

Łódź, dn. 24.08.2023 r.

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

*„Synteza i wstępna ocena ekotoksykologiczna wybranych C-tienyloowych pochodnych fosfonoglicyny oraz C-arylowych pochodnych N-fosfonometylo-glicyny”*  
wykonanej przez przez mgr inż. Dianę Rogacz

**Uniwersytet im. Jana Długosza w Częstochowie**

Rozprawa doktorska pt. *„Synteza i wstępna ocena ekotoksykologiczna wybranych C-tienyloowych pochodnych fosfonoglicyny oraz C-arylowych pochodnych N-fosfonometylo-glicyny”* autorstwa Pani mgr inż. Diany Rogacz została przygotowana w Katedrze Biochemii, Biotechnologii i Ekotoksykologii Uniwersytetu im. Jana Długosza w Częstochowie, pod opieką merytoryczną dr. hab. Piotra Rychtera prof. UJD oraz dr. Zbigniewa Malinowskiego z Uniwersytetu Łódzkiego.

## INFORMACJE O DOKTORANTCE

Pani mgr inż. Diana Rogacz jest doktorantką Wydziału Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych Uniwersytetu im. Jana Długosza w Częstochowie. Autorka rozprawy jest absolwentką Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie (obecnie: Uniwersytetu im. Jana Długosza w Częstochowie), gdzie na kierunku Biotechnologia uzyskała tytuł magistra.

Pani mgr inż. Diana Rogacz posiada bogaty dorobek naukowy wyrażający się współautorstwem w 18 publikacjach z listy czasopism naukowych JCR (w 3 artykułach występuje na pierwszym miejscu wśród autorów). Imponująca jest liczba komunikatów konferencyjnych, które Doktorantka prezentowała w postaci posterów (gdzie w 24 jest pierwszym autorem) oraz komunikatów oralnych (w 3 na 11 jest pierwszym autorem). Pani mgr inż. Diana Rogacz brała udział w realizacji dwóch projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki, w których raz pełniła rolę kierownika (konkurs PRELUDIUM 14, nr grantu: 2017/27/N/NZ9/02221, pt. *„Synteza niektórych pochodnych N-fosfonometyloglicyny oraz badanie ich ekotoksyczności”*), w drugim projekcie była wykonawcą (konkurs OPUS 7, nr grantu: 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*”). Należy dodać, że Doktorantka w okresie od 2016 do 2018 roku odbyła trzy krótkoterminowe staże naukowe na Wydziale Chemii Uniwersytetu Łódzkiego.

### OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Diany Rogacz jest kontynuacją prac badawczych dotyczących tematyki związanej z kwasami aminofosfonianowymi rozwijanej na Uniwersytecie im. Jana Długosza w Częstochowie od roku 2005 (m. in. praca przeglądowa: *Aminoalkanephosphonates. Six decades of explorations*. Prace Naukowe Akademii Częstochowskiej im. J. Długosza; Chemia i Ochrona Środowiska, IX (2005) 29-76; pierwsza praca doktorska przeprowadzona na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym, wówczas Akademii Jana Długosza w roku 2014: „*Wybrane badania w dziedzinie kwasów aminoalkilofosfonowych*”, *AJD*, 2014, Częstochowa).

Tytułowe związki pracy doktorskiej - pochodne fosfono-tienylo<sup>2</sup>glicyny [Ar-Tn<sup>2</sup>Gly<sup>P</sup>(OR)<sub>2</sub>] oraz 4-aryłowe pochodne fosfonometyloglicyny (4-Ar-PMG) zostały otrzymane na drodze trójskładnikowych kondensacji aldehydów, amin i estrów. Jest to niezwykle nośna reakcja dostarczająca permutacyjną liczbę pochodnych 1-aminofosfonianowych typu N-C-P, wnosząc istotny wkład do olbrzymiej, wielotysięcznej puli opisanych do tej pory aminofosfonianów [Kafarski, P.; Lejczak, B. Aminophosphonic acids of potential medical importance. *Curr. Med. Chem.; Anti-Cancer Agents*, 2001, 1, 301–312. DOI: 10.2174/1568011013354543], często związków o wyjątkowych właściwościach aplikacyjnych [Petrov, K.A.; Chauzov, V.A.; Erokhina, T.E. *Aminoalkyl organo-phosphorus compounds. Usp. Khim.* 1974, 43, 2045–2087. DOI: 10.1070/RC1974v043n11ABEH001877].

Autorka założyła, że synteza estrów, pochodnych fosfonoglicyny modyfikowanych na atomach węgla (C), azotu (N) i fosforu (P), doprowadzi do związków z fragmentem 2-tienyłowym [Ar-Tn<sup>2</sup>Gly<sup>P</sup>(OR)<sub>2</sub>], czyli domniemanym lub zakładanym czynnikiem determinującym aktywność biologiczną aminofosfonianu. Powyższa hipoteza wynikała ze znanego z literatury faktu o wpływie atomu siarki na „*pro-biologiczną*” aktywność siarkoorganicznych aminofosfonianów, wykazywaną m.in. dla aminofosfonianowych pochodnych benzotiazolu, o właściwościach antywirusowych [Che, J.; Xu, X.; Tang, Z.; Gu, Y.; Shi, D. Synthesis and herbicidal activity evaluation of novel  $\alpha$ -amino phosphonate derivatives containing an uracil moiety. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2016, 26, 1310–1313. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.01.010], antybakteryjnych czy antyoksydacyjnych [Thaslim Basha, S.; Sudhamani, H.; Rasheed, S.; Venkateswarlu, N.; Vijaya, T.; Naga Raju, C. Microwave-assisted neat synthesis of  $\alpha$ -aminophosphonate/phosphinate derivatives of 2-(2-aminophenyl)benzothiazole as potent antimicrobial and antioxidant agents. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* 2016, 191, 1339-1343, DOI:10.1080/10426507.2016.1192629].

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Diany Rogacz składa się z czterech głównych części, w tym: Części literaturowej, Części doświadczalnej, Omówienia wyników oraz Spisu literatury. Praca zawiera sprecyzowany Cel i zakres oraz syntetyczne Podsumowanie. Rozprawa napisana jest na 209 stronach, jest zilustrowana licznymi schematami reakcyjnymi (33) i rysunkami (45) a wyniki badań są zestawione w tabelach (14/17).

Część Literaturowa (45 stron) pracy doktorskiej jest podzielona na podrozdziały, w tym: *Substancje aminofosfonowe* (rozdz. 1.1), *Wybrane metody otrzymywania aminofosfonianów* (rozdz. 1.2), *Właściwości biologiczne aminofosfonianów* (rozdz. 1.3) oraz *Środki ochrony roślin* (rozdz. 1.4).

Część Doświadczalna rozprawy (rozdz. 3; 16 stron), poprzedzona jest opisem celu i zakresu pracy (rozdz. 2) i zawiera podrozdziały: *Materiały wykorzystywane w pracy* (rozdz. 2.1) oraz *Metody*

wykorzystywane w pracy (rozdz. 3.2), z podziałem na Część chemiczną (rozdz. 3.2.1) i Część biologiczną (rozdz. 3.2.2). W Części chemicznej Autorka opisuje badania nad wytworzeniem tytułowych aminofosfonianów. Część biologiczna pracy dotyczy badań nad właściwościami herbicydowymi aminofosfonianów, nad ich fitotoksycznością oraz ekotoksycznością.

W pracy doktorskiej estry kwasów arylo/alkiloamino-2-tiofenylometylofosfonowych  $[R^1-Tn^2Gly^P(OR^2)_2]$  otrzymano wg ogólnych procedur zawartych w literaturze [Lewkowski, 2016; Rogacz, 2018, 2019]. 4-C-arylowe pochodne fosfonometyloglicyny  $[(HO)_2P(O)-CH(Ar)-NH-CH_2-CO_2H]$  Autorka otrzymała wg procedur opisanych w następujących publikacjach:

- Cal, D. A convenient synthesis of  $\omega$ -[(arylophosphonomethyl)amino] alkylphosphonic and carboxylic acids via in situ-generated arylideneaminoalkylphosphonic or carboxylic acids. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2010**, *185*, 816–824. /doi.org/10.1080/10426500902994338.
- 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. DOI:10.3390/molecules21060694.
- 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.
- Rogacz, D.; Lewkowski, J.; Siedlerek, M.; Karpowicz, R.; Kowalczyk, A.; Rychter, P. The effect of new thiophene-derived diphenyl aminophosphonates on growth of terrestrial plants. *Materials* **2019**, *12*, 2018. DOI: 10.3390/ma12122018.
- 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. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2020**, *194*, 110331. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110331.

Badania biologiczne otrzymanych aminofosfonianów dotyczyły badań nad fitotoksycznością i chwastobójczością w stosunku do reprezentatywnych roślin uprawnych, w tym jednoliściennej owsa zwyczajnego (łac. *Avena sativa* L.) oraz dwuliściennej rzodkwi zwyczajnej (łac. *Raphanus sativus*). Najwyższą fitotoksyczność wobec badanych roślin wykazały O,O-dimetylo aminofosfoniany  $[R-Tn^2Gly^P(OMe)_2]$ , wskazując na wpływ struktury chemicznej na stopień toksyczności względem badanych roślin (wobec oznaczanych parametrów: masy, wysokości pędów oraz długości korzeni). Wstępne badania właściwości chwastobójczych, wykazały najwyższą skuteczność herbicydalną aminofosfonianów  $Ar-Tn^2Gly^P(OMe)_2$  (Ar= podstawniki metylofenylowe i metoksyfenylowe) oraz wszystkich 4-C-arylowych pochodnych fosfonometyloglicyny. Dodatkowo zbadano wpływ tytułowych aminofosfonianów na zawartość barwników asymilacyjnych oraz wpływ na mikroorganizmy testowe (Gram-ujemne bakterie *Aliivibrio fischeri*) (jedynie  $Ar-Tn^2Gly^P(OPh)_2$  dla Ar = 2-MeO-Ph).

Rozdział Omówienie wyników i dyskusja (rozdz. 4) stanowi najbardziej obszerną część rozprawy (75 stron) i zawiera opis całokształtu badań związanych z syntezą i eksploracją właściwości biologicznych O,O-diestrów N-arylo, fosfonometyloglicyny  $[R^1-Tn^2Gly^P(OR^2)_2]$ . Analiza tej części pracy oraz Części Doświadczalnej w konfrontacji z publikacjami [Cal 2010; Lewkowski, 2016; Rogacz, 2018, 2019, 2020] prowadzi do wniosku, iż Autorka brała czynny udział w syntezie tytułowych aminofosfonianów lub w doczyszczeniu do standardu analitycznego związków pochodzących z depozytu Uczelni. Szkoda, iż Autorka nie rozbudowała fragmentu dotyczącego eksperymentów

zawieszonych. Rozprawę doktorską zamyka podrozdział *Podsumowanie i Wnioski oraz Spis Literatury*. *Spis Literatury* zawiera odnośniki do 265 prac cytowanych i przedstawiony jest w układzie numerycznym. Do pracy załączono *Spis schematów, tabel i rysunków* oraz *Dorobek naukowy*.

Niestety Autorka nie uniknęła pewnych niedoskonałości w przedłożonej pracy doktorskiej, zbyt widocznych aby je pominąć, a które z racji pełnionej funkcji jestem zmuszony przedstawić, i tak:

- Rozdział 1.1. *Substancje aminofosfonowe*: tytuł rozdziału można uznać za „mało chemiczny”.
- Rozdział 1.1.: pierwsze zdanie rozdziału powinno zawierać odnośniki do prac przeglądowych, w tym, koniecznie książki: Kukhar, V.P.; Hudson, H.R. *Aminophosphonic and amino phosphinic acids. Chemistry and biological activity*. Eds. Kukhar, V.P.; Hudson, H.R.; Wiley & Sons Ltd: Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto, 2000.
- Rozdział 1.1.: brakuje wzoru ogólnego 1-aminoalkilofosfonianów, czyli związków klasy N-C-P.
- Rozdział 1.1.: str. 18, w zdaniu: *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 oddziaływując na fizjologiczną aktywność komórki [12, 13] - powinny zostać przytoczone bardziej adekwatne prace przeglądowe (np. Kukhar&Hudson, 2000).*
- Rozdział 1.2.7. *Reakcja Hirao, jako efektywna strategia syntezy pochodnych kwasów fosfonowych*: nie dotyczy lub dotyczy w bardzo małym stopniu syntezy 1-aminofosfonianów [Henyecz, R.; Keglevich, G. *New developments on the Hirao reactions, especially from “Green” point of view. Curr. Org. Synth. 2019, 16, 523-545. DOI: 10.2174/1570179416666190415110834*].
- Rozdział 1.3.: Rys. 3. - ze względu na tytuł rozdziału (nie precyzującego, że chodzi o związki klasy N-C-P) rysunek powinien być zatytułowany *Naturalne kwasy aminofosfonowe* i zawierać trzy związki -  $\beta$ -Ala<sup>P</sup>, Iser<sup>P</sup>, Asp <sup>$\beta$ -P</sup>. Dlatego, problematyczna jest obecność fosfonomycyny (Rys. 4) i zupełnie niezrozumiała obecność związków przedstawionych na Rys. 9, Rys. 10 i Rys. 11b.
- Rozdział 1.3.: str. 40. W zdaniu: *Jednym z innym sposobów wykorzystania fosfonianów są ich wielowartościowe pochodne, jak np. kwas etylenodiaminotetrametyleno fosfonowy (EDTMP), (Rys. 13), - właściwym określeniem jest „wielofosfonowe pochodne”*.
- Rozdział 1.4.2. *Herbicydy aminofosfonowe – glifosat*: str. 56., po zdaniu: *Glifosat jest jedynym herbicydem, który hamuje enzym syntazę 5-enolpirogonyloszykimo-3-fosforanu (EPSPS), który jest wymagany do syntezy aminokwasów aromatycznych fenyloalaniny, tyrozyny i tryptofanu [104]* brakuje uproszczonego schematu wytwarzania EPSPS i jego wpływu na syntezę lignin.
- Rozdział 1.4.2.: str. 55, w zdaniu: *Glifosat - N-fosfonometyloglicyna, ... [100]. Jest to pochodna fosfonometylowa glicyny, o szerokim spektrum działania, która od dawna stosowana jest w uprawach, oraz jako środek osuszający, konieczny jest odnośnik do działania osuszającego.*
- Spis literatury przedstawiony jest w formie numerycznej. Pomijając mało istotne błędy techniczne i przeoczenia, napisany jest w sposób niestandardowy. I tak, poszczególne pozycje literaturowe pisane są ciągiem, z zastosowaniem przecinków oraz przedstawiając tytuły czasopism w pełnej nazwie. Taki zapis, co prawda, występuje w czasopismach naukowych np. *The International Journal of Animal Biosciences* czy *Cellulose* (pełne nazwy czasopism) ale niepotrzebne poszerzanie linii zapisu zmniejsza czytelność. Dlatego w rozprawie doktorskiej byłoby bardziej korzystnym wykorzystanie standardu *American Chemical Society (ACS)* który np. dla pracy Fieldsa [16] wygląda następująco: [16] Fields, E.K. *The synthesis of esters of substituted amino phosphonic acids. J. Org. Chem. 1952, 74, 1528–1531. DOI: 10.1021/ja01126a054.*

## PODSUMOWANIE

Podsumowując po zapoznaniu się z przedstawioną mi rozprawą doktorską stwierdzam, że Pani mgr inż. Diana Rogacz wykazała się bardzo dobrą znajomością tematyki i przedstawiła solidny materiał doświadczalny. Wymienione przeze mnie niedoskonałości formalne czy językowe nie umniejszają wysokiej wartości recenzowanej pracy. Praca w pełni odpowiada wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim, stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jest interdyscyplinarna, zawiera znaczne osiągnięcia naukowe, świadczy o dużej ogólnej wiedzy teoretycznej Autorki oraz o umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Ja, niżej podpisany stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr inż. Diany Rogacz pt. *„Synteza i wstępna ocena ekotoksykologiczna wybranych C-tienylowych pochodnych fosfonglicyny oraz C-arylowych pochodnych N-fosfometylo-glicyny”* spełnia wymagania określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U z 2017 r. poz. 1789 z późn. zmianami) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U z 2028 r. poz. 1669). Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska daje podstawę do ubiegania się o stopień doktora w dyscyplinie Chemia. Wnioskuje do Rady ds. Nadawania Stopni Naukowych i Stopni w Zakresie Sztuki Uniwersytetu im. Jana Długosza w Częstochowie o dopuszczenie Pani mgr inż. Diany Rogacz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku



dr hab. Marcin Henryk Kudzin

### Sieć Badawcza Łukasiewicz – Łódzki Instytut Technologiczny

Centrum Gospodarki o Obiegu Zamkniętym,  
Grupa Badawcza Inżynierii Ochrony Środowiska  
e-mail: marcin.kudzin@lit.lukasiewicz.gov.pl;  
tel.: +48-42-6163121

