Stopień toksyczności wobec badanych parametrów roślin (świeżej masy, wysokości pędów oraz długości korzeni), w tej grupie aminofosfonianów zależny był od położenia grupy metylowej i metoksylowej w pierścieniu benzenowym w pozycji *orto-*, *meta-*, *para*. Przy czym, negatywny wpływ grup metylofenyłowych układał się w następujący sposób: *orto* > *meta* > *para*, a wobec metoksyfenyłowych odwrotnie: *para* > *meta* > *orto*. W przypadku grupy **5 g-i**, toksyczność związków **5g** oraz **5i** była zbliżona do toksyczności aminofosfonianów z ugrupowaniem metylofenyłowym, natomiast aminofosfonian **5h** wykazywał podobną fitotoksyczność do związku z ugrupowaniem metoksyfenyłowym – **5f**. Badania fitotoksyczności tej grupy związków, nie wykazały istotnej selektywności wobec roślin jedno i dwuliściennych.
- Pochodne difenyłowe **6 a-f**, wykazały selektywność wobec roślin, a bardziej wrażliwą na ich działanie, okazała się dwuliścienna rzodkiewka. W przypadku tej grupy aminofosfonianów, bez względu na rodzaj podstawnika w pierścieniu benzenowym, największą toksyczność wykazały związki w pozycji *orto-*, a najmniejszą w pozycji *meta-*.
- Pochodne aminofosfonowe **16 a-g**, wykazały selektywność wobec roślin i były bardziej toksyczne wobec dwuliściennej rzodkiewki, niż w przypadku jednoliściennego owsa.

- Tendencje zmian zawartości barwników asymilacyjnych w zielonych częściach badanych roślin, odpowiadały zmianom zawartości świeżej masy, długości korzenia i pędów, traktowanych badanymi aminofosfonianami. Rosnące stężenie badanych substancji w glebie, powodowało obniżenie zawartości chlorofilu i wzrost zawartości karotenoidów w zielonych częściach roślin.
- Wstępne badania zsyntezowanych aminofosfonianów pod kątem ich właściwości chwastobójczych, wykazały, że najbardziej skutecznymi, jako potencjalne herbicydy, mogą być aminofosfoniany dimetylowe **5 a–f** oraz pochodne *N*- fosfonometyloglicyny **16 a–g**.
- W oparciu o skalę toksyczności zaproponowaną przez Hernando [256], w przypadku bakterii *A. fischeri* w teście toksyczności ostrej - Microtox, spośród wszystkich badanych substancji, jedynie difenylowa pochodna **6d (2-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)**, wykazała szkodliwy wpływ na mikroorganizmy testowe, pozostałe zostały sklasyfikowane jako nieszkodliwe.
- Badania toksyczności chronicznej w teście Ostracodtoxkit, wykazały większą toksyczność aminofosfonianów wobec skorupiaków *H. incongruens* w porównaniu do bakterii, przy czym spośród wszystkich testowanych substancji, najmniej toksyczną grupą okazały się pochodne *N* – fosfonometyloglicyny, aminofosfoniany difenylowe, oraz pochodna dibenzylowa.

Na podstawie wyników badań własnych oraz sformułowanych powyżej wniosków stwierdzono prawdziwość postawionej tezy pracy, że część spośród zsyntezowanych pochodnych aminofosfonowych charakteryzuje się niską fitotoksycznością wobec roślin uprawnych (badane w ramach pracy: rzodkiewka i owies), posiadając jednocześnie właściwości chwastobójcze, co wskazuje je, jako potencjalne, przyjazne środowisku substancje czynne w preparatach herbicydowych. Ich selektywne działanie, daje potencjalne możliwości zastosowań tego rodzaju związków, jako herbicydów przy uprawie roślin jednoliściennych. Spośród przebadanych aminofosfonianów, wybrane związki wykazały niską szkodliwość wobec testowanych organizmów wodnych, co przy braku ich fitotoksyczności i skuteczności działania chwastobójczego, stwarza potencjalne możliwości aplikacyjne w obszarze agrochemii.

**SPIS SCHEMATÓW,  
TABEL I RYSUNKÓW**

A decorative graphic at the bottom of the page consisting of overlapping, semi-transparent green shapes in various shades, creating a wavy, abstract pattern that resembles a stylized landscape or a modern design element.



# SPIS SCHEMATÓW

Schemat 1a. Ogólny schemat reakcji Kabachnika–Fieldsa [14].	19
Schemat 1b. Reakcja Kabachnika–Fieldsa – możliwe mechanizmy [14].	20
Schemat 1c. Modyfikacja reakcji Kabachnika–Fieldsa [14].	20
Schemat 2. Reakcja aza – Pudovika [15].	21
Schemat 3. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów przy użyciu TMG w EtOH [19].	22
Schemat 4. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów przy użyciu $K_2CO_3$ w DCM [20].	23
Schemat 5. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów przy użyciu SBA – 16 [21].	23
Schemat 6. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów przy użyciu Cu(I)/Cu(II) w DCM [16].	24
Schemat 7. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów przy użyciu celulozy [24].	25
Schemat 8. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów przy użyciu $InCl_3$ [25].	25
Schemat 9. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów przy użyciu Amberlystu-15 [26].	26
Schemat 10. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów przy użyciu $Nb_2O_3 \cdot nH_2O$ [27].	27
Schemat 11. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów przy użyciu nano- CuO [21].	27
Schemat 12. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów przy użyciu nanocząstek $TiO_2$ w formie anatazu [29].	28
Schemat 13. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów pod wpływem ultradźwięków, z użyciem HCl [33].	29
Schemat 14. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów pod wpływem ultradźwięków, z użyciem TMG [34].	30
Schemat 15. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów pod wpływem ultradźwięków, z użyciem $SiO_2$ - $ZnBr_2$ [35].	30
Schemat 16. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów pod wpływem ultradźwięków, z użyciem nano $BF_3$ - $SiO_2$ [36].	31
Schemat 17. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów z udziałem wody, pod wpływem promieniowania ultradźwiękowego [37].	31
Schemat 18. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów pod wpływem ultradźwięków [38].	32
Schemat 19. Addycja fosforynów dialkilowych i tlenu difenylu do <i>N</i> -benzylidenobutyloaminy [40].	33
Schemat 20. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów z wykorzystaniem CuI i mikrofal [41].	34
Schemat 21. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów z wykorzystaniem $TiO_2$ - $SiO_2$ i mikrofal [42].	34
Schemat 22. Synteza $\alpha$ -amino fosfonianów z wykorzystaniem PSA i mikrofal [43].	35

Schemat 23. Synteza $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem $Gd_2O_3$ i mikrofal [44].	36
Schemat 24. Synteza $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem NMP i mikrofal [45].	36
Schemat 25. $\alpha$ -aminofosfoniany, zsyntezowane z wykorzystaniem CHS i mikrofal [46].	37
Schemat 26. Synteza $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem mikrofal [47].	37
Schemat 27. Synteza $\alpha$ -aminofosfonianów z wykorzystaniem mielenia kulowego [48].	38
Schemat 28. Reakcja Hirao katalizowana palladem [49].	39
Schemat 29. Reakcja Hirao, z zastosowaniem soli Cu(II) jako prekursora katalizatora, pod wpływem promieniowania mikrofalowego [50].	40
Schemat 30. Katalizowane przez Pd reakcje sprzęgania P-C Hirao z dihalogenobenzenami [51].	41
Schemat 31. Synteza aminofosfonianów, pochodnych tiofeno-2-karboaldehydu.	87
Schemat 32. Schemat syntezy aminotienylometylofosfonianów.	102
Schemat 33. Synteza C-podstawionych pochodnych N-fosfonometyloglicyny (glifosatu).	103

## SPIS TABEL

Tabela 1. Podział pestycydów według zastosowań [70].	48
Tabela 2. Klasyfikacja herbicydów według mechanizmów działania i substancji aktywnej [78].	50
Tabela 3. Herbicydy zawierające atom siarki [158].	64
Tabela 4. Pochodne tiofeno-2-karboaldehydu 5-7.	89
Tabela 5. Wpływ aminofosfonianów dimetylowych 5 a-i, na świeżą masę, wysokość pędu i długość korzenia siewek owsa ( <i>A. sativa</i> ) w porównaniu z kontrolą (średnia $\pm$ SD). Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie przy $p < 0,05$ . ....	108
Tabela 6. Wpływ aminofosfonianów dimetylowych 5 a-i, na świeżą masę, wysokość pędu i długość korzenia siewek rzodkiewki ( <i>R. sativus</i> ) w porównaniu z kontrolą (średnia $\pm$ SD). Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie przy $p < 0,05$ . ....	110
Tabela 7. Wpływ aminofosfonianów difenylowych 6 a-f, oraz aminofosfonianu dibenzylowego 7, na świeżą masę, wysokość pędu i długość korzenia siewek owsa ( <i>A. sativa</i> ) w porównaniu z kontrolą (średnia $\pm$ SD). Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie przy $p < 0,05$ .	115
Tabela 8. Wpływ aminofosfonianów difenylowych 6 a-f, oraz aminofosfonianu dibenzylowego 7, na świeżą masę, wysokość pędu i długość korzenia siewek rzodkiewki ( <i>R. sativus</i> ) w porównaniu z kontrolą (średnia $\pm$ SD). Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie przy $p < 0,05$ .	117
Tabela 9. Ocena toksyczności aminofosfonianów dimetylowych 5 a-i, wobec chwastów w 7 dniu wzrostu.	138
Tabela 10. Ocena toksyczności aminofosfonianów difenylowych 6 a-f oraz 7, wobec chwastów po 7 dniach od oprysku.	141
Tabela 11. Ocena toksyczności aminofosfonianów 16 a-g i 17, po 7 dniach od wykonania oprysku.	144
Tabela 12. Wartości $EC_{50}$ (mg/kg s.m.g.) po ekspozycji luminescencyjnych bakterii morskich <i>A. fischeri</i> na aminofosfoniany dimetylowe 5 a-i.	148
Tabela 13. Wartości $EC_{50}$ (mg/kg s.m.g.) po ekspozycji luminescencyjnych bakterii morskich <i>A. fischeri</i> na aminofosfoniany difenylowe 6 a-f i aminofosfonian dibenzyłowy 7.	150

Tabela 14. Wartości EC <sub>50</sub> (mg/kg s.m.g.) po ekspozycji luminescencyjnych bakterii morskich <i>A. fischeri</i> na pochodne N-[arylo(fosfono)metylo]glicyny 16 a-g oraz komercyjny glifosat 17.....	152
Tabela 15. Zahamowanie wzrostu (GI%) skorupiaków <i>H. incongruens</i> żyjących w osadzie z dodatkiem aminofosfonianów 6 a-f i 7, w stężeniach: 10, 50, 100 i 250 mg/kg suchej masy gleby. SD oznacza odchylenie standardowe (SD, n=6 oznaczeń). NM oznacza „nie mierzalny”.....	157
Tabela 16. Zahamowanie wzrostu (%)skorupiaków <i>H. incongruens</i> żyjących w glebie zanieczyszczonej związkami 16 a-g i 17, w stężeniach: 10, 50, 100 i 250 mg/kg suchej masy gleby. SD oznacza odchylenie standardowe (SD, n=6 oznaczeń). NM oznacza „nie mierzalny”.....	159
Tabela 17. Ocena właściwości fitotoksycznych i ekotoksycznych aminofosfonianów 5 a-i, 6 a-f, 7, 16 a- g i 17.....	164

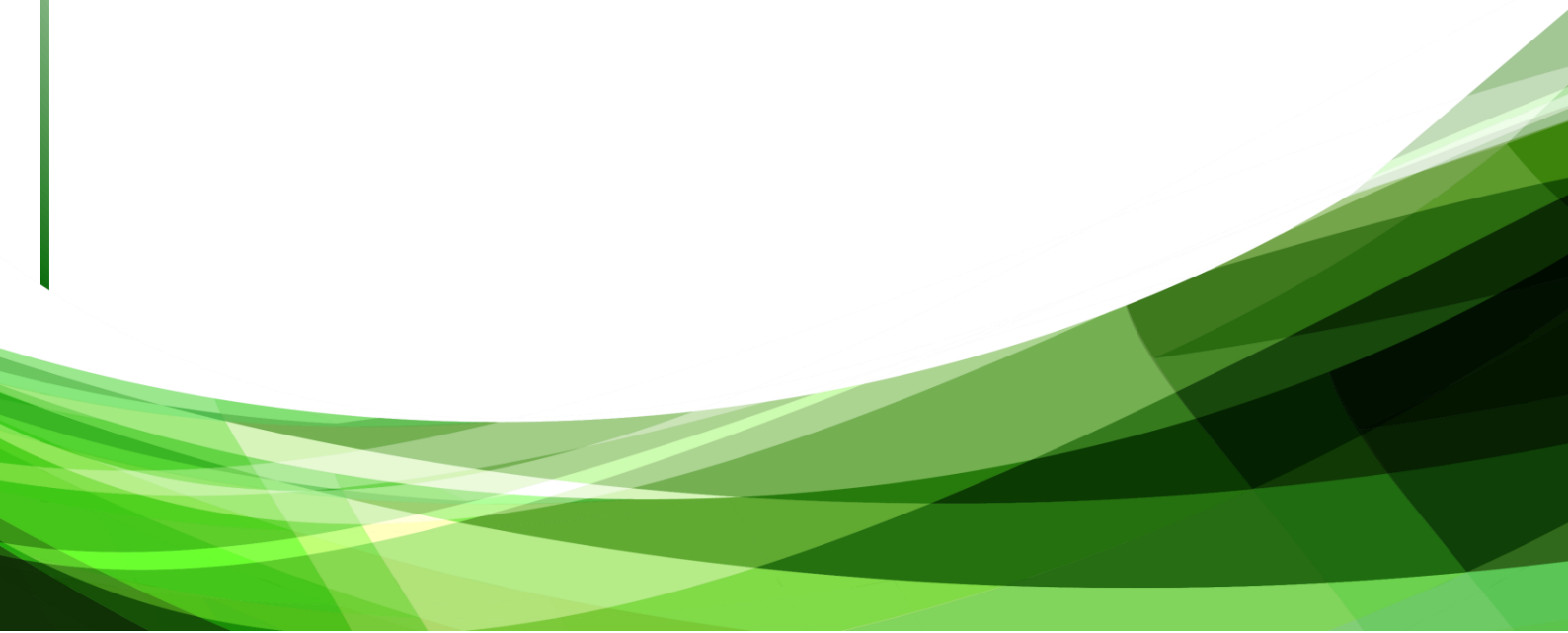
# SPIS RYSUNKÓW

Rysunek 1. Wpływ środków ochrony roślin na środowisko [2].....	12
Rysunek 2. Ciecze jonowe [G <sub>3</sub> (Li)] TFSI (a) oraz [G <sub>4</sub> (Li)] TFSI (b) [31].....	28
Rysunek 3. Naturalne kwasy fosfonowe [52].....	42
Rysunek 4. Struktura fosfomycyny [52]. .....	43
Rysunek 5. Struktura fosfodiny A [52]. .....	43
Rysunek 6. Struktura K-26 i 15B2 [52]. .....	43
Rysunek 7. Struktura fosfotrycyny [52].....	44
Rysunek 8. Struktura glifosatu [52]. .....	44
Rysunek 9. Struktura Sarinu (a), VX (b), acetylocholina [52]. .....	44
Rysunek 10. Struktura tenofiwiru [52]. .....	45
Rysunek 11. Struktura kwasu zoledronowego (a) i Foskarnetu (b) [52]. .....	45
Rysunek 12. Struktura perzinfotelu (a) i kwasu <i>N</i> -metylo- <i>D</i> -asparaginowego (b) [52].....	46
Rysunek 13. Struktura kwasu etylenodiaminotetrametyleno fosfonowego (EDTMP) [52]..	46
Rysunek 14. Struktura chemiczna napropamidu [81].....	53
Rysunek 15. Struktura chemiczna chlomazonu [82]. .....	53
Rysunek 16. Struktura chemiczna flufenacetu [83]. .....	53
Rysunek 17. Ogólna struktura handlowych herbicydów sulfonilomocznikowych: gdzie P jest <i>orto</i> podstawionym arylem, heteroarylem: pirydylem, pirazolilem, tiofenylem, imidazopirydynylem, imidazopirydynylem; a Q jest podstawione heterocyklem pirymidynowym i triazynowym [156]. .....	63
Rysunek 18. Owies zwyczajny ( <i>A. sativa</i> ) i rzodkiewka zwyczajna ( <i>R. sativus</i> ) [164, 165].	72
Rysunek 19. Chwasty: szczaw zwyczajny ( <i>R. acetosa</i> ), żóltlica drobnokwiatowa ( <i>G. parviflora</i> ) i komosa biała ( <i>Ch. album</i> ) [167–169].....	73
Rysunek 20. Morskie bakterie luminescencyjne <i>A. fischeri</i> i aparatura Microtox [170, 171].	74
Rysunek 21. Skorupiaki <i>H. incongruens</i> i zestaw Ostracodtookit F [172, 173]. .....	74
Rysunek 22. Nasiona owsa (a) i rzodkiewki (b) wysiane do doniczek. ....	79
Rysunek 23. Rośliny w hali wegetacyjnej. ....	79
Rysunek 24. Aminofosfonian, z heteroaromatyczny układem tiofenu. ....	86
Rysunek 25. Wartości EC <sub>50</sub> dla świeżej masy, pędu i korzenia owsa po ekspozycji na aminofosfoniany 5 a-i. SD oznacza odchylenie standardowe (SD, n=3 oznaczenia).....	107

Rysunek 26. Wartości EC <sub>50</sub> dla świeżej masy, pędu i korzenia rzodkiewki po ekspozycji na aminofosfoniany 5 a-i. SD oznacza odchylenie standardowe (SD, n=3 oznaczenia).....	111
Rysunek 27. Zdjęcia cyfrowe owsa i rzodkiewki: a) pędy, b) korzenie, traktowane aminofosfonianem 5a (2- MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ) dla stężeń: 0, 100, 200, 400, 800, 1000 mg/kg s.m.g., w 14 dniu wzrostu rośliny.....	113
Rysunek 28. Wartości EC <sub>50</sub> dla świeżej masy, pędu i korzenia owsa, po ekspozycji na aminofosfoniany 6 a- f i 7, (nm- nie mierzalne). SD oznacza odchylenie standardowe (SD, n=3 oznaczenia). .....	114
Rysunek 29. Wartości EC <sub>50</sub> dla świeżej masy, pędu i korzenia rzodkiewki, po ekspozycji na aminofosfoniany 6 a-f i 7, (nm- nie mierzalne).....	118
Rysunek 30. Zdjęcia cyfrowe owsa i rzodkiewki: a) pędy, b) korzenie, traktowane aminofosfonianem 6a (2- MeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ) dla stężeń: 0, 100, 200, 400, 800, 1000 mg/kg s.m.g., w 14 dniu wzrostu rośliny.....	119
Rysunek 31. Wartości NOEC i LOEC odnoszące się do świeżej masy owsa, po ekspozycji na aminofosfoniany 5 a-i.....	122
Rysunek 32. Wartości NOEC i LOEC odnoszące się do świeżej masy rzodkiewki, po ekspozycji na aminofosfoniany 5 a-i. ....	123
Rysunek 33. Wartości NOEC i LOEC odnoszące się do świeżej masy rzodkiewki po ekspozycji na aminofosfoniany 6 a-f i 7. ....	124
Rysunek 34. Procentowy udział suchej masy rzodkiewki i owsa, na skutek działania aminofosfonianu 5a.....	126
Rysunek 35. Procentowy udział suchej masy rzodkiewki i owsa, na skutek działania aminofosfonianu 6a.....	126
Rysunek 36. Zawartości chlorofilu w siewkach rzodkiewki, traktowanej aminofosfonianami 5 a-i. Dane są wyrażone, jako średnia ± SD z trzech powtórzeń dla każdego stężenia. ....	130
Rysunek 37. Zawartości karotenoidów w siewkach rzodkiewki, traktowanej aminofosfonianami 5 a-i. Dane są wyrażone, jako średnia ± SD z trzech powtórzeń dla każdego stężenia. ....	131
Rysunek 38. Zawartości chlorofilu całkowitego w siewkach rzodkiewki, traktowanej aminofosfonianami 6 a-f oraz 7. Dane są wyrażone, jako średnia ± SD z trzech powtórzeń dla każdego stężenia.....	132
Rysunek 39. Zawartości karotenoidów w siewkach rzodkiewki, traktowanej aminofosfonianami 6 a-f oraz 7. Dane są wyrażone, jako średnia ± SD z trzech powtórzeń dla każdego stężenia.....	133

Rysunek 40. Zdjęcia cyfrowe żóltlicy drobnokwiatowej ( <i>G. parviflora</i> ), szczawiu zwyczajnego ( <i>R. acetosa</i> ) i komosy białej ( <i>C. Album</i> ), traktowanych związkami 5 a-i (stężenie w 1000 mg/kg suchej masy gleby) w 5 tygodniu wzrostu. ....	137
Rysunek 41. Zdjęcia cyfrowe żóltlicy drobnokwiatowej ( <i>G. parviflora</i> ), komosy białej ( <i>Ch. album</i> ) i szczawiu zwyczajnego ( <i>R. acetosa</i> ), traktowanych związkami 6 a-f i 7 (stężenie w 1000 mg/kg suchej masy gleby) w 5 tygodniu wzrostu.....	140
Rysunek 42. Fotografie cyfrowe żóltlicy drobnokwiatowej ( <i>G. parviflora</i> ), szczawiu zwyczajnego ( <i>R. acetosa</i> ) i komosy białej ( <i>C. Album</i> ) w 5 tygodniu wzrostu, po oprysku 20% wodnymi roztworami aminofosfonianów 16 a-g i 17.....	143
Rysunek 43. Śmiertelność (%) skorupiaków <i>H. incongruens</i> , eksponowanych na aminofosfoniany 5 a-i w stężeniach: 10, 50 mg/kg suchej masy gleby. ....	154
Rysunek 44. Śmiertelność (%) skorupiaków <i>H. incongruens</i> , eksponowanych na aminofosfoniany 6 a-f oraz 7 w stężeniach: 10, 50, 100, 250 mg/kg suchej masy gleby. .	156
Rysunek 45. Śmiertelność (%) skorupiaków <i>H. incongruens</i> , eksponowanych na aminofosfoniany 16 a- g, i 17 w stężeniach: 10, 50, 100, 250 i 500 mg/kg suchej masy gleby.....	158

# **DOROBEK NAUKOWY**





## PUBLIKACJE

1. Klekotka U., Rogacz D., Szymanek I., Malejko J., Rychter P., Kalska-Szostko B., Ecotoxicological assessment of magnetite and magnetite/Ag nanoparticles on terrestrial and aquatic biota from different trophic levels, *Chemosphere*, 2022, 308, doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.136207
2. Żarski A., Bajer K., Raszewska-Kaczor A., Rogacz D., Żarska S., Kapuśniak J., From high oleic vegetable oils to hydrophobic starch derivatives: II. Physicochemical, processing and environmental properties. *Carbohydrate polymers*, 2020, 243, doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116499
3. Rogacz D., Lewkowski J., Cal D., Rychter P., Ecotoxicological effects of new C-substituted derivatives of N-phosphonomethylglycine (glyphosate) and their preliminary evaluation towards herbicidal application in agriculture. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 194, doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110331
4. Rogacz D., Lewkowski J., Siedlarek M., Karpowicz R., Kowalczyk A., Rychter P., The Effect of New Thiophene-Derived Diphenyl Aminophosphonates on Growth of Terrestrial Plants. *Materials*, 2019, 12, doi.org/10.3390/ma12122018.
5. Rychter P., Christova D., Lewicka K., Rogacz D., Ecotoxicological impact of selected polyethylenimines toward their potential application as nitrogen fertilizers with prolonged activity. *Chemosphere*, 2019, 226, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.03.128
6. Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Lacik I., Poly (methylene-co-cyanoguanidine) as an Eco-friendly Nitrogen Fertilizer with Prolonged Activity. *Journal of Polymers and the Environment*, 2019, 27, 1317-1332, doi: 10.1007/s10924-019-01431-0
7. Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Kollár J., Kawalec M., Mosnáček J., Ecotoxicological properties of Tulipalin A-based superabsorbents versus conventional superabsorbent hydrogels. *Advances in Polymer Technology*, 2019, 226 doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.03.128
8. Lewkowski J., Rogacz D., Rychter P., Hazardous ecotoxicological impact of two commonly used nitrofurantoin-derived antibacterial drugs: Furazolidone and nitrofurantoin. *Chemosphere*, 2019, 222, 381-390, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.01.144

9. Rychter P., Lewicka K., Rogacz D., Environmental usefulness of PLA/PEG blends for controlled-release systems of soil-applied herbicides. *Journal of Applied Polymer Science*, 2019, 136, doi: doi.org/10.1002/app.47856.
10. Karpowicz R., Lewkowski J., Stasiak M., Czopor A., Tokarz P., Król A., Rogacz D., Rychter P., Synthesis of novel N-(p-toluenesulfonyl) aminophosphonates and evaluation of their biological properties. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 2018, 193(7), 423-436.
11. Rogacz D., Lewkowski J., Malinowski Z., Matusiak A., Morawska M., Rychter P., Effect of New Thiophene-Derived Aminophosphonic Derivatives on Growth of Terrestrial Plants. Part 2. Their Ecotoxicological Impact and Phytotoxicity Test Toward Herbicidal Application in Agriculture. *Molecules*, 2018, 23, 317, doi: 10.3390/molecules23123173
12. Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Novel (5-nitrofurfuryl)-substituted esters of phosphonoglycine—Their synthesis and phyto-and ecotoxicological properties. *Chemosphere*, 2017, 188, 618-632, doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.09.031.
13. Lewkowski J., Karpowicz R., Morawska M., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Dobrzyński P., Synthesis and ecotoxicological impact of ferrocene-derived aminophosphonates using a battery of bioassays. *RSC advances*, 2017, 7(61), 38399-38409, doi: 10.1039/C7RA06079C
14. Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Dobrzyński P., Evaluation of ecotoxicological impact of new pyrrole-derived aminophosphonates using selected bioassay battery. *Ecotoxicology*, 2017, 26, 914-929, doi: 10.1007/s10646-017-1821-4.
15. Lewkowski J., Morawska M., Kaczmarek A., Rogacz D., Rychter P., Novel N-Arylamino-phosphonates Bearing a Pyrrole Moiety and Their Ecotoxicological Properties. *Molecules*, 2017, 22(7), 1132, doi: 10.3390/molecules22071132
16. Rychter P., Kot M., Bajer K., Rogacz D., Šišková A., Kapuśniak J., Utilization of starch films plasticized with urea as fertilizer for improvement of plant growth. *Carbohydrate polymers*, 2016, 137, 127-138, doi: 10.1016/j.carbpol.2015.10.051
17. Lewkowski J., Rodriguez Moya M., Chmielak M., Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Synthesis, spectral characterization of several novel pyrene-derived aminophosphonates and their ecotoxicological evaluation using *heterocypris incongruens* and *vibrio fischeri* tests. *Molecules*, 2016, 21(7), 936, doi: 10.3390/molecules21070936

18. Lewkowski J., Malinowski Z., Matusiak A., Morawska M., Rogacz D., Rychter P., The effect of new thiophene-derived aminophosphonic derivatives on growth of terrestrial plants: a seedling emergence and growth test. *Molecules*, 2016, 21(6), 694, doi: 10.3390/molecules21060694
19. Rogacz D., Lewicka K., Głab T., Bubel D., Szczygieł K., Kucharek P., Godela A., Bednarek S., Olszewska D., Występowanie bakterii metaloopornych w glebie terenu Huty Częstochowa, *Inżynieria środowiska – młodym okiem*, 2015, tom 14, 138.

## GRANTY

- **PRELUDIUM 14**, Nr grantu NCN: 2017/27/N/NZ9/02221, „*Synteza niektórych pochodnych N-fosfonometyloglicyny oraz badanie ich ekotoksyczności*” - Kierownik projektu
- **OPUS 7**, Nr grantu NCN: 2014/13/B/NZ9/02418, „*Badanie ekotoksyczności oraz wstępna ocena skuteczności działania nowych różnie podstawionych układów aminofosfonowych oraz azometinowych pochodnych 5-nitrofurfuralu, jako potencjalnych herbicydów w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii*” - Wykonawca projektu.

## STAŻE LABORATORYJNE

- Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii, Katedra Chemii Organicznej, ul. Tamka 12, 91-403 Łódź, 18 - 29.04.2016.
- Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii, Katedra Chemii Organicznej, ul. Tamka 12, 91-403 Łódź, 27.03 - 07.04.2017.
- Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii, Katedra Chemii Organicznej, ul. Tamka 12, 91-403 Łódź, 22.01- 4.02.2018.

## WYSTĄPIENIA NA KONFERENCJACH KRAJOWYCH I ZAGRANICZNYCH

### Komunikaty ustne:

1. Rogacz D., Lewicka K., Kollar J., Lacik I., Rychter P., Usefulness of selected polymers for agrochemical purposes., XXI International Seminar On Physics and Chemistry of Solids and advanced materials, Częstochowa, 10-13.06.2018
2. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., IV Ogólnopolska Konferencja Doktorantów Nauk o Życiu, BIOOPEN 2018, Łódź, 24-25.05.2018
3. Lewkowski J., Rogacz D., Rychter P., Furazolidon i nitrofurantoina – druga twarz popularnych antybiotyków..., The Good, the Bad or the Ugly? 61 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Kraków, 17-21.09.2018
4. Rogacz D., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Wstępna ocena ekotoksykologiczna nowo syntezowanych pochodnych aminofosfonowych, II Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska, IAKOŚ, Gdańsk, 17-20.05.2017.
5. Morawska M., Lewkowski J., Karpowicz R., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., „Phyto- and ecotoxicological properties of New aminophosphonates Bering pyrrol-2-yl and 5-nitrofurfurylmoiety” X<sup>th</sup>International Mini-Symposium - Selenium containing compounds on the borderline of chemistry, biology and medicine and Young Chemists Workshop on Heteroatom Chemistry, Łódź, 25.05.2017.
6. Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Malinowski Z., Cal D., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Timeo danaos et dona ferentes or pesticides as a Trojan Horse...but to whom?, X<sup>th</sup>International Mini-Symposium - Selenium containing compounds on the borderline of chemistry, biology and medicine and Young Chemists Workshop on Heteroatom Chemistry, Łódź, 25.05.2017.
7. Rogacz D., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Właściwości ekotoksyczne niektórych nowo syntezowanych pochodnych n-fosfonometyloglicyny, IV Ogólnopolska Konferencja “Wkraczając w świat nauki 2017”, Wrocław, 17-18.09.2017.
8. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Właściwości ekotoksyczne niektórych nowo syntezowanych pochodnych n-fosfonometyloglicyny, IV Ogólnopolska Konferencja “Wkraczając w świat nauki 2017”, Wrocław, 17-18.09.2017.

9. Morawska M., Lewkowski J., Karpowicz R., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Synteza aminofosfonianów z ugrupowaniem 2-pirolowym i 5-nitrofurylowym, jako potencjalnych herbicydów; VI ogólnopolska konferencja pt. „Pomiędzy naukami – zjazd fizyków i chemików”, Chorzów, 15.09.2017.
10. Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Malinowski Z., Cal D., Rogacz D., Rychter P., Equō nē crēdite, teucrī! Czyli laokoon, herbicydy i my, 60 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Wrocław, 17-21.09.2017.
11. Lewkowski J., Morawska M., Rychter P., Rogacz D., Fitotoksyczność, pochodne nitrofurfuralu, nitroreduktazy..., nowe herbicydy??, 59 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego 19-23.09.2016.

#### **Postery:**

1. Rogacz D., Synteza i potencjalne zastosowanie nowych, aminofosfonowych pochodnych tiofenu, jako środków ochrony roślin, 63 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Łódź, 13-17.09.2021.
2. Rogacz D., Synthesis and ecotoxicological assessment of new derivatives of N – Phosphonomethylglycine 23rd, International Conference on Phosphorus Chemistry, Częstochowa 5-9.07.2021.
3. Rogacz D., Rychter P., Lewicka K., Lewkowski J., Siedlarek M., Kowalczyk A., Karpowicz R., Malinowski Z., Nowo-synteżowane, aminofosfonowe pochodne tiofenu i ich zastosowanie, jako herbicydy dogłebowe, 44 Międzynarodowe Seminarium Naukowo - Techniczne "Chemistry for Agriculture", Karpacz, 24-27.11.2019.
4. Rogacz D., Rychter P., Lewicka K., Lewkowski, Cal D., Zastosowanie nowo syntezowanych pochodnych glifosatu, jako alternatywy dla współczesnych środków ochrony roślin, 44 Międzynarodowe Seminarium Naukowo - Techniczne "Chemistry for Agriculture", Karpacz, 24-27.11.2019.
5. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Mikrosfery – nowoczesna postać herbicydów dogłebowych o kontrolowanym uwalnianiu, 44 Międzynarodowe Seminarium Naukowo - Techniczne "Chemistry for Agriculture", Karpacz, 24-27.11.2019.
6. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Zastosowanie biodegradowalnych polimerów w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii, 44 Międzynarodowe Seminarium Naukowo - Techniczne "Chemistry for Agriculture", Karpacz, 24-27.11.2019.

7. Rogacz D., Rychter P., Lewicka K., Lewkowski J., Siedlarek M., Kowalczyk A., Karpowicz R., Malinowski Z., Synthesis and ecotoxicological assessment of new thiophene-derived diphenyl aminophosphonates, XXII International Symposium „Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds”, 22.11.2019, Łódź.
8. Rogacz D., Rychter P., Lewicka K., Lewkowski J., Cal D., Nowosyntezyzowane pochodne glifosatu, jako alternatywa dla współczesnych środków ochrony roślin Konferencja Doktorantów Nauk Przyrodniczych. Gdańsk, 25-28.06.2019.
9. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Cal D., Synthesis and preliminary ecotoxicological assessment of new derivatives of glyphosate, XXI International Seminar On Physics and Chemistry of Solids and advanced materials, Częstochowa, 10-13.06.2018.
10. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Synthesis of biodegradable polymers and their potential usefulness in controlled release systems of agrochemicals, XXI International Seminar On Physics and Chemistry of Solids and advanced materials, Częstochowa, 10-13.06.2018.
11. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Cal D., Synthesis and preliminary ecotoxicological assessment of new derivatives of glyphosate, XX International Symposium "Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds", Łódź, 23-24.11.2017.
12. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Synthesis of biodegradable polymers and their potential usefulness in controlled release systems of agrochemicals, XX International Symposium "Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds", Łódź, 23-24.11.2017.
13. Morawska M., Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Karpowicz R., Phyto- and ecotoxicological properties of new aminophosphonates bearing pyrrol-2-yl and 5-nitrofurfuryl moiety, XX International Symposium "Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds", Łódź, 23-24.11.2017.
14. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Cal D., Zastosowanie nowo syntezowanych pochodnych glifosatu, jako skutecznych, doglebowych środków chwastobójczych, III Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska (IAKOŚ), Gdańsk, 13-15.04.2018.
15. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Biodegradowalne polimery i mieszaniny polimerowe dla zastosowań w systemach kontrolowanego uwalniania w

- agrochemii., III Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska (IAKOŚ), Gdańsk, 13-15.04.2018.
16. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Cal D., Zastosowanie nowo syntezowanych pochodnych glifosatu, jako bezpiecznych dla środowiska herbicydów., IV Ogólnopolska, Konferencja Dyplomantów Kierunków Przyrodniczych i Techniczno-Przyrodniczych, BIOPOTENCJAŁ, Warszawa, 08.06.2018.
  17. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Otrzymywanie biodegradowalnych polimerów oraz ich zastosowanie w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii., IV Ogólnopolska, Konferencja Dyplomantów Kierunków Przyrodniczych i Techniczno-Przyrodniczych, BIOPOTENCJAŁ, Warszawa, 08.06.2018.
  18. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Malinowski Z., Synteza nowych difenylowych aminofosfonianów pochodnych tiofenu i ich właściwości ekotoksykologiczne., VI Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź, 10-11.05.2018.
  19. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Synteza polimerowych nośników pestycydowych opartych na polisacharydach szczepionych E-kaprolaktonem., VI Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź, 10-11.05.2018.
  20. Morawska M., Lewkowski J., Karpowicz R., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Synteza i właściwości egzotoksyczne aminofosfonianów z ugrupowaniem 5-nitrofurylowym., VI Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź, 10-11.05.2018.
  21. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Malinowski Z., Właściwości ekotoksykologiczne nowo syntezowanych aminofosfonowych pochodnych tiofenu i ich potencjalne działanie herbicydowe, IV Ogólnopolska Konferencja Doktorantów Nauk o Życiu, BIOOPEN, Łódź, 24-25.05.2018.
  22. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Cal D., Nowo syntezowane pochodne glifosatu, jako bezpieczne dla środowiska herbicydy, Pomędzy naukami, VII Ogólnopolska Konferencja dla Młodych Naukowców, Chorzów, 14.09.2018.
  23. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Otrzymywanie biodegradowalnych polimerów oraz ich zastosowanie w systemach kontrolowanego uwalniania w

- agrochemii, *Pomiędzy naukami*, VII Ogólnopolska Konferencja dla Młodych Naukowców, Chorzów, 14.09.2018.
24. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Malinowski Z., Synteza i ekotoksykologia nowych difenyłowych aminofosfonianów pochodnych tiofenu, 61 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Kraków, 17-21.09.2018.
  25. Kowalczyk A., Lewkowski J., Rogacz D., Rychter P., Synteza pochodnych N-fosfonometyloleucyny i badania ich właściwości ekotoksycznych, 61 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Kraków, 17-21.09.2018.
  26. Lewicka K., Rogacz D., Rychter, Dobrzyński P., Charakterystyka procesu (bio) degradacji oraz profilu uwalniania środków ochrony roślin z nowosyntezyzowanych przyjaznych środowisku matryc polimerowych, V Ogólnopolska Konferencja Młodych Naukowców Nauk Przyrodniczych, *Wkraczając w Świat Nauki*, Wrocław, 20-21.09.2018.
  27. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Malinowski Z., Synteza nowych aminofosfonianów pochodnych tiofenu, jako potencjalnych herbicydów, V Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź, 11-12.05.2017.
  28. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Synteza i zastosowanie matryc polimerowych w kontrolowanym uwalnianiu pestycydów, V Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź, 11-12.05.2017.
  29. Morawska M., Lewkowski J., Kaczmarek A., Karpowicz R., Rogacz D., Rychter P., Lewicka K., Synteza, właściwości eko- i fitotoksyczne aminofosfonianów pochodnych pirolu, V Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź, 11-12.05.2017.
  30. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Synteza i wstępna ocena ekotoksykologiczna wybranych pochodnych N-(fosfonometylo) glicyny, II Częstochowskim Forum Młodych „NAUKA. LUBIĘ TO!”, Częstochowa, 13.06.2017.
  31. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., synteza biodegradowalnych terpolimerów blokowych poli(L-laktyd-ko-glikolid) -poli(tlenek etylenu) i badania ich przydatności, dla zastosowań w systemach kontrolowanego uwalniania w agrochemii, II Częstochowskim Forum Młodych „NAUKA. LUBIĘ TO!”, Częstochowa, 13.06.2017.



32. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Współczesne rolnictwo– wybrane aspekty ekotoksykologiczne. II Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska, IAKOŚ, Gdańsk, 17-20.03.2017.
33. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Możliwości zastosowania biodegradowalnych matryc polimerowych w kontrolowanym uwalnianiu środków ochrony roślin. II Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska, IAKOŚ, Gdańsk, 17-20.03.2017.
34. Lewkowski J., Karpowicz R., Morawska M., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Phyto- and Ecotoxicological Properties of C-Aryl and Heteroaryl Derivatives of Phosphonoglycine, XIX International Symposium "Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds", Łódź, 25.11.2016.
35. Morawska M., Lewkowski J., Kaczmarek A., Karpowicz R., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Synteza i właściwości ekotoksyczne aminofosfonianów z ugrupowaniem 2-pirolowym, Ogólnopolskie Studenckie Mikrosympozjum Chemików "Chemia - przyszłość zaczyna się dziś", Białystok 30.03-02.04.2017.
36. Morawska M., Lewkowski J., Karpowicz R., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Synteza oraz właściwości ekotoksyczne wybranych aminofosfonianów pochodnych 5-nitrofurfuralu, III Ogólnopolska Konferencja Doktorantów Nauk o Życiu BioOpen, Łódź, 11-12.05.2017.
37. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Zastosowanie nowo syntezowanych aminofosfonowych pochodnych tiofenu, jako potencjalnych herbicydów, IV Ogólnopolska Konferencja "Wkraczając w świat nauki 2017", Wrocław, 17-18.09.2017.
38. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Morawska M., Synteza pochodnych glifosatu i ich wstępna ocena ekotoksykologiczna, VI ogólnopolska konferencja „Pomiędzy naukami – zjazd fizyków i chemików”, Chorzów, 15.09.2017.
39. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Cal D., Morawska M., Synteza i wstępna ocena ekotoksykologiczna pochodnych N-fosfonometylo-glicyny, 60 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Wrocław, 17-21.09.2017.
40. Morawska M., Lewkowski J., Karpowicz R., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Synteza, właściwości eko- i fitotoksyczne aminofosfonianów z ugrupowaniem 2-pirolowym i 5-nitrofurylowym, 60 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Wrocław, 17-21.09.2017.

41. Żarski A., Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Bajer K., Kapuśniak J., Ocena właściwości przetwórczych i badania fitotoksyczności folii otrzymanych z niskopodstawionych estrów skrobiowych, 60 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Wrocław, 17-21.09.2017.
42. Morawska M., Lewkowski J., Rzeszotarska E., Rychter P., Rogacz D., Phytotoxicological properties of novel aminophosphonates bearing 2- Pyrrole moiety, Wilno, 15-18.03.2016.
43. Morawska M., Lewkowski J., Rzeszotarska E., Rychter P., Rogacz D., Synteza oraz właściwości fitotoksyczne aminofosfonianów pochodnych pirolu, IV Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii, Łódź, 12-13.05.2016.
44. Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Chemizacja rolnictwa – wybrane aspekty ekotoksykologiczne, 4 Międzynarodowa Konferencja Inżynieria Bezpieczeństwa a zagrożenia cywilizacyjne, Zagrożenia CBRNE, Częstochowa, 8-9.06.2016.
45. Rychter P., Lewicka K., Rogacz D., Dobrzyński P., Synthesis of biodegradable carriers based on copolymer PLGA-PEG-PLGA for controlled release system of pesticides, Polymat 2016 - Silesian Meetings On Polymer Materials, Zabrze, 27 – 28.06.2016.
46. Morawska M., Lewkowski J., Rzeszotarska E., Rychter P., Rogacz D., Właściwości fitotoksyczne aminofosfonianów z ugrupowaniem 2-pirolilowym, 59 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Poznań, 19-23.09.2016.
47. Karpowicz R., Lewkowski J., Rychter P., Rogacz D., Badania fitotoksyczności i ekotoksyczności aminofosfonianów pochodnych ferrocenu, 59 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Poznań, 19-23.09.2016.
48. Lewicka K., Rogacz D., Rychter P., Dobrzyński P., Synteza matryc polimerowych do zastosowania w kontrolowanym uwalnianiu wybranych środków roślin, 59 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Poznań, 19-23.09.2016.
49. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Morawska M., Karpowicz R., Rodriguez Moya M., Lewkowski J., Wstępna ocena ekotoksykologiczna nowosyntezy pochodnych aminofosfonowych, 59 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Poznań, 19-23.09.2016.
50. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Morawska M., Karpowicz R., Lewkowski J., Ocena właściwości herbicydowych oraz badania ekotoksyczności wybranych, nowosyntezy układów aminofosfonowych, III Ogólnopolska Konferencja Młodych Naukowców Nauk Przyrodniczych „Wkraczając w świat nauki 2016”, Wrocław, 15-16.09.2016.

51. Lewicka K., Rogacz D., Zastosowanie matryc polimerowych w kontrolowanym uwalnianiu środków ochrony roślin III Ogólnopolska Konferencja Młodych Naukowców Nauk Przyrodniczych „Wkraczając w świat nauki 2016”, Wrocław, 15-16.09.2016.
52. Lewicka K., Rogacz D., P. Rychter, P. Dobrzyński, Synteza biodegradowalnych nośników na bazie kopolimeru PLGA-PEG-PLGA do kontrolowanego uwalniania pestycydów, V Ogólnopolska Konferencja Pomiedzy Naukami Zjazd Fizyków i Chemików Chorzów, 16.09.2016.
53. Lewicka K., Rogacz D., Głęb T., Olszewska D., Marczak M., Woda z wybranych źródeł z obszaru Parku Krajobrazowego Orlich Gniazd, jako potencjalny wektor bakterii grupy coli, III Ogólnopolska Konferencja Naukowo-Szkoleniowa pt. „Wektory i patogeny – w przeszłości i przyszłości”, Wrocław, 20-21.11.2014.
54. Rogacz D., Lewicka K., Głęb T., Bubel D., Szczygieł K., Godela A., Olszewska D., Występowanie bakterii metaloopornych w glebie terenu Huty Częstochowa, Inżynieria środowiska – młodym okiem, Białystok, 15.05.2015.
55. Noga I., Rogacz D., Lewicka K., Olszewska D., Biofilm, jako przyczyna zanieczyszczeń sanitarnych, I Ogólnopolska Konferencja Doktorantów Nauk o Życiu, Łódź, 20-22.04.2015.
56. Bubel D., Szczygieł K., Rogacz D., Lewicka K., Olszewska D., Chiropterofauna jaskiń o charakterze dynamicznym i statycznym, XXI Zjazd polskiego towarzystwa zoologicznego Zwierzęta w zmieniającym się świecie, Zielona Góra, 11-13.09.2015.
57. Lewicka K., Rogacz D., Siemion P., Kurcok P., Wykorzystanie promieniowania mikrofalowego w otrzymywaniu skrobi utlenionych, Pomiedzy Naukami - IV Ogólnopolska Konferencja dla Studentów i Doktorantów, Chorzów, 18.09.2015.
58. Rogacz D., Lewicka K., Rychter P., Lewkowski J., Wstępne badania przydatności N-(phosphonomethyl) glicyna, jako herbicydu doglebowego, Pomiedzy Naukami - IV Ogólnopolska Konferencja dla Studentów i Doktorantów, Chorzów, 18.09.2015.

## **UZYSKANE NAGRODY I WYRÓŻNIENIA NAUKOWE**

- Wyróżnienie za referat naukowy: Właściwości ekotoksyczne niektórych nowo syntezowanych pochodnych N-fosfonometyloglicyny, IV Ogólnopolska Konferencja “Wkraczając w świat nauki 2017”, Wrocław, 17-18.09.2017.

**LITERATURA  
CYTOWANA**



- [1] Gupta P.K., Herbicides and Fungicides, In: Reproductive and Developmental Toxicology, Elsevier, **2017**, 657–679
- [2] Martin T., Hoppe T., Clearwater. Environmental sustainability of Canadian agriculture: Agri-environmental indicator report series Ottawa, Agriculture and Agri-Food Canada, **2016**, 155
- [3] Traczewska T.M., Biologiczne metody oceny skażenia środowiska, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, **2011**
- [4] Devineni S.R., Doddaga S., Donka R., Chamarthi N.R.,  $CeCl_3 \cdot 7H_2O-SiO_2$ : Catalyst promoted microwave assisted neat synthesis, antifungal and antioxidant activities of  $\alpha$ -diaminophosphonates, Chinese Chemical Letters, **2013**, 24, 759–763
- [5] Pasupuleti V.R., Sammugam L., Ramesh N., Gan S.H., Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, **2017**, 1–21
- [6] Ke S., Zhang D., Li Y., Gong Z., Tang P., Tang W., One-pot synthesis and fluorescent property of novel syringaldehyde  $\alpha$ -aminophosphonate derivatives, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, **2023**, 1–8
- [7] Ali O.M., Alotaibi M.T., Zaki Y.H., Amer H.H., Design, Synthesis, and Spectroscopic Studies of Some New  $\alpha$ -Aminophosphonate Analogues Derived from 4-Hydroxybenzaldehyde with Special Reference to Anticancer Activity, DDDT, **2022**, Volume 16, 2589–2599
- [8] Kudzin M.H., Kudzin Z.H., Drabowicz J., Thioureidoalkylphosphonates in the synthesis of 1-aminoalkylphosphonic acids. The Ptc-aminophosphonate method, Arkivoc, **2011**, 227–269
- [9] Tebby J.C., Aminophosphonic and aminophosphinic acids: chemistry and biological activity. Valery P. Kukhar and Harry R. Hudson (eds), John Wiley & Sons Ltd, Chichester, Appl. Organometal. Chem., **2000**, 14, 514–514
- [10] Kudzin Z., Kudzin M., Drabowicz J., Stevens C., Aminophosphonic Acids - Phosphorus Analogues of Natural Amino Acids. Part 1: Syntheses of  $\alpha$ -Aminophosphonic Acids, **2011**, 2015–2071
- [11] Todorov P., Naydenova E., Popova J., Troev K., Synthesis and characterization of novel (9H-fluoren-9-ylamino) carbonylaminoethylphosphonic acid, Heteroatom Chem., **2008**, 19, 719–722
- [12] Kraicheva I., Bogomilova A., Tsacheva I., Momekov G., Troev K., Synthesis, NMR characterization and *in vitro* antitumor evaluation of new aminophosphonic acid diesters, European Journal of Medicinal Chemistry, **2009**, 44, 3363–3367
- [13] Troev K.D., Chemistry and application of H-phosphonates, Elsevier, Amsterdam, **2007**

- [14] Keglevich G., Bálint E., Kangyal R., Bálint M., Milen M., A Critical Overview of the Kabachnik-Fields Reactions Utilizing Trialkyl Phosphites in Water as the Reaction Medium: A Study of the Benzaldehyde-Benzylamine Triethyl Phosphite/Diethyl Phosphite Models: Critical Overview of the Kabachnik-Fields Reactions Utilizing Trialkyl Phosphites in Water as the Reaction Medium, *Heteroatom Chemistry*, **2014**, 25, 4, 282-289
- [15] Varga P.R., Keglevich G., Synthesis of  $\alpha$ -Aminophosphonates and Related Derivatives; The Last Decade of the Kabachnik–Fields Reaction, *Molecules*, **2021**, 26, 2511
- [16] Fields E.K., The Synthesis of Esters of Substituted Amino Phosphonic Acids, *J. Org. Chem.*, **1952**, 17, 1282-1283
- [17] Keglevich G., Bálint E., The Kabachnik–Fields Reaction: Mechanism and Synthetic Use, *Molecules*, **2012**, 17, 12821–12835
- [18] Karpowicz R., Lewkowski J., Morawska M., Miękoś E., Zieliński M., The aza-Pudovik reaction accelerated in external constant magnetic field, *Chemical Papers*, **2016**, 70
- [19] Ali T.E., Abdel-Kariem S.M., Methods for the synthesis of  $\alpha$ -heterocyclic/heteroaryl- $\alpha$ -aminophosphonic acids and their esters, *Arkivoc*, **2015**, 246–287
- [20] Mitchell P.C.H., Jens Hagen. *Industrial catalysis: a practical approach*. Wiley-VCH, *Appl. Organometal. Chem.*, **2007**, 21, 716–716
- [21] Amira A., Aouf Z., K'tir H., Chemam Y., Ghodbane R., Zerrouki R., *et al.*, Recent Advances in the Synthesis of  $\alpha$ -Aminophosphonates: A Review, *ChemistrySelect*, **2021**, 6, 6137–6149
- [22] Subramanyam Ch., Thaslim Basha Sk., Madhava G., Nayab Rasool Sk., Adam Sk., Durga Srinivasa Murthy S., *et al.*, Synthesis, spectral characterization and bioactivity evaluation of novel  $\alpha$ -aminophosphonates, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, **2017**, 192, 267–270
- [23] Karpowicz R., Lewkowski J., Stasiak M., Czopor A., Tokarz P., Król A., *et al.*, Synthesis of novel *N*-(*p*-toluenesulfonyl)aminophosphonates and evaluation of their biological properties, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, **2018**, 193, 423–436
- [24] Boza A.F., Kupfer V.L., Oliveira A.R., Radovanovic E., Rinaldi A.W., Meneguim J.G., *et al.*, Synthesis of  $\alpha$ -aminophosphonates using a mesoporous silica catalyst produced from sugarcane bagasse ash, *RSC Adv.*, **2016**, 6, 23981–23986
- [25] Azaam M.M., Kenawy E.-R., El-din A.S.B., Khamis A.A., El-Magd M.A., Antioxidant and anticancer activities of  $\alpha$ -aminophosphonates containing thiadiazole moiety, *Journal of Saudi Chemical Society*, **2018**, 22, 34–41
- [26] Kumar K.S., Krishna B.S., Reddy C.B., Reddy M.V.N., Reddy C.S., Solvent-free synthesis of  $\alpha$ -aminophosphonates: Cellulose- SO<sub>3</sub>H as an efficient catalyst, *Arabian Journal of Chemistry*, **2017**, 10, S368–S375

- [27] Kumar G.S., Kumar R.A., Kumar P.S., Reddy N.V., Kumar K.V., Kantam M.L., *et al.*, Copper catalyzed oxidative coupling of amines with formamides: a new approach for the synthesis of unsymmetrical urea derivatives, *Chem. Commun.*, **2013**, 49, 6686
- [28] Lashkari M., Synthesis and Crystal Structure Study of Diethyl Aryl(benzo[d]thiazol-2-ylamino)methyl Phosphonates, *Heteroatom Chemistry*, **2013**
- [29] Sudha S.S., Sundar Ch.S., Reddy N.B., Rao K.U.M., Jaya Prakash S.H., Reddy C.S., Synthesis and Bioassay of Ethyl-2-(2-((Diethoxyphosphoryl) (Aryl) Methylamino)Thiazol-4-Yl)-2-(Methoxyimino)Acetates, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, **2013**, 188, 1402–1411
- [30] Gabriela Vogt A., Perin G., Luchese C., Da Silva P.C., Antunes Wilhelm E., Santos Silva M., Organylselanyl  $\alpha$ -Amino Phosphonates: Synthesis, NMR Spectroscopic Study, and Antioxidant and Antinociceptive Activities: Organylselanyl  $\alpha$ -Amino Phosphonates: Synthesis, NMR Spectroscopic Study, and Antioxidant and Antinociceptive Activities, *Eur. J. Org. Chem.*, **2018**, 627–639
- [31] Sreelakshmi P., Santhisudha S., Reddy G.R., Subbarao Y., Peddanna K., Apparao C., *et al.*, Nano-Cu–Au-catalyzed solvent-free synthesis of  $\alpha$ -aminophosphonates and evaluation of their antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase enzyme inhibition activities, *Synthetic Communications*, **2018**, 48, 1148–1163
- [32] Shaik M.S., Nadiveedhi M.R., Gundluru M., Poola S., Allagadda R., Chippada A.R., *et al.*, Green synthesis of diethyl((2-iodo-4-(trifluoromethyl)phenyl)amino)(aryl)methyl)phosphonates as potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitors, *Synthetic Communications*, **2020**, 50, 587–601
- [33] Gundluru M., Badavath V.N., Shaik H.Y., Sudileti M., Nemallapudi B.R., Gundala S., *et al.*, Design, synthesis, cytotoxic evaluation and molecular docking studies of novel thiazolyl  $\alpha$ -aminophosphonates, *Res Chem Intermed*, **2021**, 47, 1139–1160
- [34] Eshghi H., Mirzaei M., Hasanpour M., Mokaber-Esfahani M., Benzimidazolium dicationic ionic liquid as an efficient and reusable catalyst for the synthesis of  $\alpha$ -aminophosphonates and bis ( $\alpha$ -aminophosphonates) under solvent-free condition, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, **2015**, 190, 1606–1620
- [35] Singh M.S., Chowdhury S., Recent developments in solvent-free multicomponent reactions: a perfect synergy for eco-compatible organic synthesis, *RSC Adv.*, **2012**, 2, 4547
- [36] Bálint E., Tajti Á., Ádám A., Csontos I., Karaghiosoff K., Czugler M., *et al.*, The synthesis of  $\alpha$ -aryl- $\alpha$ -aminophosphonates and  $\alpha$ -aryl- $\alpha$ -aminophosphine oxides by the microwave-assisted Pudovik reaction, *Beilstein J. Org. Chem.*, **2017**, 13, 76–86
- [37] Basha M.H., Subramanyam C., Rao K.P., Ultrasound-promoted solvent-free synthesis of some new  $\alpha$ -aminophosphonates as potential antioxidants, *Main Group Metal Chemistry*, **2020**, 43, 147–153

- [38] Sivala M.R., Devineni S.R., Golla M., Medarametla V., Pothuru G.K., Chamarthi N.R., A heterogeneous catalyst, SiO<sub>2</sub>-ZnBr<sub>2</sub>: An efficient neat access for  $\alpha$ -aminophosphonates and antimicrobial activity evaluation, *J Chem Sci*, **2016**, 128, 1303–1313
- [39] Ravikumar D., Mohan S., Subramanyam Ch., Rao K.P., Solvent-free sonochemical kabachnic-fields reaction to synthesize some new  $\alpha$ -aminophosphonates catalyzed by nano-BF<sub>3</sub>•SiO<sub>2</sub>, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, **2018**, 193, 400–407
- [40] Kalla R.M.N., Lim J., Bae J., Kim I., Sulfated choline ionic liquid-catalyzed acetamide synthesis by grindstone method, *Tetrahedron Letters*, **2017**, 58, 1595–1599
- [41] Poola S., Nagaripati S., Tellamekala S., Chintha V., Kotha P., Yagani J.R., *et al.*, Green synthesis, antibacterial, antiviral and molecular docking studies of  $\alpha$ -aminophosphonates, *Synthetic Communications*, **2020**, 50, 2655–2672
- [42] Fernandez B.F., Microwave potential for bioenergy production, *Renewable Energy Focus*, **2015**, 16, 156–159
- [43] Kandula M.K.R., Gundluru M., Nemallapudi B.R., Gundala S., Kotha P., Zyryanov G.V., *et al.*, Synthesis, antioxidant activity, and  $\alpha$ -glucosidase enzyme inhibition of  $\alpha$ -aminophosphonate derivatives bearing piperazine-1,2,3-triazole moiety, *J Heterocyclic Chem*, **2021**, 58, 172–181
- [44] Chinthaparthi R.R., Bhatnagar I., Gangireddy C.S.R., Syama S.C., Cirandur S.R., Green Synthesis of  $\alpha$ -Aminophosphonate Derivatives on a Solid Supported TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub> Catalyst and Their Anticancer Activity:  $\alpha$ -Aminophosphonates as Potential Anticancer Drugs, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, **2013**, 346, 667–676
- [45] Gundluru M., Sarva S., Kandula M.K.R., Netala V.R., Tartte V., Cirandur S.R., Phosphosulfonic acid-catalyzed green synthesis and bioassay of  $\alpha$ -aryl- $\alpha'$ -1,3,4-thiadiazolyl aminophosphonates, *Heteroatom Chem*, **2016**, 27, 269–278
- [46] Reddy K., Santhisudha S., Mohan G., Peddanna K., Rao C.A., Suresh Reddy C., Nano Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalyzed synthesis and anti-oxidant activity of new  $\alpha$ -aminophosphonates, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, **2016**, 191, 933–938
- [47] Xie D., Zhang A., Liu D., Yin L., Wan J., Zeng S., *et al.*, Synthesis and antiviral activity of novel  $\alpha$ -aminophosphonates containing 6-fluorobenzothiazole moiety, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, **2017**, 192, 1061–1067
- [48] Sudileti M., Chintha V., Nagaripati S., Gundluru M., Yasmin S.H., Wudayagiri R., *et al.*, Green synthesis, molecular docking, anti-oxidant and anti-inflammatory activities of  $\alpha$ -aminophosphonates, *Med Chem Res*, **2019**, 28, 1740–1754
- [49] Hudson H.R., Tajti Á., Bálint E., Czugler M., Karaghiosoff K., Keglevich G., Microwave-assisted synthesis of  $\alpha$ -aminophosphonates with sterically demanding  $\alpha$ -aryl substituents, *Synthetic Communications*, **2020**, 50, 1446–1455



- [50] Fiore C., Sovic I., Lukin S., Halasz I., Martina K., Delogu F., *et al.*, Kabachnik–Fields Reaction by Mechanochemistry: New Horizons from Old Methods, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **2020**, 8, 18889–18902
- [51] Keglevich G., Henyecz R., Mucsi Z., Focusing on the Catalysts of the Pd- and Ni-Catalyzed Hirao Reactions, *Molecules*, **2020**, 25, 3897
- [52] Huszár B., Mucsi Z., Szolga R., Keglevich G., New data on the Hirao reaction; The use of Cu(II) salts as the catalyst precursor under microwave irradiation in the absence of added P-ligands, *Journal of Organometallic Chemistry*, **2022**, 982, 122526
- [53] Henyecz R., Keglevich G., New Developments on the Hirao Reactions, Especially from “Green” Point of View, *COS*, **2019**, 16, 523–545
- [54] Horsman G.P., Zechel D.L., Phosphonate Biochemistry, *Chem. Rev.*, **2017**, 117, 5704–5783
- [55] Gregory R.D., Hudson P.J., Parasites take control, *Nature*, **2000**, 406, 33–34
- [56] Kleps R.A., Myers T.C., Lipcius R.N., Henderson T.O., A Sex-Specific Metabolite Identified in a Marine Invertebrate Utilizing Phosphorus-31 Nuclear Magnetic Resonance, *PLoS ONE*, **2007**
- [57] Turcheniuk K.V., Kukhar V.P., Rösenthaller G.-V., Aceña J.L., Soloshonok V.A., Sorochinsky A.E., Recent advances in the synthesis of fluorinated aminophosphonates and aminophosphonic acids, *RSC Adv.*, **2013**, 3, 6693
- [58] Kafarski P., Lejczak B., BIOLOGICAL ACTIVITY OF AMINOPHOSPHONIC ACIDS, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, **1991**, 63, 193–215
- [59] Kim H., Chin J., Choi H., Baek K., Lee T.-G., Park S.E., *et al.*, Phosphoiodins A and B, Unique Phosphorus-Containing Iodinated Polyacetylenes from a Korean Sponge *Placospongia* sp., *Org. Lett.*, **2013**, 15, 100–103
- [60] Kafarski P., Phosphonates: Their Natural Occurrence and Physiological Role, In: G. Churchill, D., Dutour Sikirić, M., Čolović, B., Füredi Milhofer, H. (Eds.), *Contemporary Topics about Phosphorus in Biology and Materials*, IntechOpen, **2020**
- [61] Clercq E.D., Holý A., Acyclic nucleoside phosphonates: a key class of antiviral drugs, *Nat Rev Drug Discov*, **2005**, 4, 928–940
- [62] Rodríguez-Centeno J., Esteban-Cantos A., Montejano R., Stella-Ascariz N., De Miguel R., Mena-Garay B., *et al.*, Effects of tenofovir on telomeres, telomerase and T cell maturational subset distribution in long-term aviraemic HIV-infected adults, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2022**, 77, 1125–1132
- [63] Niemiec M., Niemiec A., Endocrine and metabolic disorders in cancer patients, *Palliat Med Pract*, **2021**, 15, 203–211
- [64] Oldfield E., Lin F.-Y., Terpene Biosynthesis: Modularity Rules, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, 51, 1124–1137

- [65] Yan Y., Chu Y., Khan M., Xia M., Facile immobilization of ethylenediamine tetramethylene-phosphonic acid into UiO-66 for toxic divalent heavy metal ions removal: An experimental and theoretical exploration, *Science of The Total Environment*, **2022**, 806
- [66] Dobrzański A., *Ochrona warzyw przed chwastami*, wyd.2., Wydawnictwo Leśne i Rolnicze, Warszawa, **2010**
- [67] Robak J., Rogowska M., Anyszka Z., Integrated pest management of vegetables in Poland – current research and implementation into practice, *Progress in Plant Protection*, **2012**
- [68] Seńczuk W., *Toksykologia współczesna*, PZWL Wydawnictwo Lekarskie, Warszawa, **2013**
- [69] Ustawa z dnia 18 grudnia 2003 r. o ochronie roślin, Dz. U. 2004 Nr 11 poz. 94, 2008
- [70] EPA United States Environmental Protection Agency, EPA United States Environmental Protection Agency, Basic Information about Pesticide Ingredients, <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/basic-information-about-pesticide-ingredients>, Dostęp: 07.07.2022
- [71] Banaszkiewicz T., *Chemiczne środki ochrony roślin - zagadnienia ogólne*, Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego, Olsztyn, **2003**
- [72] Villalobos F.J., Fereres E., Application of Herbicides and Other Biotic Control Agents, In: Villalobos, F.J., Fereres, E. (Eds.), *Principles of Agronomy for Sustainable Agriculture*, Springer International Publishing, Cham, **2016**, 471–485
- [73] Lu H., Yu Q., Han H., Owen M.J., Powles S.B., Non-target-site resistance to PDS-inhibiting herbicides in a wild radish population, *Pest Manag Sci*, **2020**, 76, 2015–2020
- [74] Reboud X., Majerus N., Gasquez J., Powles S., *Chlamydomonas reinhardtii* as a model system for pro-active herbicide resistance evolution research: EXPERIMENTAL RESISTANCE EVOLUTION, *Biological Journal of the Linnean Society*, **2007**, 91, 257–266
- [75] Barchanska H., Sajdak M., Szczypka K., Swientek A., Tworek M., Kurek M., Atrazine, triketone herbicides, and their degradation products in sediment, soil and surface water samples in Poland, *Environ Sci Pollut Res*, **2017**, 24, 644–658
- [76] Singh J., Yadav A.N. (Eds.), *Natural Bioactive Products in Sustainable Agriculture*, Springer Singapore, Singapore, **2020**
- [77] Yamaji Y., Honda H., Hanai R., Inoue J., Soil and environmental factors affecting the efficacy of pyroxasulfone for weed control, *Journal of Pesticide Science*, **2016**, 41, 1–5
- [78] Nicolopoulou-Stamati P., Maipas S., Kotampasi C., Stamatis P., Hens L., Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture, *Front. Public Health*, **2016**, 4

- [79] Ahmad K.S., Pedospheric sorption investigation of sulfonyl urea herbicide Triasulfuron via regression correlation analysis in selected soils, *S.Afr.j.Chem.*, **2017**, 70
- [80] Resistance Action Committee Apps, Resistance Action Committee Apps, HRAC, GLOBAL HERBICIDE CLASSIFICATION LOOKUP, <https://hracglobal.com/tools/classification-lookup>, Dostęp 12.03.2023
- [81] Rejestr Środków Ochrony Roślin - Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi - Portal Gov.pl ([www.gov.pl](http://www.gov.pl)), <http://www.gov.pl/web/rolnictwo/rejestr-rodkow-ochrony-roslin>, Dostęp: 10.05.2023.
- [82] Adamczewski K., *Odporność chwastów na herbicydy*, PWN, Warszawa, **2014**
- [83] Napropamid: <https://www.sigmaaldrich.com/PL/pl/product/sial/36175>, Dostęp: 12.03.2023.
- [84] Clomazone: <https://www.sigmaaldrich.com/PL/pl/substance/clomazone2397081777891>, Dostęp: 03.05.2023.
- [85] Flufenacet PESTANAL, analytical standard <https://www.sigmaaldrich.com/PL/pl/product/sial/31718> Dostęp: 04.01.2022.
- [86] Eskin M., *Quality and Preservation of Fruits*, CRC Press, **2018**
- [87] Das T.K., Das D.K., Using chemical seed dormancy breakers with herbicides for weed management in soyabean and wheat, *Weed Res*, **2018**, 58, 188–199
- [88] Das T.K., Ahlawat I.P.S., Yaduraju N.T., Littleseed canarygrass (*Phalaris minor*) resistance to clodinafop-propargyl in wheat fields in north-western India: Appraisal and management: Littleseed canarygrass resistance to clodinafop, *Weed Biology and Management*, **2014**, 14, 11–20
- [89] Das G., Biswal B.P., Kandambeth S., Venkatesh V., Kaur G., Addicoat M., *et al.*, Chemical sensing in two dimensional porous covalent organic nanosheets, *Chem. Sci.*, **2015**, 6, 3931–3939
- [90] Tadeo J.L. (Ed.), *Analysis of pesticides in food and environmental samples*, Second edition, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, **2019**
- [91] Busi R., Powles S.B., Beckie H.J., Renton M., Rotations and mixtures of soil-applied herbicides delay resistance, *Pest. Manag. Sci.*, **2020**, 76, 487–496
- [92] Kwiatkowska M., Jarosiewicz P., Bukowska B., Glyphosate and its formulations - toxicity, occupational and environmental exposure, *Med Pr*, **2013**
- [93] Turnage G., Wersal R.M., Madsen J.D., Torpedograss control via submersed applications of systemic and contact herbicides in mesocosms, *J. Aquat. Plant Manage.*, **2020**

- [94] Singh V.P., Dhyani V.C., Singh S.P., Kumar A., Manalil S., Chauhan B.S., Effect of herbicides on weed management in dry-seeded rice sown under different tillage systems, *Crop Protection*, **2016**, 80, 118–126
- [95] Sidhu G.K., Singh S., Kumar V., Dhanjal D.S., Datta S., Singh J., Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: A review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **2019**, 49, 1135–1187
- [96] Singh S., Kumar V., Singh J., Kinetic study of the biodegradation of glyphosate by indigenous soil bacterial isolates in presence of humic acid, Fe(III) and Cu(II) ions, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **2019**, 7, 103098
- [97] Singh S., Kumar V., Datta S., Wani A.B., Dhanjal D.S., Romero R., *et al.*, Glyphosate uptake, translocation, resistance emergence in crops, analytical monitoring, toxicity and degradation: a review, *Environ Chem Lett*, **2020**, 18, 663–702
- [98] Vats S., Herbicides: History, Classification and Genetic Manipulation of Plants for Herbicide Resistance, In: Lichtfouse, E. (Ed.), *Sustainable Agriculture Reviews*, Springer International Publishing, Cham, **2015**, 153–192
- [99] Beasley V.R., Direct and Indirect Effects of Environmental Contaminants on Amphibians, In: Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, Elsevier, **2020**.
- [100] Bruckner A., Schmerbauch A., Ruess L., Heigl F., Zaller J., Foliar Roundup application has minor effects on the compositional and functional diversity of soil microorganisms in a short-term greenhouse experiment, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2019**, 174, 506–513
- [101] Bacon M.-H., Vandelac L., Gagnon M.-A., Parent L., Poisoning Regulation, Research, Health, and the Environment: The Glyphosate-Based Herbicides Case in Canada, *Toxics*, **2023**, 11, 121
- [102] Mertens M., Höss S., Neumann G., Afzal J., Reichenbecher W., Glyphosate, a chelating agent—relevant for ecological risk assessment?, *Environ Sci Pollut Res*, **2018**, 25, 5298–5317
- [103] Jarrell Z.R., Ahammad M.U., Benson A.P., Glyphosate-based herbicide formulations and reproductive toxicity in animals, *Veterinary and Animal Science*, **2020**, 10, 100126
- [104] Duke S.O., The history and current status of glyphosate: History and current status of glyphosate, *Pest. Manag. Sci*, **2018**, 74, 1027–1034
- [105] Ribeiro D.N., Nandula V.K., Dayan F.E., Rimando A.M., Duke S.O., Reddy K.N., *et al.*, Possible Glyphosate Tolerance Mechanism in Pitted Morningglory (*Ipomoea lacunosa* L.), *J. Agric. Food Chem.*, **2015**, 63, 1689–1697
- [106] Myers J.P., Antoniou M.N., Blumberg B., Carroll L., Colborn T., Everett L.G., *et al.*, Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement, *Environ Health*, **2016**, 15, 19

- [107] Nandula V.K., Tehranchian P., Bond J.A., Norsworthy J.K., Eubank T.W., Glyphosate resistance in common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) from Mississippi, USA: Glyphosate-resistant common ragweed, *Weed Biol. Manag.*, **2017**, 17, 45–53
- [108] Imran M., Asad S., Barboza A.L., Galeano E., Carrer H., Mukhtar Z., Genetically transformed tobacco plants expressing synthetic EPSPS gene confer tolerance against glyphosate herbicide, *Physiol Mol Biol Plants*, **2017**, 23, 453–460
- [109] Colbach N., Fernier A., Le Corre V., Messéan A., Darmency H., Simulating changes in cropping practises in conventional and glyphosate-tolerant maize. I. Effects on weeds, *Environ Sci Pollut Res*, **2017**, 24, 11582–11600
- [110] Shirzadifar A., Bajwa S., Nowatzki J., Shojaeiarani J., Development of spectral indices for identifying glyphosate-resistant weeds, *Computers and Electronics in Agriculture*, **2020**, 170, 105276
- [111] U.S. Environmental Protection Agency Pesticide Industry Sales and Usage, 2008–2012 Market Estimates Biological and Economic Analysis Division, Washington, D.C (2017) <https://www.epa.gov/pesticides/pesticides-industry-sales-and-usage-2008-2012-market-estimates> Dostęp: 08.07.2020.
- [112] International Agency for Research on Cancer. **2015**. Glyphosate. In: Some Organophosphate Insecticides and Herbicides: Diazinon, Glyphosate, Malathion, Parathion, Tetrachlorvinphos. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol112/index.php>. Dostęp: 12.03.2023.
- [113] Md Meftaul I., Venkateswarlu K., Dharmarajan R., Annamalai P., Megharaj M., Pesticides in the urban environment: A potential threat that knocks at the door, *Science of The Total Environment*, **2020**, 711, 134612
- [114] Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. 2016. JOINT FAO/WHO MEETING ON PESTICIDE RESIDUES. <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/guidelines-standards/faowho-joint-meeting-on-pesticide-residues-jmpr/en/> Dostęp: 02.03.2023.
- [115] Agostini L.P., Dettogni R.S., Dos Reis R.S., Stur E., Dos Santos E.V.W., Ventrone D.P., *et al.*, Effects of glyphosate exposure on human health: Insights from epidemiological and *in vitro* studies, *Science of The Total Environment*, **2020**, 705, 135808
- [116] Grain Millers Inc. Glyphosate and Oats. <https://www.grainmillers.com/glyphosatepolicy/> Dostęp: 10.02.2023.
- [117] Andreotti G., Koutros S., Hofmann J.N., Sandler D.P., Lubin J.H., Lynch C.F., *et al.*, Glyphosate Use and Cancer Incidence in the Agricultural Health Study, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **2018**, 110, 509–516
- [118] United States Environmental Protection Agency, <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/glyphosate> Dostęp: 12.03.2023.

- [119] Review of the existing maximum residue levels for glyphosate according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005—revised version to take into account omitted data. European Food Safety Authority (EFSA), <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2019.5862>. Dostęp: 08.05.2023.
- [120] Leon M.E., Schinasi L.H., Lebailly P., Beane Freeman L.E., Nordby K.-C., Ferro G., *et al.*, Pesticide use and risk of non-Hodgkin lymphoid malignancies in agricultural cohorts from France, Norway and the USA: a pooled analysis from the AGRICOH consortium, *International Journal of Epidemiology*, **2019**, 48, 1519–1535
- [121] Zhang L., Rana I., Shaffer R.M., Taioli E., Sheppard L., Exposure to glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis and supporting evidence, *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, **2019**, 781, 186–206
- [122] Sustainable Pulse Glyphosate Herbicides Now Banned or Restricted in 20 Countries Worldwide—Sustainable Pulse Research <https://sustainablepulse.com/glyphosate-herbicides-now-banned-or-restricted-in-17-countries-worldwide-sustainable-pulse-research/#.XfLW7UeDBUW>, Dostęp: 12.03.2023.
- [123] Mac Loughlin T.M., Peluso M.L., Aparicio V.C., Marino D.J.G., Contribution of soluble and particulate-matter fractions to the total glyphosate and AMPA load in water bodies associated with horticulture, *Science of The Total Environment*, **2020**, 703, 134717
- [124] Lutri V.F., Matteoda E., Blarasin M., Aparicio V., Giacobone D., Maldonado L., *et al.*, Hydrogeological features affecting spatial distribution of glyphosate and AMPA in groundwater and surface water in an agroecosystem. Córdoba, Argentina, *Science of The Total Environment*, **2020**, 711, 134557
- [125] Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2022/2364 z dnia 2 grudnia 2022 r. zmieniające rozporządzenie wykonawcze (UE) nr 540/2011 w odniesieniu do przedłużenia okresu zatwierdzenia substancji czynnej glifosatu.
- [126] Defarge N., Spiroux De Vendômois J., Séralini G.E., Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides, *Toxicology Reports*, **2018**, 5, 156–163
- [127] Guerrero Schimpf M., Milesi M.M., Ingaramo P.I., Luque E.H., Varayoud J., Neonatal exposure to a glyphosate based herbicide alters the development of the rat uterus, *Toxicology*, **2017**, 376, 2–14
- [128] European Food Safety Authority (EFSA), Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate, *EFS2*, **2015**, 13
- [129] Brunetti R., Maradey J.A., Dearmin R.S., Belford P.M., Bhave P.D., Electrocardiographic abnormalities associated with acute glyphosate toxicity., *Heart Rhythm Case Reports*, **2019**, 63-66.

- [130] Von Ehrenstein O., Ling C., Cui X., Cockburn M., Park A., Prenatal and infant exposure to ambient pesticides and autism spectrum disorder in children: population based case-control study, *BMJ*, **2019**, 14032
- [131] Martínez M.-A., Rodríguez J.-L., Lopez-Torres B., Martínez M., Martínez-Larrañaga M.-R., Maximiliano J.-E., *et al.*, Use of human neuroblastoma SH-SY5Y cells to evaluate glyphosate-induced effects on oxidative stress, neuronal development and cell death signaling pathways, *Environment International*, **2020**, 135, 105414
- [132] Portier C.J., A comprehensive analysis of the animal carcinogenicity data for glyphosate from chronic exposure rodent carcinogenicity studies, *Environ Health*, **2020**, 19, 18
- [133] Wang H., Jin M., Mao W., Chen C., Fu L., Li Z., *et al.*, Photosynthetic toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on green algae *Scenedesmus obliquus*, *Science of The Total Environment*, **2020**, 707, 136176
- [134] Ren L., Wang P., Wang C., Chen J., Hou J., Qian J., Algal growth and utilization of phosphorus studied by combined mono-culture and co-culture experiments, *Environmental Pollution*, **2017**, 220, 274–285
- [135] Annett R., Habibi H.R., Hontela A., Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment: Impact of glyphosate-based herbicides, *J. Appl. Toxicol.*, **2014**, 34, 458–479
- [136] Bai S.H., Ogbourne S.M., Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination, *Environ Sci Pollut Res*, **2016**, 23, 18988–19001
- [137] Kurenbach B., Marjoshi D., Amábile-Cuevas C.F., Ferguson G.C., Godsoe W., Gibson P., *et al.*, Sublethal Exposure to Commercial Formulations of the Herbicides Dicamba, 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid, and Glyphosate Cause Changes in Antibiotic Susceptibility in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *MBio*, **2015**, 6
- [138] Ramakrishnan B., Venkateswarlu K., Sethunathan N., Megharaj M., Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance?, *Science of The Total Environment*, **2019**, 654, 177–189
- [139] Niedobová J., Skalský M., Ouředníčková J., Michalko R., Bartošková A., Synergistic effects of glyphosate formulation herbicide and tank-mixing adjuvants on *Pardosa* spiders, *Environmental Pollution*, **2019**, 249, 338–344
- [140] Tsui M.T.K., Chu L.M., Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors, *Chemosphere*, **2003**, 52, 1189–1197

- [141] Wagner N., Reichenbecher W., Teichmann H., Tappeser B., Lötters S., Questions concerning the potential impact of glyphosate-based herbicides on amphibians: Impact of glyphosate-based herbicides on amphibians, *Environ Toxicol Chem*, **2013**, 32, 1688–1700
- [142] Lugowska K., The effects of Roundup on gametes and early development of common carp (*Cyprinus carpio* L), *Fish Physiol Biochem*, **2018**, 44, 1109–1117
- [143] Carpenter J.K., Monks J.M., Nelson N., The effect of two glyphosate formulations on a small, diurnal lizard (*Oligosoma polychroma*), *Ecotoxicology*, **2016**, 25, 548–554
- [144] Burella P.M., Simoniello M.F., Poletta G.L., Evaluation of Stage-Dependent Genotoxic Effect of Roundup® (Glyphosate) on *Caiman latirostris* Embryos, *Arch Environ Contam Toxicol*, **2017**, 72, 50–57
- [145] Mestre A.P., Amavet P.S., Siroski P.A., Baseline values of immunologic parameters in the lizard *Salvator merianae* (*Teiidae*, Squamata), *Open Vet J.*, **2017**, 7, 143
- [146] Fathi M.A., Han G., Kang R., Shen D., Shen J., Li C., Disruption of cytochrome P450 enzymes in the liver and small intestine in chicken embryos in ovo exposed to glyphosate, *Environ Sci Pollut Res*, **2020**, 27, 16865–16875
- [147] Fathi M.A., Abdelghani E., Shen D., Ren X., Dai P., Li Z., *et al.*, Effect of in ovo glyphosate injection on embryonic development, serum biochemistry, antioxidant status and histopathological changes in newly hatched chicks, *J Anim Physiol Anim Nutr*, **2019**, 103, 1776–1784
- [148] Bonfanti P., Saibene M., Bacchetta R., Mantecca P., Colombo A., A glyphosate micro-emulsion formulation displays teratogenicity in *Xenopus laevis*, *Aquatic Toxicology*, **2018**, 195, 103–113
- [149] Riaño C., Ortiz-Ruiz M., Pinto-Sánchez N.R., Gómez-Ramírez E., Effect of glyphosate (Roundup Active®) on liver of tadpoles of the colombian endemic frog *Dendropsophus molitor* (amphibia: Anura), *Chemosphere*, **2020**, 250, 126287
- [150] Rychter P., Chitosan/glyphosate formulation as a potential, environmental friendly herbicide with prolonged activity, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, **2019**, 54, 681–692
- [151] Zulet-González A., Barco-Antoñanzas M., Gil-Monreal M., Royuela M., Zabalza A., Increased Glyphosate-Induced Gene Expression in the Shikimate Pathway Is Abolished in the Presence of Aromatic Amino Acids and Mimicked by Shikimate, *Front. Plant Sci.*, **2020**, 11, 459
- [152] Rogacz D., Lewkowski J., Cal D., Rychter P., Ecotoxicological effects of new C-substituted derivatives of N-phosphonomethylglycine (glyphosate) and their preliminary evaluation towards herbicidal application in agriculture, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2020**, 194, 110331
- [153] Devendar P., Yang G.-F., Sulfur-Containing Agrochemicals, *Top Curr Chem (Z)*, **2017**, 375, 82



- [154] Sondhia S., Choudhury P.P., Sharma A.R. (Eds.), *Herbicide Residue Research in India*, Springer Singapore, Singapore, **2019**
- [155] Fadda A.A., Tawfik E.H., Selim Y.A., *Synthesis and Biological Evaluation of Some New Thiophene, Thiazole, Dithiolane Derivatives and Related Compounds, Polycyclic Aromatic Compounds*, **2020**, 40, 1445–1458
- [156] Zhao W., Xu L., Li D., Li X., Wang C., Zheng M., *et al.*, *Biodegradation of thifensulfuron-methyl by Ochrobactrum sp. in liquid medium and soil*, *Biotechnol Lett*, **2015**, 37, 1385–1392
- [157] Rogacz D., Lewkowski J., Siedlarek M., Karpowicz R., Kowalczyk A., Rychter P., *The Effect of New Thiophene-Derived Diphenyl Aminophosphonates on Growth of Terrestrial Plants*, *Materials*, **2019**, 12, 2018
- [158] Scott K.A., Njardarson J.T., *Analysis of US FDA-Approved Drugs Containing Sulfur Atoms*, *Top Curr Chem (Z)*, **2018**, 376, 5
- [159] Medo J., Hricáková N., Maková J., Medová J., Omelka R., Javoreková S., *Effects of sulfonylurea herbicides chlorsulfuron and sulfosulfuron on enzymatic activities and microbial communities in two agricultural soils*, *Environ Sci Pollut Res*, **2020**, 27, 41265–41278
- [160] Praczyk T., Skrzypczak G., *Herbicydy*, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, **2004**
- [161] PN-R-04032:1998, *Gleby i utwory mineralne - Pobieranie próbek i oznaczanie składu granulometrycznego.*
- [162] PN-EN ISO 10390:2022-09, *Gleba, uzdatnione bioodpady oraz osady ściekowe - Oznaczanie pH.*
- [163] PN-ISO 11265:1997, *Jakość gleby - Oznaczanie przewodności elektrycznej właściwej.*
- [164] PN-ISO 10694:2002 - wersja polska *Jakość gleby -- Oznaczanie zawartości węgla organicznego i całkowitej zawartości węgla po suchym spalaniu (analiza elementarna).*
- [165] *Terrestrial plant test: Seedling emergence and seedling growth test.* In *OECD/OCDE Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 2. Effects on Biotic Systems*; Organization for Economic and Cooperation Development (OECD) Publishing: Paris, France, 2006; ISSN 20745761.
- [166] *Owies zwyczajny*, <https://zdrowa-kuchnia.com/ziolo/owies-zwyczajny/>, Dostęp: 12.05.2023.
- [167] *Rzodkiewka zwyczajna*, <https://zdrowa-kuchnia.com/ziolo/rzodkiewka-zwyczajna/>, Dostęp: 12.05.2023.

- [168] Sz wajczak E., Sierka E., Ludynia M., Potential Role of Low-Molecular-Weight Dioxolanes as Adjuvants for Glyphosate-Based Herbicides Using Photosystem II as an Early Post-Treatment Determinant, *Cells*, **2023**, 12, 777
- [169] Szczaw zwyczajny, [https://zielnik-karpacki.pl/atlas-roslin/roslina/szczaw\\_zwyczajny](https://zielnik-karpacki.pl/atlas-roslin/roslina/szczaw_zwyczajny), Dostęp 12.05.2023.
- [170] Komosa biała, <https://www.warzywaiowoce.pl/articles/ochrona-roslin/komosa-biala-chenopodium-album-2347132#&gid=1&pid=1>, Dostęp: 12.05.2023.
- [171] Żółtlica drobnokwiatowa, <https://identify.plantnet.org/pl/the-plant-list/species/Galinsoga%20parviflora%20Cav./data>, Dostęp: 13.05.2023.
- [172] Bakterie *Allivibrio fischeri*, [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/File:Vibrio\\_fischeri\\_1145457864.jpg](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/File:Vibrio_fischeri_1145457864.jpg), Dostęp: 13.05.2023
- [173] Microtox, <https://tigret.eu/produkty/ekotoksykologia/toxkit-i-microtox/microtox/microtox-solo-pojedyczy-test-ostry>, Dostęp: 12.05.2023
- [174] Skorupiaki *Heterocypris incongruens*, <https://www.theguardian.com/environment/2019/mar/26/specieswatch-ancient-crustaceans-still-going-strong-after-450m-years>, Dostęp: 13.05.2023
- [175] <https://www.microbiotests.com/wp-content/uploads/2019/03/microbiotests-ostracodtoxkit-f-sediment-toxicity-test.png>, Dostęp: 04.04.2023
- [176] Cal D., A Convenient Synthesis of  $\omega$ -[(Arylphosphonomethyl)Amino] Alkylphosphonic and Carboxylic Acids via in Situ-Generated Arylideneaminoalkyl-Phosphonic or Carboxylic Acids, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, **2010**, 185, 816–824
- [177] Oren A., Kühl M., Karsten U., An endoevaporitic microbial mat within a gypsum crust: zonation of phototrophs, photopigments, and light penetration, *Mar Ecol Prog Ser*, **1995**, 128
- [178] European Weed Research Council – EWRC. Report of the 3th and 4th meetings of EWRC – Committee of methods in weed research, *Weed Res.* **1964**, 4, 88, n.d.
- [179] Lewkowski J., Malinowski Z., Matusiak A., Morawska M., Rogacz D., Rychter P., The Effect of New Thiophene-Derived Aminophosphonic Derivatives on Growth of Terrestrial Plants: A Seedling Emergence and Growth Test, *Molecules*, **2016**, 21, 694
- [180] Matusiak A., Lewkowski J., Rychter P., Biczak R., Phytotoxicity of New Furan-derived Aminophosphonic Acids, *N* -Aryl Furaldimines and 5-Nitrofuraldimine, *J. Agric. Food Chem.*, **2013**, 61, 7673–7678
- [181] Rogacz D., Lewkowski J., Malinowski Z., Matusiak A., Morawska M., Rychter P., Effect of New Thiophene-Derived Aminophosphonic Derivatives on Growth of Terrestrial

Plants. Part 2. Their Ecotoxicological Impact and Phytotoxicity Test Toward Herbicidal Application in Agriculture, *Molecules*, **2018**, 23, 3173

[182] Liwarska-Bizukojc E., Effect of Innovative Bio-Based Plastics on Early Growth of Higher Plants, *Polymers*, **2023**, 15, 438

[183] Campbell N. A., *Biologia Campbella*, tłum. K. Stobrawa i in., Rebis, Poznań, **2019**

[184] Spormann S., Nadais P., Sousa F., Pinto M., Martins M., Sousa B., *et al.*, Accumulation of Proline in Plants under Contaminated Soils—Are We on the Same Page?, *Antioxidants*, **2023**, 12, 666

[185] Wang B., Liu J., Wang C., Zhang X., Effects of drawing damage on root growth and soil reinforcement of *Hippophae rhamnoides* in a coal mining subsidence area, *International Journal of Phytoremediation*, **2022**, 24, 409–419

[186] Liwarska-Bizukojc E., Inhibicja wzrostu korzeni roślin przez anionowe i niejonowe substancje powierzchniowo czynne, *Ekotoksykologia w Ochronie*, **2008**

[187] Bernier Brillon J., Lucotte M., Tremblay G., Smedbol É., Paquet S., Impacts of glyphosate-based herbicide on leaf stomatal density and biomass production of transgenic soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) and corn (*Zea mays* L.), *Acta Physiol Plant*, **2023**, 45, 68

[188] Tanaka Y., Fujii K., Shiraiwa T., Variability of Leaf Morphology and Stomatal Conductance in Soybean [ *Glycine max* (L.) Merr.] Cultivars, *Crop Sci.*, **2010**, 50, 2525–2532

[189] O Gwatidzo V., Chipomho J., Parwada C., Understanding Mechanisms of Herbicide Selectivity in Agro-Ecosystems: A Review, *Advanced Chemicobiology Research*, **2023**, 77–86

[190] Hodge A., Berta G., Doussan C., Merchan F., Crespi M., Plant root growth, architecture and function, *Plant Soil*, **2009**, 321, 153–187

[191] Kováč J., Lux A., Vaculík M., Formation of a subero-lignified apical deposit in root tip of radish (*Raphanus sativus*) as a response to copper stress, *Annals of Botany*, **2018**

[192] Rozporządzenie Komisji (UE) NR 283/2013 z dnia 1 marca 2013 r. ustanawiające wymogi dotyczące danych dla substancji czynnych, zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 dotyczącym wprowadzania do obrotu środków ochrony roślin, n.d.

[193] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 z dnia 21 października 2009 r. dotyczące wprowadzania do obrotu środków ochrony roślin i uchylające dyrektywy Rady 79/117/EWG i 91/414/EWG

[194] Khan A., Nasrullah A., Ullah Z., Khan Z., An Overview on Phytotoxic Perspective of Ionic Liquids and Deep Eutectic Solvents: The Role of Chemical Structure in the Phytotoxicity, *ChemBioEng Reviews*, **2023**, 10, 174–194

- [195] Biczak R., Pawłowska B., Podsiadło C., Śnioszek M., Telesiński A., The reaction of cucumber to the introduction of ionic liquids into the soil, *Environ Sci Pollut Res*, **2020**, *27*, 34182–34198
- [196] Pawłowska B., Telesiński A., Biczak R., Phytotoxicity of ionic liquids, *Chemosphere*, **2019**, *237*, 124436
- [197] Tobiasz-Salach R., Krochmal-Marczak B., Bobrecka-Jamro D., Ocena wpływu nawożenia dolistnego na plonowanie i skład chemiczny nasion gryki (*fagopyrum esculentum moench*), *Fragm. Agron.*, **2018**, *35*, 106–114
- [198] Smedbol É., Lucotte M., Maccario S., Gomes M.P., Paquet S., Moingt M., *et al.*, Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid Content in Glyphosate-Resistant Soybean Leaves, Stems, and Roots and Associated Phytotoxicity Following a Single Glyphosate-Based Herbicide Application, *J. Agric. Food Chem.*, **2019**, *67*, 6133–6142
- [199] Ara R., Ashiq U., Mahroof-Tahir M., Maqsood Z.T., Khan K.M., Lodhi M.A., *et al.*, Chemistry, Urease Inhibition, and Phytotoxic Studies of Binuclear Vanadium(IV) Complexes, *C&B*, **2007**, *4*, 58–71
- [200] Nakatani M., Ito M., Yoshimura T., Miyazaki M., Ueno R., Kawasaki H., *et al.*, Synthesis and herbicidal activity of 3-[(hetero)aryl]methanesulfonyl-4,5-dihydro-1,2-oxazole derivative; Discovery of the novel pre-emergence herbicide pyroxasulfone, *Journal of Pesticide Science*, **2016**, *41*, 133–144
- [201] Doležal K., Popa I., Hauserová E., Spíchal L., Chakrabarty K., Novák O., *et al.*, Preparation, biological activity and endogenous occurrence of N6-benzyladenosines, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2007**, *15*, 3737–3747
- [202] Bairu M.W., Stirk W.A., Dolezal K., Van Staden J., Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: can meta-topolin and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin?, *Plant Cell Tiss Organ Cult*, **2007**, *90*, 15–23
- [203] Liang P., Shen S., Xu Q., Wang S., Jin S., Lu H., *et al.*, Design, synthesis biological activity, and docking of novel fluopyram derivatives containing guanidine group, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2021**, *29*, 115846
- [204] Yonova P.A., Stoilkova G.M., Synthesis and Biological Activity of Urea and Thiourea Derivatives from 2-Aminoheterocyclic Compounds, *J Plant Growth Regul*, **2004**, *23*, 280–291
- [205] Evidente A., Andolfi A., Cimmino A., Relationships between the stereochemistry and biological activity of fungal phytotoxins, *Chirality*, **2011**, *23*, 674–693
- [206] Kim B.-G., Sung S.H., Chong Y., Lim Y., Ahn J.-H., Plant Flavonoid O-Methyltransferases: Substrate Specificity and Application, *J. Plant Biol.*, **2010**, *53*, 321–329
- [207] Carbonell A., Aycart M., Callaba A., Escobar V., Fresno A., Pablos M., *et al.*, Environmental hazard classification criteria for chemical substances: an integrated

classification approach to identify the danger of chemical substances to terrestrial ecosystems. Development of specific criteria. Ministerio de Medio Ambiente, Centro de Publicaciones, Spain., Ministerio de Medio Ambiente, Centro de Publicaciones, Spain., **1997**

[208] Piotrowicz-Cieślak A.I., Adomas B., Michalczyk D.J., Different Glyphosate Phytotoxicity of Seeds and Seedlings of Selected Plant Species, **2012**

[209] Sikorski Ł., Baciak M., Bęś A., Adomas B., The effects of glyphosate-based herbicide formulations on *Lemna minor*, a non-target species, *Aquatic Toxicology*, **2019**, 209, 70–80

[210] Turek M., Biczak R., Pawłowska B., Różycka-Sokołowska E., Owsianik K., Marciniak B., *et al.*, The need to change the approach to the safe use of herbicides by developing chiral and environmentally friendly formulations: a series of enantioselective (*R*)- and (*S*)-phenylethylammonium chloroacetates, *Green Chem.*, **2022**, 24, 1693–1703

[211] Osiecka R., Janas K.M., Mitodepressive and clastogenic effects of some aminophosphonates, inhibitors of phenylalanine ammonia-lyase. I. 2-aminoindan-2-phosphonic acid, *Plant Physiology and Biochemistry*, **1998**, 36, 805–808

[212] Oukarroum A., Bussotti F., Goltsev V., Kalaji H.M., Correlation between reactive oxygen species production and photochemistry of photosystems I and II in *Lemna gibba* L. plants under salt stress, *Environmental and Experimental Botany*, **2015**, 109, 80–88

[213] Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., *et al.*, Evaluation of ecotoxicological impact of new pyrrole-derived aminophosphonates using selected bioassay battery, *Ecotoxicology*, **2017**, 26, 914–929

[214] Lewkowski J., Morawska M., Karpowicz R., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Novel (5-nitrofurfuryl)-substituted esters of phosphonoglycine – Their synthesis and phyto- and ecotoxicological properties, *Chemosphere*, **2017**, 188, 618–632

[215] Pannu M.W., Toor G.S., O'Connor G.A., Wilson P.C., Toxicity and bioaccumulation of biosolids-borne triclosan in food crops, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **2012**, 31, 2130–2137

[216] Kafarski P., Lejczak B., Slesak E., Przetocki J., Plant growth regulating activity of aromatic aminophosphonates and their short peptides, *Pestic. Sci.*, **1989**, 25, 137–143

[217] Lewkowski J., Karpowicz R., Morawska M., Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., *et al.*, Synthesis and ecotoxicological impact of ferrocene-derived amino-phosphonates using a battery of bioassays, *RSC Adv.*, **2017**, 7, 38399–38409

[218] Maļeckis A., Griškjāns E., Cvetinska M., Savicka M., Belyakov S., Kirilova E., Synthesis, characterization, spectroscopic studies and evaluation of toxicological effect on growth of wheat sprouts (*Triticum aestivum*) of new benzanthrone  $\alpha$ -aryl- $\alpha$ -aminophosphonates, *Journal of Molecular Structure*, **2023**, 1277, 134838

- [219] Park J.H., Choppala G.K., Bolan N.S., Chung J.W., Chuasavathi T., Biochar reduces the bioavailability and phytotoxicity of heavy metals, *Plant Soil*, **2011**, 348, 439–451
- [220] Radošević K., Cvjetko Bubalo M., Gaurina Srček V., Grgas D., Landeka Dragičević T., Radojčić Redovniković I., Evaluation of toxicity and biodegradability of choline chloride based deep eutectic solvents, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2015**, 112, 46–53
- [221] Chetverikov S., Vysotskaya L., Kuzina E., Arkhipova T., Bakaeva M., Rafikova G., *et al.*, Effects of Association of Barley Plants with Hydrocarbon-Degrading Bacteria on the Content of Soluble Organic Compounds in Clean and Oil-Contaminated Sand, *Plants*, **2021**, 10, 975
- [222] Kianfar E., Jasim S., Kzar H.H., Sivaraman R., Zaidi M., Alkadir O.K.A., *et al.*, Engineered Nanomaterials, Plants, Plant Toxicity and Biotransformation: A review, *Egypt. J. Chem.*, **2022**
- [223] Gramss G., Voigt K.-D., Bergmann H., Factors influencing water solubility and plant availability of mineral compounds in the tripartite fairy rings of *Marasmius oreades* (Bolt.: Fr.) Fr., *J. Basic Microbiol.*, **2005**, 45, 41–54
- [224] Chiou C.T., Sheng G., Manes M., A Partition-Limited Model for the Plant Uptake of Organic Contaminants from Soil and Water, *Environ. Sci. Technol.*, **2001**, 35, 1437–1444
- [225] AL-Shadawi S.M.A., Alrubaiee S.H.A.-W., Effect of two oat cultivars and different spraying concentrations of some amino acids on the yield characteristic and their components, **2023**
- [226] Bakuniak E., Bakuniak I., Borucka B., Ostrowski J., Further studies on biological activity of aminophosphonates structurally related to N-(phosphonomethyl) glycine, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, **1983**, 18, 485–496
- [227] Azizi M., Fuji Y., ALLELOPATHIC EFFECT OF SOME MEDICINAL PLANT SUBSTANCES ON SEED GERMINATION OF *AMARANTHUS RETROFLEXUS* AND *PORTULACA OLERACEAE*, *Acta Hortic.*, **2006**, 61–68
- [228] Zhang X., Zhang Y., Sun P., Su W., Qu Z., Dong Y., *et al.*, Effect of germination pretreatment on the physicochemical properties and lipid concomitants of flaxseed oil, *RSC Adv.*, **2023**, 13, 3306–3316
- [229] Witomski P., *Folia Forestalia Polonica* 34: 37-44, **2003**
- [230] Ge L., Yang X., Liu Y., Tang H., Wang Q., Chu S., *et al.*, Improvement of Seed Germination under Salt Stress via Overexpressing Caffeic Acid O-methyltransferase 1 (SICOMT1) in *Solanum lycopersicum* L., *IJMS*, **2023**, 24, 734
- [231] Mateos-Naranjo E., Perez-Martin A., Effects of sub-lethal glyphosate concentrations on growth and photosynthetic performance of non-target species *Bolboschoenus maritimus*, *Chemosphere*, **2013**, 93, 2631–2638

- [232] Baglieri A., Cadili V., Mozzetti Monterumici C., Gennari M., Tabasso S., Montoneri E., *et al.*, Fertilization of bean plants with tomato plants hydrolysates. Effect on biomass production, chlorophyll content and N assimilation, *Scientia Horticulturae*, **2014**, 176, 194–199
- [233] Frontera J.L., Vatnick I., Chaulet A., Rodríguez E.M., Effects of Glyphosate and Polyoxyethylenamine on Growth and Energetic Reserves in the Freshwater Crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda, Parastacidae), *Arch Environ Contam Toxicol*, **2011**, 61, 590–598
- [234] Hannoufa A., Hossain Z., Regulation of carotenoid accumulation in plants, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **2012**, 1, 198–202
- [235] Tejada M., Gonzalez J.L., Effects of foliar application of a byproduct of the two-step olive oil mill process on rice yield, *European Journal of Agronomy*, **2004**, 21, 31–40
- [236] Gross J., Bazak H., Blumenfeld A., Ben-Arie R., Changes in chlorophyll and carotenoid pigments in the peel of ‘Triumph’ persimmon (*Diospyros kaki L.*) induced by pre-harvest gibberellin (GA3) treatment, *Scientia Horticulturae*, **1984**, 24, 305–314
- [237] Rychter P., Rogacz D., Lewicka K., Lacik I., Poly(methylene-co-cyanoguanidine) as an Eco-friendly Nitrogen Fertilizer with Prolonged Activity, *J Polym Environ*, **2019**, 27, 1317–1332
- [238] Tallón C., Quiles M.J., Acclimation to heat and high light intensity during the development of oat leaves increases the NADH DH complex and PTOX levels in chloroplasts, *Plant Science*, **2007**, 173, 438–445
- [239] Cazzonelli C.I., Cuttriss A.J., Cossetto S.B., Pye W., Crisp P., Whelan J., *et al.*, Regulation of Carotenoid Composition and Shoot Branching in *Arabidopsis* by a Chromatin Modifying Histone Methyltransferase, *SDG8*, *The Plant Cell*, **2009**, 21, 39–53
- [240] Nisar N., Li L., Lu S., Khin N.C., Pogson B.J., Carotenoid Metabolism in Plants, *Molecular Plant*, **2015**, 8, 68–82
- [241] Jarvis P., López-Juez E., Biogenesis and homeostasis of chloroplasts and other plastids, *Nat Rev Mol Cell Biol*, **2013**, 14, 787–802
- [242] Gomathi R., Rakkiyapan P., Comparative lipid peroxidation, leaf membrane thermostability, and antioxidant system in four sugarcane genotypes differing in salt tolerance, **2011**
- [243] Dobra uprawa, *Magazyn Corteva Argiscience*, 46, **2020**
- [244] Renata Kieloch, Możliwości ograniczenia niekorzystnego wpływu czynników siedliskowych na efektywność środków chwastobójczych, **2016**
- [245] Dear B.S., Sandral G.A., Wilson B.C.D., Tolerance of perennial pasture grass seedlings to pre- and post-emergent grass herbicides, *Aust. J. Exp. Agric.*, **2006**, 46, 637

- [246] Clair É., Mesnage R., Travert C., Séralini G.-É., A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells *in vitro*, and testosterone decrease at lower levels, *Toxicology in Vitro*, **2012**, 26, 269–279
- [247] Lewicka K., Dobrzynski P., Rychter P., PLAGA-PEG-PLAGA Terpolymer-Based Carriers of Herbicides for Potential Application in Environment-Friendly, Controlled Release Systems of Agrochemicals, *Materials*, **2020**, 13, 2778
- [248] Fondevilla S., Arias-Giraldo L.F., García-León F.J., Landa B.B., Molecular Characterization of *Peronospora variabilis* Isolates Infecting *Chenopodium quinoa* and *Chenopodium album* in Spain, *Plant Disease*, **2023**, 107, 999–1004
- [249] Khandelwal A., Sehrawat A., S. Sindhu S., Growth Suppression of *Chenopodium album* Weed and Growth Promotion Effect on Wheat (*Triticum aestivum* L.) by Inoculation of  $\delta$ -Aminolevulinic Acid Producing Rhizobacteria, *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, **2018**, 7, 1958–1971
- [250] Baylis A.D., Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects, *Pest Manag. Sci.*, **2000**, 56, 299–308
- [251] Kwiatkowska M., Jarosiewicz P., Bukowska B., Glyphosate and its formulations - toxicity, occupational and environmental exposure, *Med Pr*, **2013**
- [252] Arysta L., Material safety data sheet, **2019**
- [253] Öztekin R., Sponza D.T., The Removal of Sulfamonomethoxine (SMM) with Copper Oxide/Zirconium Dioxide (CuO/ZrO<sub>2</sub>) Nanocomposites by Photocatalytic Degradation in Pharmaceutical Industry Wastewaters and the Evaluation of Microtox (*Aliivibrio fischeri*) and *Daphnia magna* Acute Toxicity Assays, *CSIJ*, **2023**, 32, 1–26
- [254] Sponza D.T., The Use of a Novel Graphitic Carbon Nitride/Cobalt Molybdate (G-C<sub>3</sub>n<sub>4</sub>/ComoO<sub>4</sub>) Nanocomposites for the Doxycycline Removal by Photocatalytic Degradation in Pharmaceutical Industry Wastewaters and the Evaluation of Microtox (*Aliivibrio Fischeri*) and *Daphnia Magna* Acute Toxicity Assays, *J Mater Sci Manufac Res*, **2023**, 1–17
- [255] La Scala J.J., Yandek G., Lamb J., Paquette C.M., Eck W.S., Adams V., *et al.*, The effect of methyl and methoxy substituents on dianilines for a thermosetting polyimide system, *High Performance Polymers*, **2020**, 32, 801–822
- [256] Hernando M.D., De Vettori S., Martínez Bueno M.J., Fernández-Alba A.R., Toxicity evaluation with *Vibrio fischeri* test of organic chemicals used in aquaculture, *Chemosphere*, **2007**, 68, 724–730
- [257] Godlewska P., Joško I., Oleszczuk P., Ecotoxicity of sewage sludge- or sewage sludge/willow-derived biochar-amended soil, *Environmental Pollution*, **2022**, 305, 119235
- [258] Mastroberardino A., Casaburi F., Canino R., Iannone M., Procopio S., Toxicity evaluation of the contaminated area of Crotona from biological indicators: a multispecies approach, *Environ Monit Assess*, **2023**, 195, 473



- [259] Albert S., Bloem E., Ecotoxicological methods to evaluate the toxicity of bio-based fertilizer application to agricultural soils – A review, *Science of The Total Environment*, **2023**, 879, 163076
- [260] Bonnet J.-L., Bonnemoy F., Dusser M., Bohatier J., Assessment of the potential toxicity of herbicides and their degradation products to nontarget cells using two microorganisms, the bacteria *Vibrio fischeri* and the ciliate *Tetrahymena pyriformis*, *Environ. Toxicol.*, **2007**, 22, 78–91
- [261] Pawłowska B., Telesiński A., Biczak R., Effect of diclofenac and naproxen and their mixture on spring barley seedlings and *Heterocypris incongruens*, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **2021**, 88, 103746
- [262] Rossi V., Benassi G., Belletti F., Menozzi P., Colonization, population dynamics, predatory behaviour and cannibalism in *Heterocypris incongruens* (Crustacea: *Ostracoda*), *J Limnol*, **2011**, 70, 102
- [263] Oleszczuk P., *Heterocypris incongruens* as a tool to estimate sewage sludge toxicity, *Environ Toxicol Chem*, **2008**, 27, 864
- [264] Pawłowski S., Moeller M., Miller I.B., Kellermann M.Y., Schupp P.J., Petersen-Thiery M., UV filters used in sunscreens—A lack in current coral protection?, *Integr Environ Assess & Manag*, **2021**, 17, 926–939
- [265] Jeon J., Kurth D., Hollender J., Biotransformation Pathways of Biocides and Pharmaceuticals in Freshwater Crustaceans Based on Structure Elucidation of Metabolites Using High Resolution Mass Spectrometry, *Chem. Res. Toxicol.*, **2013**, 26, 313–324

## OŚWIADCZENIE

Ja, niżej podpisany/a

Diana Rogacz

*Imię i Nazwisko*

~~doktorant~~\* / doktorantka\* Wydziału Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie oświadczam, że przedkładaną pracę doktorską pt.

### **Synteza i wstępna ocena ekotoksykologiczna wybranych C-tienylowych pochodnych fosfonoglicyny oraz C-arylowych pochodnych N-fosfonometylo-glicyny**

napisałem/am samodzielnie. Oznacza to, że przy pisaniu pracy, poza niezbędnymi konsultacjami, nie korzystałem/am z pomocy innych osób, a w szczególności nie zlecałem/am opracowania rozprawy lub jej części innym osobom, ani nie odpisywałem/am tej rozprawy lub jej części od innych osób.

Oświadczam również, że drukowana wersja pracy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Jednocześnie przyjmuję do wiadomości, że gdyby powyższe oświadczenie okazało się nieprawdziwe, decyzja o wydaniu mi dyplomu zostanie cofnięta.

Ponieważ niniejsza praca jest moją własnością intelektualną, chronioną prawem autorskim, w związku z zamysłem wydania jej drukiem wyrażam zgodę\* / ~~nie wyrażam zgody~~\* na udostępnianie mojej rozprawy doktorskiej do celów naukowych i badawczych w Internecie.

Częstochowa, dnia 26.05.2023

.....

*podpis*

\* - niepotrzebne skreślić